

cobas[®] HBV

Test quantitatif des acides nucléiques à utiliser avec les cobas[®] 5800/6800/8800 Systems

Pour une utilisation en diagnostic *in vitro*

cobas[®] HBV

P/N: 09040820190

cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

P/N: 09040773190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 09051554190

Table des matières

Usage prévu	4
Résumé et explication du test.....	4
Réactifs et matériel.....	7
Réactifs et contrôles cobas ® HBV	7
Réactifs cobas omni pour préparation des échantillons.....	10
Conditions de conservation des réactifs.....	11
Matériel supplémentaire nécessaire pour le cobas ® 5800 System	12
Matériel supplémentaire nécessaire pour les cobas ® 6800/8800 Systems	13
Instruments et logiciels nécessaires	13
Précautions et conditions de manipulation	14
Avertissements et précautions.....	14
Manipulation des réactifs.....	14
Bonnes pratiques de laboratoire.....	15
Prélèvement, transport et conservation des échantillons	15
Échantillons.....	16
Instructions d'utilisation	17
Notes de procédure	17
Exécution du test cobas ® HBV sur le cobas ® 5800 System.....	18
Exécution du test cobas ® HBV sur les cobas ® 6800/8800 Systems.....	19
Résultats	20
Contrôle qualité et validité des résultats sur le cobas ® 5800 System.....	20
Résultats des contrôles sur le cobas ® 5800 System.....	20
Contrôle qualité et validité des résultats sur les cobas ® 6800/8800 Systems.....	20
Alertes de contrôle sur les cobas ® 6800/8800 Systems.....	21
Interprétation des résultats.....	21
Interprétation des résultats du cobas ® 5800 System	22
Interprétation des résultats sur les cobas ® 6800/8800 Systems	22
Limites du test.....	23

Évaluation des performances non cliniques 24

Principales caractéristiques de performance sur les cobas® 6800/8800 Systems	24
Limite de détection (LoD)	24
Domaine de linéarité	26
Précision intra-laboratoire	28
Détermination et vérification de génotype.....	31
Spécificité	34
Spécificité analytique.....	34
Spécificité analytique - substances interférentes	35
Corrélation de la méthode.....	36
Équivalence des matrices - plasma EDTA et sérum.....	37
Échec complet du système.....	37
Contamination croisée.....	38

Évaluation des performances cliniques 39

Étude de reproductibilité.....	39
Variabilité entre les lots.....	39
Reproductibilité	41
Utilité clinique	43
Prédiction de réponse à un traitement antiviral	44
Conclusion	49
Équivalence des systèmes/comparaison des systèmes.....	49

Informations supplémentaires 50

Caractéristiques clés du test	50
Symboles.....	51
Assistance technique.....	52
Fabricant et importateur	52
Marques commerciales et brevets	52
Copyright.....	52
Références.....	53
Révision du document.....	55

Usage prévu

Le test **cobas**® HBV est un test *in vitro* d'amplification des acides nucléiques pour le dosage quantitatif de l'ADN du virus de l'hépatite B (VHB), dans du sérum ou plasma EDTA humain d'individus infectés par le VHB.

Ce test est destiné à être utilisé comme aide à la gestion des patients souffrant d'une infection chronique par le VHB et étant traités par thérapie antivirale. Le test peut être utilisé pour mesurer les taux initiaux d'ADN du VHB et au cours du traitement afin d'évaluer la réponse au traitement. Les résultats du test **cobas**® HBV doivent être interprétés en tenant compte de tous les résultats cliniques et de laboratoire pertinents.

Résumé et explication du test

Contexte

Le virus de l'hépatite B (VHB) est l'un des différents virus connus pouvant causer une hépatite virale. Dans le monde, plus de 2 milliards de personnes ont été exposées au VHB et plus de 350 millions d'entre elles ont une infection chronique.¹ Le VHB constitue une cause majeure de maladie hépatique aux États-Unis, malgré une baisse de l'incidence d'infections aiguës liée à la vaccination et aux précautions universelles concernant l'utilisation de seringues.² La prévalence générale de l'infection au VHB aux États-Unis a été estimée entre 0,3 % et 0,5 %, avec 47 % à 70 % des cas attribués à des individus nés en-dehors du territoire américain.² Toutefois, des programmes de dépistage ciblés ont révélé des taux de prévalence de plus de 15 % parmi certaines populations immigrées à haut risque.³ Les patients atteints d'infections chroniques au VHB présentent un risque élevé de complications à long terme, parmi lesquelles il faut citer l'hépatite chronique, la cirrhose et l'hépatocarcinome.⁴⁻⁷ Des marqueurs sérologiques sont couramment utilisés pour confirmer le diagnostic et/ou aider au pronostic d'une infection aiguë ou chronique par le VHB.⁸ Les centres de contrôle et de prévention des maladies aux États-Unis (Centers for Disease Control and Prevention) ont élargi leurs recommandations de dépistage systématique des individus à risque élevé pour inclure les populations pour lesquelles la prévalence de l'antigène de surface du VHB (AgHBs) est supérieure à 2 %, y compris les individus originaires de régions endémiques (notamment l'Asie et l'Afrique), les homosexuels masculins et les consommateurs de drogues injectables.²

Le marqueur le plus courant de l'infection par le VHB est la présence de l'AgHBs.⁸ Bien que les porteurs puissent éliminer l'AgHBs et développer des anticorps anti-AgHBs, il semble qu'il y ait toujours un risque ultérieur de complications hépatiques graves.^{9,10} L'antigène e du VB (AgHBe) est généralement utilisé comme marqueur secondaire et indique une réplication active du VHB associée à une maladie hépatique évolutive. Une clairance incomplète de l'AgHBe semble augmenter le risque de maladie hépatique terminale.^{9,10} Diverses souches de mutants pré-core du VHB peuvent perdre la capacité de produire de l'AgHBe y compris en cas d'infection active, limitant l'utilisation de ce marqueur dans la surveillance de l'évolution de la maladie.⁷

Pourquoi dépister le VHB ?

La quantité d'ADN du VHB présente dans le plasma EDTA et le sérum peut être déterminée grâce à des techniques d'amplification des acides nucléiques telles que la PCR.¹¹⁻¹⁴ Plusieurs directives essentielles recommandent le recours à la méthode de PCR en temps réel pour la quantification d'ADN du VHB, principalement en raison d'une sensibilité élevée et d'un domaine de linéarité plus vaste.^{15,16}

Explication du test

Le test **cobas**® HBV est un test quantitatif exécuté sur le **cobas**® 5800 System, sur le **cobas**® 6800 System ou sur le **cobas**® 8800 System. Le test **cobas**® HBV permet la détection et la quantification de l'ADN du VHB dans le plasma EDTA ou le sérum de patients infectés ; il est destiné à être utilisé dans les laboratoires prenant en charge les essais cliniques, ainsi que la gestion des patients infectés par le VHB dans la pratique clinique courante. Une sonde unique est utilisée pour la détection et la quantification. Elle ne permet pas la discrimination des génotypes A à H. La charge virale est quantifiée par rapport à un standard de quantification d'ADN non VHB (DNA-QS) qui est introduit dans chaque échantillon lors de la préparation des échantillons. Le DNA-QS permet également de surveiller l'ensemble du processus de préparation des échantillons et d'amplification par PCR. En outre, le test utilise trois contrôles : un contrôle positif de titre élevé, un contrôle positif de titre faible et un contrôle négatif. Les contrôles externes positif haut et positif bas sont obtenus par dilution à partir du matériel de stock avec un titre conforme au standard international de l'OMS pour le VHB. Chaque lot de kits d'amplification/de détection est calibré conformément au standard international de l'OMS pour le VHB.

Principes de la procédure

Le test **cobas**® HBV repose sur la préparation entièrement automatisée des échantillons (extraction et purification des acides nucléiques) suivie de l'amplification par PCR et de la détection. Le **cobas**® 5800 System est conçu sous la forme d'un instrument intégré. Les **cobas**® 6800/8800 Systems sont composés du module de chargement des échantillons, du module de transfert, du module de traitement et du module analytique. La gestion automatisée des données est réalisée par les logiciels **cobas**® 5800 ou **cobas**® 6800/8800, lesquels attribuent à chaque test l'un des résultats suivants : cible non détectée, < LLoQ (limite de quantification inférieure), > ULoQ (limite de quantification supérieure) ou ADN du VHB détecté, valeur dans le domaine de linéarité $LLoQ < x < ULoQ$. Les résultats peuvent être consultés directement sur l'écran du système, exportés ou imprimés sous forme de rapports.

L'acide nucléique des échantillons de patient, des contrôles externes et des molécules d'ADN lambda (DNA-QS) ajoutées est extrait simultanément.

L'acide nucléique viral est libéré par l'ajout de protéinase et de réactif de lyse à l'échantillon. L'acide nucléique libéré se lie à la surface des particules magnétiques de verre (silice) ajoutées. Les substances non liées et les impuretés, telles que les protéines dénaturées, les débris cellulaires et les inhibiteurs potentiels de PCR, sont éliminées lors d'étapes suivantes utilisant des réactifs de lavage, et l'acide nucléique purifié est séparé des particules magnétiques de verre à l'aide de tampon d'élution à température élevée.

L'amplification sélective de l'acide nucléique cible dans l'échantillon est effectuée à l'aide d'amorces sens et antisens spécifiques au virus cible, sélectionnées dans des régions hautement conservées du VHB. L'amplification sélective du DNA-QS est effectuée à l'aide d'amorces sens et antisens spécifiques à la séquence, sélectionnées de manière à ne présenter aucune homologie avec le génome du VHB. Une enzyme ADN polymérase thermostable est utilisée pour l'amplification. Le master mix comprend de la désoxyuridine triphosphate (dUTP) à la place de la désoxythymidine triphosphate (dTTP), incorporée dans l'ADN nouvellement synthétisé (amplicon).^{14, 17, 18} Tout amplicon contaminant provenant de runs de PCR précédents est éliminé par l'enzyme AmpErase, laquelle est incluse dans le mix de PCR au cours de la première étape de thermocyclage. Toutefois, les amplicons nouvellement formés ne sont pas éliminés, car l'enzyme AmpErase est désactivée une fois exposée à une température supérieure à 55 °C.

Le master mix **cobas**® HBV contient des sondes de détection spécifiques aux séquences cibles de VHB et à l'acide nucléique de QS, respectivement. Chacune des sondes de détection spécifiques au VHB et au DNA-QS est marquée par l'un des deux fluorophores uniques qui servent de rapporteurs. Les sondes possèdent également un autre fluorophore qui sert de

quencher. Les deux fluorophores rapporteurs sont mesurés à des longueurs d'onde définies, permettant ainsi la détection et la discrimination simultanées de la cible VHB amplifiée et du DNA-QS.^{12, 13} Le signal fluorescent de la sonde intacte non liée à la séquence cible est supprimé par un fluorophore quencher. Lors de l'étape d'amplification par PCR, l'hybridation des sondes à la matrice d'ADN monocaténaire spécifique entraîne un clivage de la sonde par l'activité exonucléase 5' à 3' de l'ADN polymérase, ce qui conduit à une séparation du fluorophore rapporteur et du fluorophore quencher et à la génération d'un signal fluorescent. À chaque cycle PCR, des quantités croissantes de sondes clivées sont générées et le signal cumulatif du fluorophore rapporteur augmente simultanément. Comme les deux fluorophores rapporteurs spécifiques sont mesurés à des longueurs d'onde définies, la détection et la discrimination simultanées de la cible VHB amplifiée et du DNA-QS sont possibles.

Réactifs et matériel

Réactifs et contrôles cobas® HBV

Tout réactif ou contrôle non ouvert doit être stocké conformément aux recommandations décrites du Tableau 1 au Tableau 4.

Tableau 1 cobas® HBV

cobas® HBV Conserver à 2-8 °C Cassette de 192 tests (P/N 09040820190)		
Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit 192 tests
Solution de protéinase (PASE)	Tampon Tris, < 0,05 % d'EDTA, chlorure de calcium, acétate de calcium, 8 % de protéinase EUH210 : Fiche de données de sécurité disponible sur demande. EUH208 : Peut produire une réaction allergique. Contient : subtilisine, 9014-01-1	22,3 mL
Standard de quantification d'ADN (DNA-QS)	Tampon Tris, < 0,05 % d'EDTA, < 0,001 % de construction d'ADN non-VHB contenant un site de liaison aux amorces non-VHB et un site unique de liaison à la sonde (ADN non infectieux), 0,002 % d'ARN Poly rA (synthétique), < 0,1 % d'azoture de sodium	21,2 mL
Tampon d'élution (EB)	Tampon Tris, 0,2 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle	21,2 mL
Réactif 1 de master mix (MMX-R1)	Acétate de manganèse, hydroxyde de potassium, < 0,1 % d'azoture de sodium	7,5 mL
Réactif 2 du master mix VHB (HBV MMX-R2)	Tampon de tricine, acétate de potassium, 18 % de sulfoxyde de diméthyle, glycérol, < 0,1 % de Tween 20, EDTA, < 0,12 % de dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01 % d'amorces sens et antisens de VHB, < 0,01 % d'amorces sens et antisens de standard de quantification, < 0,01 % de sondes oligonucléotidiques marquées par fluorescence spécifiques au VHB et au standard de quantification VHB, < 0,01 % d'aptamère d'oligonucléotide, < 0,01% d'ADN polymérase Z05D, < 0,10% d'enzyme (microbienne) AmpErase (uracil-N-glycosylase), < 0,1 % d'azoture de sodium	9,7 mL

* Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

** Substance dangereuse.

Tableau 2 cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit Conserver à 2-8 °C (P/N 09040773190)			
Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements*
Contrôle positif bas de VHB/VHC/VIH-1 (HBV/HCV/HIV-1 L(+))C)	< 0,001 % d'ARN du VIH-1 groupe M encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage MS2, < 0,001 % d'ADN (plasmidique) synthétique du VHB encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage lambda, < 0,001 % d'ARN synthétique du VHC encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage MS2, plasma humain normal, non réactif aux tests agréés pour les anticorps anti-VHC, anticorps anti-VIH-1/2, AgHBs, anticorps anti-HBc ; ARN du VIH-1, ARN du VIH-2, ARN du VHC et ADN du VHB non détectables par les méthodes de PCR. 0,1 % de conservateur ProClin® 300**	5,2 mL (8 × 0,65 mL)	  AVERTISSEMENT H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P273 : Éviter le rejet dans l'environnement. P280 : Porter des gants de protection. P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. P362 + P364 : Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée. 55965-84-9 Masse réactionnelle de : 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one [n° CE 247-500-7] et 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one [n° CE 220-239-6] (3:1).
Contrôle positif haut de VHB/VHC/VIH-1 (HBV/HCV/HIV-1 H(+))C)	< 0,001 % d'ARN synthétique à titre élevé (encapsulé) du VIH-1 groupe M dans la protéine enveloppe bactériophage MS2, < 0,001 % d'ADN (plasmidique) synthétique du VHB encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage lambda, < 0,001 % d'ARN synthétique du VHC encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage MS2, plasma humain normal, non réactif aux tests agréés pour les anticorps anti-VHC, anticorps anti-VIH-1/2, AgHBs, anticorps anti-HBc ; ARN du VIH-1, ARN du VIH-2, ARN du VHC et ADN du VHB non détectables par les méthodes de PCR. 0,1 % de conservateur ProClin® 300**	5,2 mL (8 × 0,65 mL)	  AVERTISSEMENT H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P272 : Les vêtements de travail contaminés ne doivent pas sortir du lieu de travail. P280 : Porter des gants de protection. P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. P362 + P364 : Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée. 55965-84-9 Masse réactionnelle de : 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one [n° CE 247-500-7] et 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one [n° CE 220-239-6] (3:1).

* Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

** Substance dangereuse.

Tableau 3 cobas® NHP Negative Control Kit

cobas® NHP Negative Control Kit Conserver à 2-8 °C (P/N 09051554190)			
Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements*
Contrôle négatif de plasma humain normal (NHP-NC)	Plasma humain normal, non réactif aux tests agréés pour les anticorps anti-VHC, anticorps anti-VIH-1/2, AgHBs, anticorps anti-HBc ; ARN du VIH-1, ARN du VIH-2, ARN du VHC et ADN du VHB non détectables par les méthodes de PCR. < 0,1 % de conservateur ProClin® 300**	16 mL (16 × 1 mL)	  AVERTISSEMENT H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P272 : Les vêtements de travail contaminés ne doivent pas sortir du lieu de travail. P280 : Porter des gants de protection. P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. P362 + P364 : Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée. 55965-84-9 Masse réactionnelle de : 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one [n° CE 247-500-7] et 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one [n° CE 220-239-6] (3:1).

* Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

** Substance dangereuse.

Réactifs cobas omni pour préparation des échantillons

Tableau 4 Réactifs **cobas omni** pour préparation des échantillons*

Réactifs	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Conserver à 2-8 °C (P/N 06997546190)	Particules magnétiques de verre, tampon Tris, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle, < 0,1 % d'azoture de sodium	480 tests	Non applicable
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Conserver à 2-8 °C (P/N 06997511190)	Tampon Tris, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle, < 0,1 % d'azoture de sodium	4 × 875 mL	Non applicable
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Conserver à 2-8 °C (P/N 06997538190)	43 % (m/m) de thiocyanate de guanidinium***, 5 % (m/v) de polidocanol***, 2 % (m/v) de dithiothréitol, citrate de sodium dihydraté	4 × 875 mL	 DANGER H302 + H332 : Nocif en cas d'ingestion ou par inhalation. H314 : Provoque des brûlures de la peau et des graves lésions des yeux. H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. EUH032 : Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique. P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P273 : Éviter le rejet dans l'environnement. P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P303 + P361 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau. P304 + P340 + P310 : EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin. P305 + P351 + P338 + P310 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin. 593-84-0 Thiocyanate de guanidinium 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol
cobas omni Wash Reagent (WASH) Conserver à 15-30 °C (P/N 06997503190)	Citrate de sodium dihydraté, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle	4,2 L	Non applicable

* Ces réactifs ne sont pas inclus dans le kit de test **cobas® HBV**. Voir la liste du matériel supplémentaire nécessaire (Tableau 9).

** Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

*** Substance dangereuse.

Conditions de conservation des réactifs

Les réactifs doivent être stockés et manipulés comme spécifié dans le Tableau 5, le Tableau 6 et le Tableau 7.

Lorsque les réactifs ne sont pas chargés sur les cobas® 5800/6800/8800 Systems, ils doivent être stockés à la température spécifiée dans le Tableau 5.

Tableau 5 Stockage des réactifs (lorsque le réactif n'est pas sur le système)

Réactif	Température de stockage
cobas® HBV	2-8 °C
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	2-8 °C
cobas® NHP Negative Control Kit	2-8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2-8 °C
cobas omni MGP Reagent	2-8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2-8 °C
cobas omni Wash Reagent	15-30 °C

Conditions de manipulation des réactifs pour le cobas® 5800 System

Les réactifs chargés sur le cobas® 5800 System sont stockés à des températures appropriées et leur date de péremption est surveillée par le système. Le système ne permet l'utilisation des réactifs que si toutes les conditions indiquées dans le Tableau 7 sont remplies. Le système empêche automatiquement l'utilisation de réactifs périmés. Le Tableau 6 permet à l'utilisateur de comprendre les conditions de manipulation des réactifs appliquées par le cobas® 5800 System.

Tableau 6 Conditions de péremption des réactifs appliquées par le cobas® 5800 System

Réactif	Date de péremption du kit	Stabilité de kit ouvert	Nombre de runs possibles avec ce kit	Stabilité à bord
cobas® HBV	Date non passée	90 jours à partir de la première utilisation	40 runs max.	36 jours max.*
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Date non passée	Non applicable ¹	Non applicable	36 jours max.*
cobas® NHP Negative Control Kit	Date non passée	Non applicable ¹	Non applicable	36 jours max.*
cobas omni Lysis Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni MGP Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni Specimen Diluent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni Wash Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable

¹ Réactifs à usage unique.

* Durée mesurée à partir du premier chargement du réactif sur le cobas® 5800 System.

Conditions de manipulation des réactifs pour les cobas® 6800/8800 Systems

Les réactifs chargés sur les cobas® 6800/8800 Systems sont stockés à des températures appropriées et leur date de péremption est surveillée par le système. Les cobas® 6800/8800 Systems ne permettent l'utilisation des réactifs que si toutes les conditions indiquées dans le Tableau 7 sont remplies. Le système empêche automatiquement l'utilisation de réactifs périmés. Tableau 7 permet à l'utilisateur de comprendre les conditions de manipulation des réactifs appliquées par les cobas® 6800/8800 Systems.

Tableau 7 Conditions de péremption des réactifs appliquées par les cobas® 6800/8800 Systems

Réactif	Date de péremption du kit	Stabilité de kit ouvert	Nombre de runs possibles avec ce kit	Stabilité à bord (cumul du temps à bord, en dehors du réfrigérateur)
cobas® HBV	Date non passée	90 jours à partir de la première utilisation	40 runs max.	40 heures max.
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Date non passée	Non applicable ^a	Non applicable	8 heures max.
cobas® NHP Negative Control Kit	Date non passée	Non applicable ^a	Non applicable	10 heures max.
cobas omni Lysis Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni MGP Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni Specimen Diluent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni Wash Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable

^a Réactifs à usage unique

* Durée mesurée à partir du premier chargement du réactif sur les cobas® 6800/8800 Systems.

Matériel supplémentaire nécessaire pour le cobas® 5800 System

Tableau 8 Matériel et consommables à utiliser sur le cobas® 5800 System

Matériel	P/N
cobas omni Processing Plate 24	08413975001
cobas omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Embout CORE TIPS avec filtre, 1 mL	04639642001
Embout CORE TIPS avec filtre, 300 µL	07345607001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Sac à déchets solides ou Sac à déchets solides avec insert	07435967001 ou 08030073001

Matériel supplémentaire nécessaire pour les cobas® 6800/8800 Systems

Tableau 9 Matériel et consommables à utiliser sur les cobas® 6800/8800 Systems

Matériel	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Sac à déchets solides et réservoir à déchets solides ou Sac à déchets solides avec insert et kit tiroir	07435967001 et 07094361001 ou 08030073001 et 08387281001

Instruments et logiciels nécessaires

Le logiciel **cobas**® 5800 System et les fichiers d'analyse **cobas**® HBV pour le **cobas**® 5800 System doivent être installés sur le **cobas**® 5800 Instrument. Le logiciel x800 Data Manager et le PC pour le **cobas**® 5800 System seront fournis avec le système.

Le logiciel **cobas**® 6800/8800 Systems et les fichiers d'analyse **cobas**® HBV pour les **cobas**® 6800/8800 Systems doivent être installés sur le ou les instruments. Le serveur IG (Instrument Gateway) est livré avec le système.

Tableau 10 Instrumentation

Équipement	P/N
cobas ® 5800 System	08707464001
cobas ® 6800 System (version mobile)	05524245001 et 06379672001
cobas ® 6800 System (fixe)	05524245001 et 06379664001
cobas ® 8800 System	05412722001
Module de chargement des échantillons	06301037001

Se reporter à l'Assistance Utilisateur et/ou au guide de l'utilisateur du **cobas**® 5800 System ou des **cobas**® 6800/8800 Systems pour obtenir plus d'informations.

Remarque : contacter le représentant Roche local pour obtenir une liste détaillée de références de racks échantillons, racks pour embouts à filtre et plateaux de racks acceptés sur les instruments.

Précautions et conditions de manipulation

Avertissements et précautions

Comme pour le déroulement de tout test, de bonnes pratiques de laboratoire sont indispensables pour assurer la qualité de cette analyse. Du fait de la sensibilité élevée de ce test, il est indispensable d'éviter toute contamination des réactifs et des mélanges d'amplification.

- Destiné uniquement au diagnostic *in vitro*.
- Le test **cobas®** HBV n'a pas été évalué pour être utilisé en tant que test de dépistage du VHB dans le sang ou les produits sanguins, ni en tant que test diagnostique pour confirmer la présence d'une infection par le VHB.
- Tous les échantillons de patient doivent être manipulés comme s'ils étaient infectieux, conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, telles que celles mentionnées dans Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories ainsi que dans le document M29-A4 du CLSI.^{19,20} Seul le personnel expert dans la manipulation du matériel présentant un risque biologique et l'utilisation du test **cobas®** HBV et du **cobas®** 5800 System ou des **cobas®** 6800/8800 Systems doit effectuer cette procédure.
- Tout produit d'origine humaine doit être considéré comme potentiellement infectieux et doit être manipulé selon les précautions universelles. En cas d'éclaboussures, désinfecter immédiatement avec une solution fraîchement préparée contenant 0,5 % d'hypochlorite de sodium dans de l'eau distillée ou déionisée (eau de javel ménagère diluée à 1:10) ou suivre les procédures locales appropriées.
- Le **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 Control Kit et le **cobas®** NHP Negative Control Kit contiennent du plasma dérivé de sang humain. Le produit source a été testé non réactif aux tests agréés de détection des anticorps anti-VHC, anticorps anti-VIH-1/2, AgHBs et anticorps anti-HBc. Les tests de plasma humain normal à l'aide des méthodes de PCR ont indiqué qu'aucun ARN du VIH-1 (groupes M et O), ARN du VIH-2, ARN du VHC ni ADN du VHB n'étaient détectables. Toutefois, aucune méthode de test connue ne peut garantir avec une certitude absolue que des produits dérivés de sang humain sont exempts de tout risque de transmission d'agents infectieux.
- **Ne pas congeler le sang total ni tout échantillon stocké dans des tubes primaires.**
- Utiliser uniquement les consommables nécessaires fournis ou indiqués afin d'assurer des performances de test optimales.
- Les fiches de sécurité (ou SDS pour Safety Data Sheets) sont disponibles sur demande auprès de votre représentant Roche local.
- Suivre rigoureusement les procédures et les directives fournies pour assurer le bon déroulement du test. Toute déviation des procédures et directives peut affecter les performances du test.
- Il existe un risque de faux positifs si la contamination croisée des échantillons n'est pas correctement contrôlée lors de la manipulation et du traitement des échantillons.
- Informez votre autorité locale compétente au sujet de tout incident grave pouvant survenir lors de l'utilisation de ce test.

Manipulation des réactifs

- Manipuler tous les réactifs, contrôles et échantillons selon les bonnes pratiques de laboratoire afin d'éviter une contamination croisée des échantillons ou des contrôles.
- Avant utilisation, inspecter visuellement chaque cassette de réactifs, diluant, réactif de lyse et réactif de lavage pour détecter tout signe de fuite. En présence de fuite, ne pas utiliser ce matériel pour le test.

- Le **cobas omni** Lysis Reagent contient du thiocyanate de guanidine, un produit chimique dangereux. Éviter tout contact des réactifs avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment à l'eau. Il existe sinon un risque de brûlure.
- Le kit de test **cobas®** HBV, le **cobas omni** MGP Reagent et le **cobas omni** Specimen Diluent contiennent de l'azoture de sodium en tant que conservateur. Éviter tout contact des réactifs avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment à l'eau. Il existe sinon un risque de brûlure. Si ces réactifs sont renversés, diluer avec de l'eau avant d'essuyer.
- Éviter tout contact entre le **cobas omni** Lysis Reagent, qui contient du thiocyanate de guanidine, et la solution d'hypochlorite de sodium (eau de javel). Le mélange peut produire un gaz extrêmement toxique.
- Jeter tout le matériel qui a été en contact avec les échantillons et réactifs conformément à la réglementation nationale, fédérale, régionale et locale.

Bonnes pratiques de laboratoire

- Ne pas pipeter à la bouche.
- Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail désignées.
- Porter des gants de laboratoire, une blouse de laboratoire et des lunettes de protection lors de la manipulation d'échantillons et de réactifs. Les gants doivent être changés entre la manipulation d'échantillons et la manipulation de kits **cobas®** HBV et de réactifs **cobas omni** afin d'éviter toute contamination. Éviter la contamination des gants lors de la manipulation des échantillons et des contrôles.
- Bien se laver les mains après la manipulation d'échantillons et de réactifs de test, et après le retrait des gants.
- Nettoyer et désinfecter soigneusement tous les plans de travail du laboratoire avec une solution fraîchement préparée d'hypochlorite de sodium à 0,5 % dans de l'eau distillée ou déionisée (eau de javel ménagère diluée à 1:10), puis essuyer les surfaces avec de l'éthanol à 70 %.
- En cas d'éclaboussures sur le **cobas®** 5800 Instrument, suivre les instructions de l'Assistance Utilisateur et/ou du guide de l'utilisateur du **cobas®** 5800 System afin de nettoyer et de décontaminer correctement la surface du ou des instruments.
- En cas d'éclaboussures sur le **cobas®** 6800/8800 Instrument, suivre les instructions de l'Assistance Utilisateur et/ou du guide de l'utilisateur des **cobas®** 6800/8800 Systems afin de nettoyer et de décontaminer correctement les surfaces du ou des instruments.

Prélèvement, transport et conservation des échantillons

Remarque : manipuler tous les échantillons et contrôles comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux.

Conserver tous les échantillons aux températures indiquées.

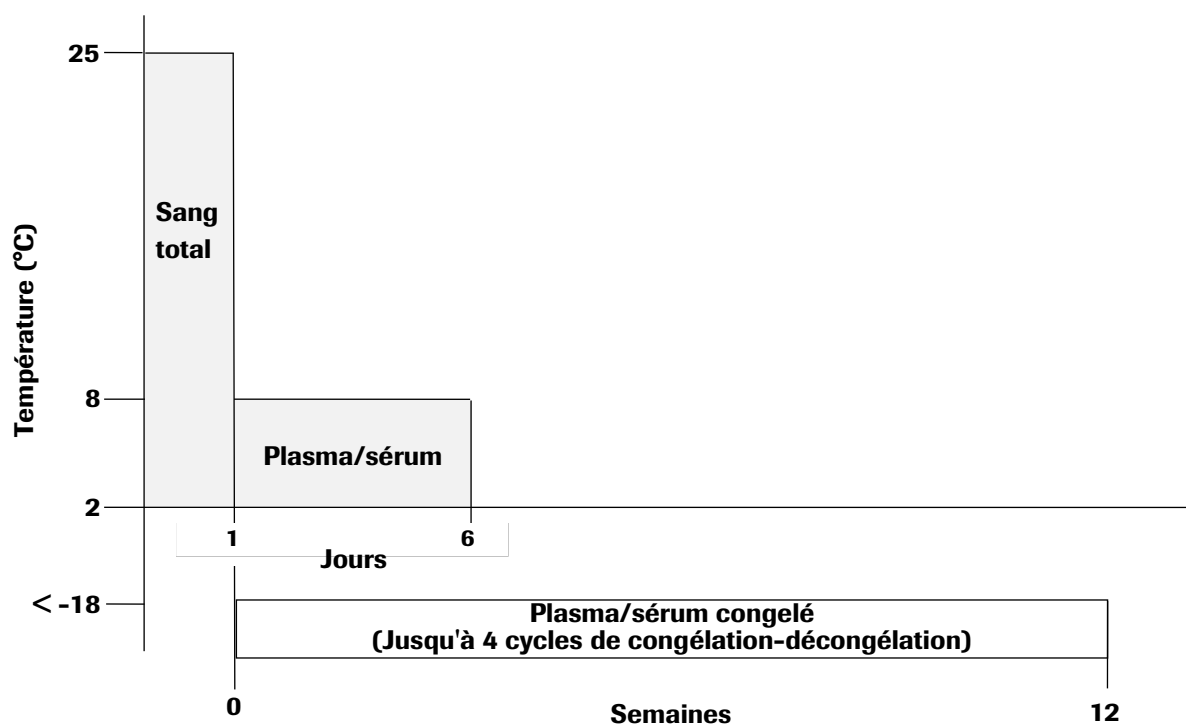
La stabilité des échantillons est affectée par les températures élevées.

En cas d'utilisation d'échantillons congelés dans des tubes secondaires, mettre les échantillons à température ambiante (15 à 30 °C) jusqu'à ce qu'ils soient complètement décongelés, puis les mélanger brièvement (par exemple agiter au vortex pendant 3 à 5 secondes) et les centrifuger pour regrouper le volume échantillon complet au fond du tube.

Échantillons

- Le sang total doit être prélevé dans des tubes de séparation du sérum SST™, dans des tubes de préparation du plasma BD Vacutainer® PPT™ pour les méthodes de tests de diagnostic moléculaire ou dans des tubes stériles avec de l'EDTA comme anticoagulant. Suivre les instructions du fabricant des tubes de prélèvement d'échantillons. Consultez la Figure 1.
- Le sang total prélevé dans des tubes de séparation du sérum SST™, dans des tubes de préparation du plasma BD Vacutainer® PPT™ pour les méthodes de tests de diagnostic moléculaire ou dans des tubes stériles avec de l'EDTA comme anticoagulant peut être conservé et/ou transporté à une température comprise entre 2 °C et 25 °C pendant 24 heures au maximum avant la préparation du plasma/sérum. La centrifugation doit être effectuée conformément aux instructions du fabricant.
- Après la séparation, les échantillons de plasma/sérum peuvent être conservés dans des tubes secondaires pendant 6 jours au maximum à une température comprise entre 2 °C et 8 °C ou pendant 12 semaines au maximum à une température ≤ -18 °C.
- Pour une conservation à long terme jusqu'à 6 mois, des températures ≤ -60 °C sont recommandées.
- Les échantillons de plasma/sérum sont stables pendant un maximum de quatre cycles de congélation/décongélation lorsqu'ils sont conservés à une température ≤ -18 °C.

Figure 1 Conditions de stockage des échantillons



- Si les échantillons sont expédiés, ils doivent être emballés et étiquetés conformément aux réglementations nationales et internationales sur le transport d'échantillons et d'agents étiologiques.

Instructions d'utilisation

Notes de procédure

- Ne pas utiliser les réactifs du test **cobas**® HBV, le **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, le **cobas**® NHP Negative Control Kit ni les réactifs **cobas omni** après leur date de péremption.
- Ne pas réutiliser les consommables. Ils sont destinés à un usage unique.
- Se reporter à l'Assistance Utilisateur et/ou au guide de l'utilisateur du **cobas**® 5800 System ou des **cobas**® 6800/8800 Systems pour obtenir des informations sur la bonne maintenance des instruments.

Exécution du test cobas® HBV sur le cobas® 5800 System

Le test cobas® HBV peut être exécuté avec des volumes d'échantillon requis de 350 µL (pour la procédure de travail avec échantillons de 200 µL) et de 650 µL (pour la procédure de travail avec échantillons de 500 µL). La procédure de test est décrite en détail dans l'Assistance Utilisateur et/ou le guide de l'utilisateur du cobas® 5800 System. La Figure 2 ci-dessous résume la procédure.

Figure 2 cobas® HBV : procédure du test sur le cobas® 5800 System

1	Se connecter au système
2	Chargement des échantillons sur le système : • Charger les racks d'échantillons sur le système • Le système se prépare automatiquement • Demander des tests
3	Charger les réactifs et les consommables comme indiqué par le système : • Charger la ou les cassettes de réactifs spécifique(s) au test • Charger les mini-racks de contrôle • Charger les embouts de traitement • Charger les embouts d'élution • Charger les plaques de traitement • Charger les plaques à déchets liquides • Charger les plaques d'amplification • Charger la cassette MGP • Recharger le diluant d'échantillons • Recharger le réactif de lyse • Recharger le réactif de lavage
4	Démarrer le run en choisissant le bouton de démarrage du traitement sur l'interface utilisateur ; tous les runs suivants démarreront automatiquement s'ils ne sont pas reportés manuellement
5	Consulter et exporter les résultats
6	Retirer et boucher tous les tubes d'échantillon présentant le volume minimum requis s'ils doivent être réutilisés ultérieurement Nettoyer l'instrument : • Décharger les mini-racks de contrôle vides • Décharger la ou les cassettes de réactifs spécifique(s) au test vide(s) • Vider le tiroir de plaques d'amplification • Vider les déchets liquides • Vider les déchets solides

Exécution du test cobas® HBV sur les cobas® 6800/8800 Systems

Le test cobas® HBV peut être exécuté avec deux volumes d'échantillon minimum nécessaires : 350 µL (pour la procédure de travail avec échantillons de 200 µL) et 650 µL (pour la procédure de travail avec échantillons de 500 µL). La procédure de test est décrite en détail dans l'Assistance Utilisateur et/ou le guide de l'utilisateur des cobas® 6800/8800. La Figure 3 ci-dessous résume la procédure.

Figure 3 cobas® HBV : procédure du test sur les cobas® 6800/8800 Systems

1	Se connecter au système Appuyer sur « Démarrer » pour préparer le système Demander des tests
2	Charger les réactifs et les consommables comme indiqué par le système : • Charger la cassette de réactifs spécifique au test • Charger les cassettes de contrôles • Charger les embouts de pipette • Charger les plaques de traitement • Charger le réactif MGP • Charger les plaques d'amplification • Recharger le diluant d'échantillons • Recharger le réactif de lyse • Recharger le réactif de lavage
3	Chargement des échantillons sur le système : • Charger les racks d'échantillons et les racks pour embouts bouchés dans le module de chargement des échantillons • Confirmer que les échantillons ont été acceptés dans le module de transfert
4	Démarrer le run en sélectionnant le bouton « Démarrer manuellement » sur l'interface utilisateur ou le faire démarrer automatiquement après 120 minutes ou si la série est pleine
5	Consulter et exporter les résultats
6	Retirer et boucher tous les tubes d'échantillon présentant le volume minimum requis s'ils doivent être réutilisés ultérieurement Nettoyer l'instrument : • Décharger les cassettes de contrôles vides • Vider le tiroir de plaques d'amplification • Vider les déchets liquides • Vider les déchets solides

Résultats

Le **cobas**® 5800 System et les **cobas**® 6800/8800 Systems déterminent automatiquement la concentration de l'ADN du VHB dans les échantillons et les contrôles. La concentration d'ADN du VHB est exprimée en Unités Internationales par millilitre (UI/mL).

Contrôle qualité et validité des résultats sur le **cobas**® 5800 System

- Un contrôle négatif [(-) C] et deux contrôles positifs, un contrôle positif bas [HBV L(+)C] et un contrôle positif haut [HBV H(+)C], sont traités au moins toutes les 72 heures ou avec chaque nouveau lot de kits. Des contrôles positifs et/ou négatifs plus fréquents peuvent être prévus en fonction des procédures de laboratoire et/ou de la réglementation locale.
- Dans le logiciel **cobas**® 5800 System et/ou dans le rapport, consulter les alertes et les résultats associés pour s'assurer de la validité de la série.
- La série est valide si aucune alerte n'apparaît pour les trois contrôles, constitués d'un contrôle négatif et de deux contrôles positifs : HBV L(+)C, HBV H(+)C. Dans les résultats, le contrôle négatif s'affiche sous la forme (-) C et les contrôles positifs bas et haut s'affichent sous la forme HxV L(+)C et HxV H(+)C.

L'invalidation des résultats est effectuée automatiquement par le logiciel **cobas**® 5800 en fonction des échecs des contrôles négatifs ou positifs.

REMARQUE : à la livraison, le **cobas**® 5800 System est paramétré pour effectuer un ensemble de contrôles (positifs et négatifs) à chaque run, mais il est possible de configurer une fréquence inférieure allant jusqu'à toutes les 72 heures, en fonction des procédures de laboratoire et/ou de la réglementation locale. Merci de contacter votre ingénieur de service Roche et/ou l'assistance technique Roche pour plus d'informations.

Résultats des contrôles sur le **cobas**® 5800 System

Les résultats des contrôles sont indiqués dans le logiciel **cobas**® 5800, dans l'application « Contrôles ».

- Les contrôles sont marqués par « Valide » dans la colonne « Résultat du contrôle » si toutes les cibles du contrôle sont signalées valides. Les contrôles sont marqués par « Invalide » dans la colonne « Résultat du contrôle » si toutes les cibles ou une cible du contrôle sont signalées invalides.
- Les contrôles marqués par « Invalide » sont accompagnés d'un symbole d'alerte dans la colonne « Alertes ». L'affichage détaillé offre plus d'informations sur les raisons du signalement invalide du contrôle, notamment des informations sur les alertes.
- Si l'un des contrôles positifs est invalide, répéter le test pour tous les contrôles positifs et tous les échantillons associés. Si le contrôle négatif est invalide, répéter le test pour tous les contrôles et tous les échantillons associés.

Contrôle qualité et validité des résultats sur les **cobas**® 6800/8800 Systems

- Un contrôle négatif [(-) C] et deux contrôles positifs, un contrôle positif bas [HBV L(+)C] et un contrôle positif haut [HBV H(+)C], sont traités avec chaque série.
- Dans le logiciel **cobas**® 6800/8800 Systems et/ou dans les rapports, consulter les alertes et les résultats associés pour s'assurer de la validité de la série.

- La série est valide si aucune alerte n'apparaît pour les trois contrôles, constitués d'un contrôle négatif et de deux contrôles positifs : HBV L(+)C, HBV H(+)C. Dans les résultats, le contrôle négatif s'affiche sous la forme (–) C et les contrôles positifs bas et haut s'affichent sous la forme HxV L(+)C et HxV H(+)C.

L'invalidation des résultats est effectuée automatiquement par les logiciels **cobas® 6800/8800** en fonction des échecs des contrôles négatifs et positifs.

Alertes de contrôle sur les cobas® 6800/8800 Systems

Tableau 11 Alertes de contrôle pour les contrôles négatifs et positifs

Contrôle négatif	Alerte	Résultat	Interprétation
(–) C	Q02 (Échec de la série de contrôle)	Invalide	Résultat invalide ou le résultat de titre calculé pour le contrôle négatif n'est pas négatif.
Contrôle positif	Alerte	Résultat	Interprétation
HxV L(+)C	Q02 (Échec de la série de contrôle)	Invalide	Résultat invalide ou le résultat d'un titre calculé pour le contrôle positif bas se situe en dehors du domaine théorique.
HxV H(+)C	Q02 (Échec de la série de contrôle)	Invalide	Résultat invalide ou le résultat d'un titre calculé pour le contrôle positif haut se situe en dehors du domaine théorique.

Si la série est invalide, retester la série complète, y compris les échantillons et les contrôles.

HxV L(+)C correspond au contrôle positif bas de **cobas® HBV/HCV/HIV-1** et HxV H(+)C correspond au contrôle positif haut de **cobas® HBV/HCV/HIV-1** dans le logiciel **cobas® 6800/8800**.

Interprétation des résultats

Pour une série de contrôles valide, vérifier l'absence d'alerte pour chaque échantillon individuel dans les logiciels **cobas® 5800 System** et **cobas® 6800/8800 Systems** et/ou dans les rapports. Les résultats doivent être interprétés comme suit :

- une série valide peut comporter des résultats d'échantillon valides et invalides.

Tableau 12 Résultats cibles pour l'interprétation des résultats cibles individuels

Résultats	Interprétation
Target Not Detected	ADN de VHB non détecté. Enregistrer les résultats comme suit : « VHB non détecté ».
< Titer Min	Le titre calculé se situe sous la limite de quantification inférieure (LLoQ) du test. Enregistrer les résultats comme suit : « VHB détecté, inférieur à (titre min) ». Titre min = 10 UI/mL (500 µL) Titre min = 25 UI/mL (200 µL)
Titer	Le titre calculé se situe dans le domaine de linéarité du test : supérieur ou égal au titre min. et inférieur ou égal au titre max. Enregistrer les résultats comme suit : « (Titre) de VHB détecté ».
> Titer Max ^a	Le titre calculé se situe au-dessus de la limite de quantification supérieure (ULoQ) du test. Enregistrer les résultats comme suit : « VHB détecté, supérieur à (titre max) ». Titre max = 1,00E+09 UI/mL (500 µL et 200 µL)

^a Un résultat d'échantillon « > Titer Max » correspond à des échantillons positifs pour le VHB dont les titres sont supérieurs à la limite supérieure de quantification (ULoQ). Pour obtenir un résultat quantitatif, l'échantillon d'origine doit être dilué avec du sérum ou du plasma EDTA négatif pour VHB, selon le type de l'échantillon d'origine, et le test doit être répété. Multiplier le résultat enregistré par le coefficient de dilution.

Interprétation des résultats du cobas® 5800 System

Les résultats des échantillons sont indiqués dans le logiciel **cobas® 5800**, dans l'application « Résultats ».

Pour une série de contrôles valide, vérifier l'absence d'alerte pour chaque échantillon individuel dans le logiciel **cobas® 5800** et/ou dans le rapport. Les résultats doivent être interprétés comme suit :

- Les échantillons associés à une série de contrôles valide sont marqués par « Valide » dans la colonne « Résultat du contrôle » si tous les résultats de cibles de contrôle sont signalés valides. Les échantillons associés à l'échec d'une série de contrôles sont marqués par « Invalide » dans la colonne « Résultat du contrôle » si tous les résultats de cibles de contrôle sont signalés invalides.
- Si les contrôles associés à un résultat d'échantillon sont invalides, une alerte spécifique est ajoutée au résultat d'échantillon comme suit :
 - Q05D : échec de validation de résultat en raison d'un contrôle positif invalide
 - Q06D : échec de validation de résultat en raison d'un contrôle négatif invalide
- Les valeurs de la colonne « Résultats » pour résultat de cible d'échantillon individuel doivent être interprétées comme indiqué dans le Tableau 12 ci-dessus.
- Si une ou plusieurs cibles d'échantillon sont marquées par « Invalide », le logiciel **cobas® 5800** indique une alerte dans la colonne « Alertes ». L'affichage détaillé offre plus d'informations sur les raisons du signalement invalide de la ou des cibles d'échantillon, notamment des informations sur les alertes.

Interprétation des résultats sur les cobas® 6800/8800 Systems

Pour une série valide, vérifier l'absence d'alerte pour chaque échantillon individuel dans le logiciel **cobas® 6800/8800 Systems** et/ou dans le rapport. Les résultats doivent être interprétés comme suit :

- Les échantillons sont marqués d'un « Yes » dans la colonne « Valide » si tous les résultats demandés pour la cible ont donné des résultats valides. Les échantillons marqués d'un « No » dans la colonne « Valide » peuvent nécessiter une interprétation et une action supplémentaires.
- Les valeurs de résultat de cible d'échantillon individuel doivent être interprétées comme indiqué dans le Tableau 12 ci-dessus.

Limites du test

- Le test **cobas**® HBV a été évalué uniquement pour être utilisé conjointement au **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, au **cobas**® NHP Negative Control Kit, au **cobas omni** MGP Reagent, au **cobas omni** Lysis Reagent, au **cobas omni** Specimen Diluent et au **cobas omni** Wash Reagent sur les **cobas**® 5800/6800/8800 Systems.
- La fiabilité des résultats dépend du suivi correct des procédures de prélèvement, stockage et manipulation des échantillons.
- Ce test a été validé pour être utilisé exclusivement avec du sérum ou du plasma EDTA. L'analyse d'autres types d'échantillons peut aboutir à des résultats inexacts.
- La quantification de l'ADN du VHB dépend du nombre de particules virales présentes dans l'échantillon et peut être affectée par les méthodes de collecte d'échantillons, les facteurs relatifs aux patients (c'est-à-dire l'âge, la présence de symptômes) et/ou le stade de l'infection.
- Bien qu'il s'agisse d'un cas rare, des mutations au niveau des régions hautement conservées d'un génome viral couvertes par le test **cobas**® HBV peuvent affecter la liaison des amorces et/ou des sondes et entraîner une sous-quantification du virus ou l'échec de la détection du virus.
- En raison des différences inhérentes à chaque technologie, il est recommandé aux utilisateurs, avant de passer d'une technologie à l'autre, de mener des études de corrélation de méthodes au sein de leur laboratoire afin de caractériser les différences entre les diverses technologies. Les utilisateurs doivent suivre leurs propres politiques/procédures.
- Le test **cobas**® HBV ne doit servir ni de test de dépistage du VHB dans le sang ou les produits sanguins, ni de test diagnostique pour confirmer la présence d'une infection par le VHB.

Évaluation des performances non cliniques

Principales caractéristiques de performance sur les cobas® 6800/8800 Systems

Limite de détection (LoD)

Standard international de l'OMS

La limite de détection du test **cobas®** HBV a été déterminée en analysant des dilutions en série du standard international de l'OMS pour l'ADN du virus de l'hépatite B pour les analyses utilisant la technologie d'amplification des acides nucléiques (second standard international de l'OMS), génotype A, obtenu auprès du NIBSC (National Institute for Biological Standards), dans du sérum et du plasma EDTA humain négatif pour le VHB, à l'aide de volumes de traitement des échantillons de 500 µL et 200 µL. Des panels de huit niveaux de concentration positifs plus un niveau de concentration négatif pour un volume de traitement des échantillons de 500 µL et des panels de neuf niveaux de concentration pour un volume de traitement des échantillons de 200 µL ont été testés sur trois lots de réactifs du test **cobas®** HBV, lors de plusieurs runs, pendant plusieurs jours, par plusieurs opérateurs et sur plusieurs instruments.

Les résultats pour le plasma EDTA et le sérum des deux volumes de prise d'essai des échantillons sont indiqués du Tableau 13 au Tableau 16, respectivement. L'étude démontre que le test **cobas®** HBV a détecté l'ADN du VHB à une concentration de 3 UI/mL, avec un taux de succès ≥ 95 % pour un volume de traitement des échantillons de 500 µL et à une concentration de 17,5 UI/mL, avec un taux de succès ≥ 95 % pour un volume de traitement des échantillons de 200 µL dans le plasma EDTA. Pour le sérum, l'étude démontre que le test **cobas®** HBV a détecté l'ADN du VHB à une concentration de 3 UI/mL, avec un taux de succès ≥ 95 % pour un volume de traitement des échantillons de 500 µL et à une concentration de 15 UI/mL, avec un taux de succès ≥ 95 % pour un volume de traitement des échantillons de 200 µL.

Tableau 13 Limite de détection dans le plasma EDTA (500 µL)

Concentration de titre d'entrée (ADN du VHB, UI/mL)	Nb de réplicats valides	Nb de positifs	Taux de succès en %
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
Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT	2,7 UI/mL Intervalle de confiance à 95 % : 2,4-3,1 UI/mL		

Tableau 14 Limite de détection dans le sérum (500 µL)

Concentration de titre d'entrée (ADN du VHB, UI/mL)	Nb de réplicats valides	Nb de positifs	Taux de succès en %
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
Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT	2,4 UI/mL Intervalle de confiance à 95 % : 2,0-2,7 UI/mL		

Tableau 15 Limite de détection dans le plasma EDTA (200 µL)

Concentration de titre d'entrée (ADN du VHB, UI/mL)	Nb de réplicats valides	Nb de positifs	Taux de succès en %
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
Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT	15,5 UI/mL Intervalle de confiance à 95 % : 14,4-16,9 UI/mL		

Tableau 16 Limite de détection dans le sérum (200 µL)

Concentration de titre d'entrée (ADN du VHB, UI/mL)	Nb de réplicats valides	Nb de positifs	Taux de succès en %
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
Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT	12,5 UI/mL Intervalle de confiance à 95 % : 11,6-13,8 UI/mL		

Domaine de linéarité

L'étude de linéarité du test **cobas**® HBV a été effectuée avec une série de dilutions constituée de 15 membres de panel couvrant le domaine de linéarité prévu pour le génotype prédominant (GT A). Les membres de panel de titre élevé ont été préparés à partir d'un stock de titre élevé d'ADN plasmidique du VHB, tandis que les membres de panel de titre plus faible ont été préparés à partir d'un échantillon clinique. Le panel de linéarité a été conçu pour présenter un chevauchement de titre d'environ 2 log₁₀ entre les deux sources de matériel. Le domaine de linéarité prévu du test **cobas**® HBV est compris entre la LLoQ (10 UI/mL dans un volume de traitement des échantillons de 500 µL et 25 UI/mL dans un volume de traitement des échantillons de 200 µL) et l'ULoQ (1,00E+09 UI/mL). Le panel de linéarité a été conçu de manière à s'étendre d'un niveau de concentration inférieur à la LLoQ (par ex. 7,5 UI/mL) à un niveau de concentration supérieur à l'ULoQ (par ex. 2,0E+09 UI/mL) et de manière à couvrir des points de décision médicale. En outre, le panel de linéarité a été conçu de manière à prendre partiellement en charge les étapes de 1,0 log₁₀ sur l'ensemble du domaine de linéarité. Pour chaque membre de panel, la concentration nominale en UI/mL et la source de l'ADN du VHB étaient données.

Avec le volume de traitement de 500 µL, le test **cobas**® HBV est linéaire pour le plasma EDTA et le sérum de 10 UI/mL à 1,00E+09 UI/mL et présente un écart absolu par rapport à la régression non linéaire de meilleur ajustement de moins de ±0,2 log₁₀. Dans le domaine de linéarité, l'exactitude du test se situait à ±0,24 log₁₀.

Avec le volume de traitement de 200 µL, le test **cobas**® HBV est linéaire pour le plasma EDTA et le sérum de 25 UI/mL à 1,00E+09 UI/mL et présente un écart absolu par rapport à la régression non linéaire de meilleur ajustement de moins de ±0,2 log₁₀. Dans le domaine de linéarité, l'exactitude du test se situait à ±0,24 log₁₀.

Voir de la Figure 4 à la Figure 7 pour les résultats représentatifs.

Figure 4 Détermination du domaine de linéarité dans le plasma EDTA (500 µL)

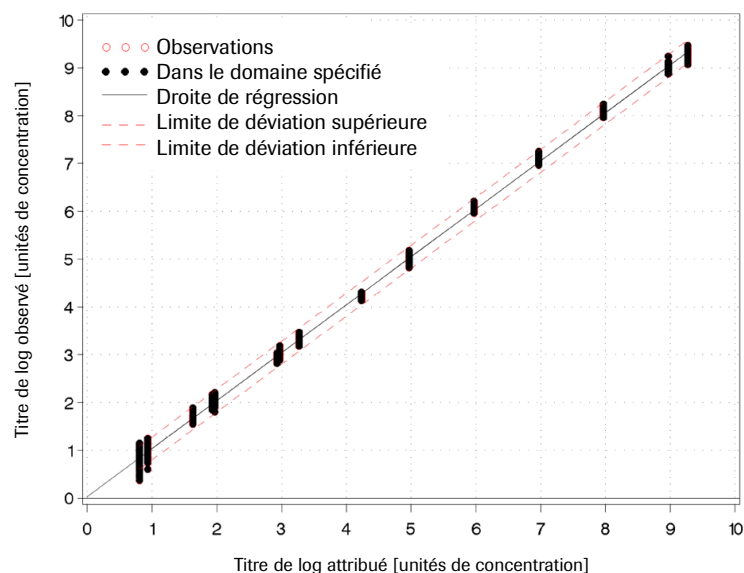


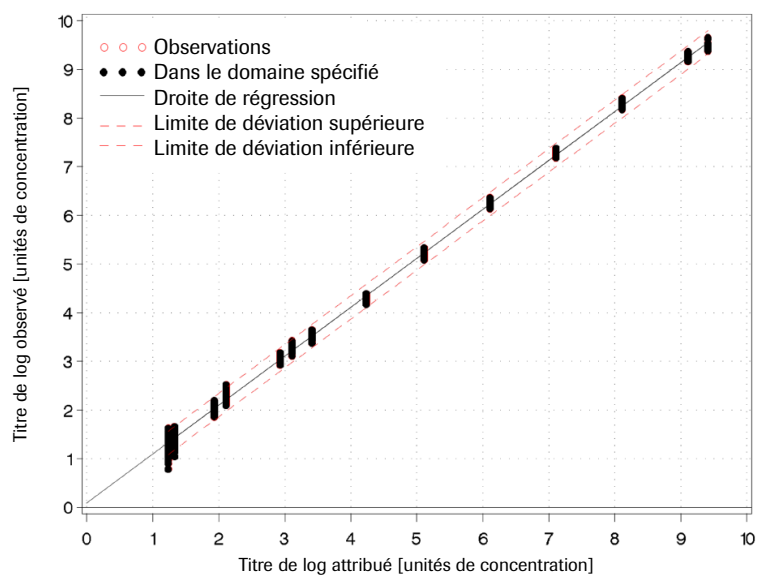
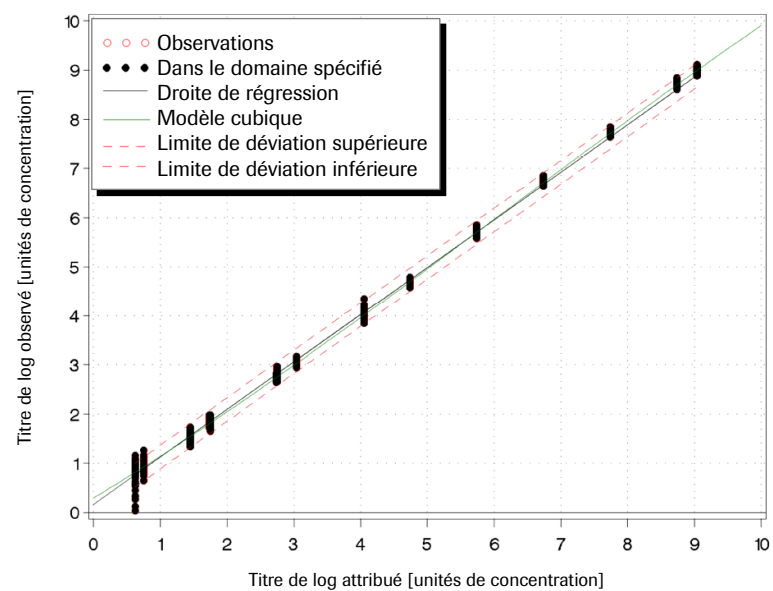
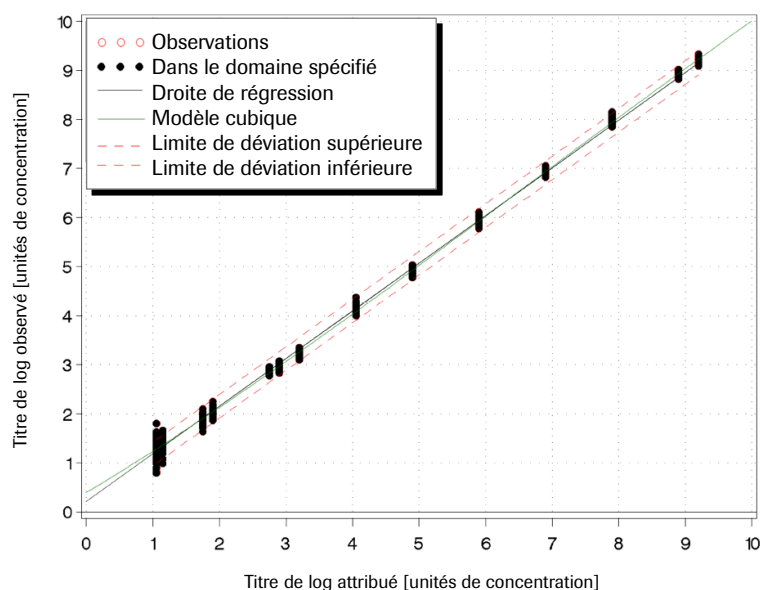
Figure 5 Détermination du domaine de linéarité dans le plasma EDTA (200 µL)**Figure 6** Détermination du domaine de linéarité dans le sérum (500 µL)

Figure 7 Détermination du domaine de linéarité dans le sérum (200 µL)

Précision intra-laboratoire

La précision du test **cobas**® HBV a été déterminée en analysant des dilutions en série d'échantillons cliniques (ÉC) de VHB (génotype A) ou d'ADN plasmidique du VHB dans du plasma EDTA ou du sérum négatif pour VHB. 10 à 12 niveaux de dilution ont été testés en 48 réplicats pour chaque niveau et volume de traitement sur trois lots de réactifs du test **cobas**® HBV sur trois instruments et par trois opérateurs, pendant 12 jours. Chaque échantillon a subi la procédure entière du test **cobas**® HBV sur des **cobas**® 6800/8800 Systems entièrement automatisés. La précision indiquée plus bas prend donc en compte tous les aspects de la procédure de test. Les résultats sont présentés du Tableau 17 au Tableau 20.

Le test **cobas**® HBV a présenté une précision élevée pour trois lots de réactifs testés sur une plage de concentration de 5,00E+01 UI/mL à 1,0E+09 UI/mL avec un volume de traitement des échantillons de 500 µL et de 1,00E+02 UI/mL à 1,0E+08 UI/mL (plasma EDTA) et 1,0E+09 UI/mL (sérum) avec un volume de traitement des échantillons de 200 µL.

Tableau 17 Précision intra-laboratoire du test **cobas®** HBV (échantillons de plasma EDTA - volume de traitement de 500 µL)*

Concentration nominale (UI/mL)	Concentration attribuée (UI/mL)	Matériel source	Plasma EDTA			
			Lot n° 1	Lot n° 2	Lot n° 3	Tous les lots
			DS	DS	DS	DS globale
1,00E+09	9,32E+08	ADN plasmidique	0,04	0,07	0,09	0,07
1,00E+08	9,32E+07	ADN plasmidique	0,04	0,08	0,05	0,06
1,00E+07	9,32E+06	ADN plasmidique	0,06	0,05	0,04	0,05
1,00E+06	9,32E+05	ADN plasmidique	0,06	0,07	0,04	0,06
1,00E+05	9,32E+04	ADN plasmidique	0,06	0,06	0,07	0,06
2,00E+04	1,71E+04	Échantillon clinique	0,05	0,03	0,03	0,04
2,00E+03	1,86E+03	ADN plasmidique	0,05	0,04	0,07	0,05
1,00E+03	8,54E+02	Échantillon clinique	0,04	0,05	0,04	0,04
1,00E+03	9,32E+02	ADN plasmidique	0,06	0,06	0,05	0,06
1,00E+02	8,54E+01	Échantillon clinique	0,07	0,08	0,07	0,07
1,00E+02	9,32E+01	ADN plasmidique	0,10	0,08	0,09	0,09
5,00E+01	4,27E+01	Échantillon clinique	0,09	0,04	0,08	0,08

* Les données de titre sont considérées comme normalement réparties par log et sont analysées selon une transformation de $\log_{10}$. Les colonnes d'écart-type (ET) présentent le total du titre après transformation de log pour chacun des trois lots de réactifs.

Tableau 18 Précision intra-laboratoire du test **cobas®** HBV (échantillons de sérum - volume de traitement de 500 µL)*

Concentration nominale (UI/mL)	Concentration attribuée (UI/mL)	Matériel source	Sérum			
			Lot n° 1	Lot n° 2	Lot n° 3	Tous les lots
			DS	DS	DS	DS globale
1,00E+09	5,47E+08	ADN plasmidique	0,05	0,06	0,03	0,05
1,00E+08	5,47E+07	ADN plasmidique	0,03	0,04	0,03	0,04
1,00E+07	5,47E+06	ADN plasmidique	0,05	0,05	0,03	0,05
1,00E+06	5,47E+05	ADN plasmidique	0,04	0,06	0,06	0,05
1,00E+05	5,47E+04	ADN plasmidique	0,04	0,03	0,03	0,04
2,00E+04	1,12E+04	Échantillon clinique	0,10	0,07	0,08	0,08
2,00E+03	1,09E+03	ADN plasmidique	0,05	0,05	0,03	0,05
1,00E+03	5,62E+02	Échantillon clinique	0,03	0,14	0,03	0,09
1,00E+03	5,47E+02	ADN plasmidique	0,04	0,05	0,04	0,04
1,00E+02	5,62E+01	Échantillon clinique	0,09	0,06	0,07	0,07
1,00E+02	5,47E+01	ADN plasmidique	0,05	0,07	0,04	0,06
5,00E+01	2,81E+01	Échantillon clinique	0,07	0,06	0,10	0,08

* Les données de titre sont considérées comme normalement réparties par log et sont analysées selon une transformation de $\log_{10}$. Les colonnes d'écart-type (ET) présentent le total du titre après transformation de log pour chacun des trois lots de réactifs.

Tableau 19 Précision intra-laboratoire du test **cobas®** HBV (échantillons de plasma EDTA - volume de traitement de 200 µL)*

Concentration nominale (UI/mL)	Concentration attribuée (UI/mL)	Matériel source	Plasma EDTA			
			Lot n° 1	Lot n° 2	Lot n° 3	Tous les lots
			DS	DS	DS	DS globale
1,00E+08	1,28E+08	ADN plasmidique	0,04	0,05	0,03	0,04
1,00E+07	1,28E+07	ADN plasmidique	0,06	0,04	0,02	0,04
1,00E+06	1,28E+06	ADN plasmidique	0,03	0,04	0,04	0,03
1,00E+05	1,28E+05	ADN plasmidique	0,02	0,06	0,05	0,05
2,00E+04	1,71E+04	Échantillon clinique	0,03	0,05	0,03	0,04
2,00E+03	2,57E+03	ADN plasmidique	0,05	0,06	0,05	0,05
1,00E+03	8,54E+02	Échantillon clinique	0,07	0,05	0,03	0,05
1,00E+03	1,28E+03	ADN plasmidique	0,06	0,07	0,03	0,05
1,00E+02	8,54E+01	Échantillon clinique	0,09	0,09	0,07	0,09
1,00E+02	1,28E+02	ADN plasmidique	0,06	0,09	0,11	0,09

* Les données de titre sont considérées comme normalement réparties par log et sont analysées selon une transformation de $\log_{10}$. Les colonnes d'écart-type (ET) présentent le total du titre après transformation de log pour chacun des trois lots de réactifs.

Tableau 20 Précision intra-laboratoire du test **cobas®** HBV (échantillons de sérum - volume de traitement de 200 µL)*

Concentration nominale (UI/mL)	Concentration attribuée (UI/mL)	Matériel source	Sérum			
			Lot n° 1	Lot n° 2	Lot n° 3	Tous les lots
			DS	DS	DS	DS globale
1,00E+09	7,92E+08	ADN plasmidique	0,04	0,03	0,03	0,04
1,00E+08	7,92E+07	ADN plasmidique	0,07	0,05	0,06	0,06
1,00E+07	7,92E+06	ADN plasmidique	0,04	0,03	0,04	0,04
1,00E+06	7,92E+05	ADN plasmidique	0,03	0,05	0,04	0,04
1,00E+05	7,92E+04	ADN plasmidique	0,06	0,07	0,03	0,06
2,00E+04	1,12E+04	Échantillon clinique	0,16	0,08	0,03	0,11
2,00E+03	1,58E+03	ADN plasmidique	0,05	0,04	0,05	0,05
1,00E+03	5,62E+02	Échantillon clinique	0,07	0,04	0,04	0,05
1,00E+03	7,92E+02	ADN plasmidique	0,07	0,05	0,06	0,06
1,00E+02	5,62E+01	Échantillon clinique	0,09	0,10	0,07	0,09
1,00E+02	7,92E+01	ADN plasmidique	0,08	0,09	0,09	0,08

* Les données de titre sont considérées comme normalement réparties par log et sont analysées selon une transformation de $\log_{10}$. Les colonnes d'écart-type (ET) présentent le total du titre après transformation de log pour chacun des trois lots de réactifs.

Détermination et vérification de génotype

Les performances du test **cobas**® HBV sur les génotypes du VHB ont été évaluées par :

- la détermination de la limite de détection des génotypes B à H et du mutant pré-core prédominant avec plasma EDTA et sérum pour un volume de traitement de 500 µL
- la vérification de la limite de détection des génotypes B à H et du mutant pré-core prédominant avec plasma EDTA et sérum pour un volume de traitement de 200 µL
- la vérification de la linéarité pour les génotypes B à H et le mutant pré-core prédominant

Limite de détection pour les génotypes B à H et le mutant pré-core prédominant

La limite de détection du test **cobas**® HBV a été déterminée par l'analyse de dilutions en série pour sept génotypes différents (B, C, D, E, F, G, H) et le mutant pré-core prédominant (G1896A ; C1858T) dans du sérum et du plasma EDTA humain négatifs pour le VHB, à l'aide de volumes de traitement des échantillons de 500 µL. Des panels de huit niveaux de concentration positifs plus un niveau de concentration négatif ont été testés à l'aide de trois lots de réactifs du test **cobas**® HBV, lors de plusieurs runs, pendant plusieurs jours, par plusieurs opérateurs et sur plusieurs instruments.

Les résultats pour le plasma EDTA et le sérum pour le volume de prise d'essai de 500 µL sont indiqués dans le Tableau 21 et le Tableau 22, respectivement. L'étude démontre que le test **cobas**® HBV a détecté tous les génotypes du VHB testés avec une limite de détection (ou LoD pour Limit of Detection) similaire à celle du VHB, génotype A.

Tableau 21 Limite de détection des génotypes de l'ADN du VHB dans du plasma EDTA (500 µL)

Génotype	LoD de 95 % par PROBIT	Intervalle de confiance à 95 %
GT B	3,45 UI/mL	2,95 UI/mL - 4,32 UI/mL
GT C	4,13 UI/mL	3,32 UI/mL - 5,82 UI/mL
GT D	4,52 UI/mL	3,59 UI/mL - 6,49 UI/mL
GT E	3,21 UI/mL	2,76 UI/mL - 3,98 UI/mL
GT F	1,87 UI/mL	1,66 UI/mL - 2,24 UI/mL
GT G	2,49 UI/mL	2,17 UI/mL - 3,02 UI/mL
GT H	6,55 UI/mL	5,33 UI/mL - 8,77 UI/mL
Mutant pré-core	2,38 UI/mL	2,08 UI/mL - 2,90 UI/mL

Tableau 22 Limite de détection des génotypes de l'ADN du VHB dans le sérum (500 µL)

Génotype	LoD de 95 % par PROBIT	Intervalle de confiance à 95 %
GT B	3,30 UI/mL	2,76 UI/mL - 4,30 UI/mL
GT C	3,34 UI/mL	2,83 UI/mL - 4,23 UI/mL
GT D	2,59 UI/mL	2,17 UI/mL - 3,42 UI/mL
GT E	2,67 UI/mL	2,25 UI/mL - 3,49 UI/mL
GT F	1,98 UI/mL	1,72 UI/mL - 2,45 UI/mL
GT G	2,07 UI/mL	1,75 UI/mL - 2,66 UI/mL
GT H	3,48 UI/mL	2,89 UI/mL - 4,60 UI/mL
Mutant pré-core	1,65 UI/mL	1,43 UI/mL - 2,03 UI/mL

Vérification de la limite de détection pour les génotypes B à H et le mutant pré-core prédominant

Des échantillons cliniques d'ADN du VHB de tous les génotypes (B, C, D, E, F, G, H) et du mutant pré-core prédominant (G1896A ; C1858T) ont été dilués à trois niveaux de concentration différents dans du plasma EDTA et du sérum. Le taux de succès a été déterminé avec 63 réplicats pour chaque niveau. Les tests ont été effectués avec trois lots de réactifs du test cobas® HBV. Les résultats obtenus avec 200 µL de plasma EDTA et de sérum sont indiqués au Tableau 23 et au Tableau 24. Ces résultats prouvent que le test cobas® HBV a détecté l'ADN du VHB pour les sept différents génotypes et le mutant pré-core prédominant à des concentrations de 12,50 UI/mL avec un taux de succès $\geq 93,65$ % et un intervalle de confiance à 95 % unilatéral supérieur de 97,80 %.

Tableau 23 Vérification de la limite de détection des génotypes de l'ADN du VHB dans du plasma EDTA (200 µL)

Génotype	6,25 UI/mL			12,50 UI/mL			18,75 UI/mL		
	Nb de réplicats valides	Nb de positifs	Taux de succès en % (IC à 95 %*)	Nb de réplicats valides	Nb de positifs	Taux de succès en % (IC à 95 %*)	Nb de réplicats valides	Nb de positifs	Taux de succès en % (IC à 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 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	62	61	98,39 (99,92)
E	63	51	80,95 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
F	63	54	85,71 (92,34)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
G	63	46	73,02 (82,02)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
H	63	33	52,38 (63,26)	63	59	93,65 (97,80)	63	59	93,65 (97,80)
Mutant pré-core	63	54	85,71 (92,34)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)

* Intervalle de confiance à 95 % unilatéral supérieur

Tableau 24 Vérification de la limite de détection des génotypes de l'ADN du VHB dans le sérum (200 µL)

Génotype	6,25 UI/mL			12,50 UI/mL			18,75 UI/mL		
	Nb de répliquats valides	Nb de positifs	Taux de succès en % (IC à 95 %*)	Nb de répliquats valides	Nb de positifs	Taux de succès en % (IC à 95 %*)	Nb de répliquats valides	Nb de positifs	Taux de succès en % (IC à 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)
Mutant pré-core	63	60	95,24 (98,66)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)

* Intervalle de confiance à 95 % unilatéral supérieur

Linéarité pour les génotypes B à H et le mutant pré-core prédominant

La série de dilutions utilisée dans la vérification de l'étude de linéarité des génotypes du test **cobas®** HBV se compose de 10 membres de panel couvrant le domaine de linéarité prévu. Les membres de panel de titre élevé ont été préparés à partir d'un stock de titre élevé d'ADN plasmidique, tandis que les membres de panel de titre plus faible ont été préparés à partir d'un échantillon clinique de titre élevé. Le panel de linéarité a été conçu pour présenter un chevauchement de titre d'environ 2 log₁₀ entre les deux sources de matériel. Le domaine de linéarité du test **cobas®** HBV s'étendait d'une valeur inférieure à la LLoQ (10 UI/mL pour un volume de traitement des échantillons de 500 µL, 25 UI/mL pour un volume de traitement des échantillons de 200 µL) à l'ULoQ (1,00E+09 UI/mL) et comprenait au moins un point de décision médicale. Vingt-et-un répliquats ont été testés sur trois lots de réactifs du test **cobas®** HBV pour chaque niveau dans du plasma EDTA et du sérum.

La linéarité au sein du domaine de linéarité du test **cobas®** HBV a été vérifiée pour l'ensemble des sept génotypes (B, C, D, E, F, G, H) et le mutant pré-core prédominant (G1896A ; C1858T). La déviation maximale entre la régression linéaire et la régression non linéaire de meilleur ajustement était inférieure ou égale à 0,2 log₁₀.

Spécificité

La spécificité du test **cobas®** HBV a été déterminée en analysant des échantillons de plasma EDTA et de sérum négatifs pour VHB issus de donneurs individuels. Trois cents échantillons individuels de plasma EDTA et 300 échantillons individuels de sérum (600 résultats au total) ont été testés avec deux lots de réactifs du test **cobas®** HBV. Tous les échantillons se sont révélés négatifs pour l'ADN du VHB. Dans le panel de test, la spécificité du test **cobas®** HBV était de 100 % (intervalle de confiance à 95 % unilatéral : 99,5 %).

Spécificité analytique

La spécificité analytique du test **cobas®** HBV a été évaluée en diluant un panel de micro-organismes avec du plasma EDTA positif pour l'ADN du VHB et du plasma EDTA négatif pour l'ADN du VHB. Les micro-organismes ont été ajoutés à du plasma humain EDTA négatif et testés avec et sans ADN du VHB. Aucun des agents pathogènes non VHB n'a provoqué d'interférence avec les performances du test. Des résultats négatifs ont été obtenus avec le test **cobas®** HBV sur tous les échantillons de micro-organismes sans cible VHB et des résultats positifs ont été obtenus sur tous les échantillons de micro-organismes avec cible VHB. En outre, le titre moyen $\log_{10}$ de chacun des échantillons positifs pour le VHB contenant des organismes pouvant provoquer une réaction croisée était compris dans un intervalle de $\pm 0,3 \log_{10}$ du titre moyen $\log_{10}$ du contrôle dopé positif respectif.

Tableau 25 Micro-organismes dont la réactivité croisée a été testée

Virus		Bactéries	Levure
Adénovirus de type 5	Virus du Nil Occidental	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomégalovirus	Virus de l'encéphalite de St Louis	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Virus de l'hépatite A	Types 1, 2, 3 et 4 du virus de la dengue	-	-
Virus de l'hépatite C	Virus de la méningo-encéphalite (souche HYPR)	-	-
Virus de l'hépatite D	Virus de la fièvre jaune	-	-
Virus de l'immunodéficience humaine 1	Papillomavirus humain	-	-
Virus lymphotrope à cellules T humain de types 1 et 2	Virus varicelle-zona	-	-
Virus de l'herpès humain de type 6	Influenza A	-	-
Virus de l'herpès simplex de types 1 et 2	Virus Zika	-	-

Spécificité analytique - substances interférentes

Des niveaux élevés de triglycérides (34,5 g/L), de bilirubine conjuguée (0,25 g/L), de bilirubine non conjuguée (0,25 g/L), d'albumine (58,7 g/L), d'hémoglobine (2,9 g/L) et d'ADN humain (2 mg/L) dans les échantillons ont été testés en présence et en l'absence d'ADN du VHB. Il a été démontré que les interférences endogènes testées n'ont pas d'effet sur les performances du test **cobas® HBV**.

En outre, la présence de maladies auto-immunes, telles que le lupus érythémateux systémique (LES) et l'arthrite rhumatoïde (AR), ainsi que les anticorps antinucléaires (ANA) ont été testés.

De plus, les composés médicamenteux répertoriés au Tableau 26 ont été testés à 3 fois la $C_{\max}$ en présence et en l'absence d'ADN du VHB.

Il a été démontré qu'aucune substance potentiellement interférente n'affecte les performances du test. Des résultats négatifs ont été obtenus avec le test **cobas® HBV** sur tous les échantillons sans cible VHB et des résultats positifs ont été obtenus sur tous les échantillons avec cible VHB. En outre, le titre moyen $\log_{10}$ de chacun des échantillons positifs pour VHB contenant des substances potentiellement interférentes était compris dans un intervalle de $\pm 0,5 \log_{10}$ du titre moyen $\log_{10}$ du contrôle dopé positif respectif.

Tableau 26 Composés médicamenteux dont l'interférence avec la quantification de l'ADN du VHB a été testée par le **cobas® HBV**

Catégorie de médicament	Nom du médicament générique	
Modulateur de l'immunité	Peginterféron α -2a	Peginterféron α -2b
	Ribavirine	-
Inhibiteur d'entrée du VIH	Maraviroc	
Inhibiteur de l'intégrase du VIH	Elvitegravir/Cobicistat	Raltegravir
Inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse du VIH	Éfavirenz	Névirapine
	Étravirine	Rilpivirine
Inhibiteur de la protéase du VIH	Atazanavir	Lopinavir
	Tipranavir	Nelfinavir
	Darunavir	Ritonavir
	Fosamprenavir	Saquinavir
Inhibiteur de la protéase du VHC	Boceprevir	Telaprevir
	Simeprevir	-
Inhibiteurs de la transcriptase inverse ou de l'ADN polymérase	Abacavir	Tenofovir
	Emtricitabine	Adefovir dipivoxil
	Entecavir	Telbivudine
	Foscarnet	Zidovudine
	Cidofovir	Aciclovir
	Lamivudine	Valganciclovir
	Ganciclovir	Sofosbuvir
Composés pour le traitement des infections opportunistes	Azithromycin	Pyrazinamide
	Clarithromycin	Rifabutine
	Ethambutol	Rifampicine
	Fluconazole	Sulfaméthoxazole
	Isoniazide	Triméthoprim

Corrélation de la méthode

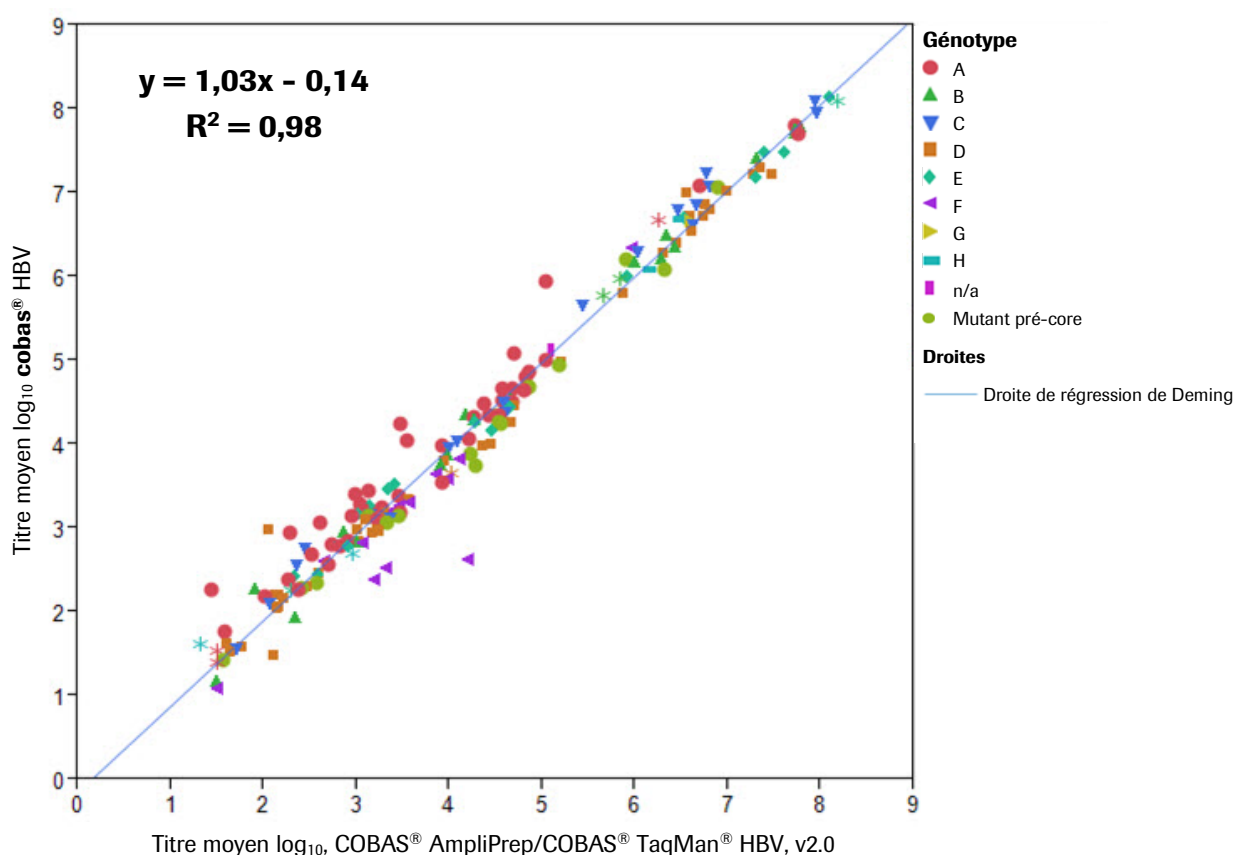
Évaluation comparative des performances du test cobas® HBV et du test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV, v2.0

Les performances des tests cobas® HBV et COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV, v2.0 (test TaqMan® HBV, v2.0) ont été comparées en analysant des échantillons de sérum et de plasma EDTA issus de patients infectés par le VHB.

Au total, 103 échantillons de plasma EDTA et 85 échantillons de sérum, tous génotypes de VHB confondus, analysés par duplicats, se sont révélés valides et à l'intérieur du domaine de quantification des deux tests. L'analyse de la régression de Deming a été réalisée. La déviation du titre moyen des échantillons testés avec les deux tests était de $-0,03 \log_{10}$.

Les résultats de la régression de Deming sont indiqués dans la Figure 8.

Figure 8 Analyse de régression comparative du test cobas® HBV et du test TaqMan® HBV, v2.0 ; échantillons de plasma EDTA et de sérum

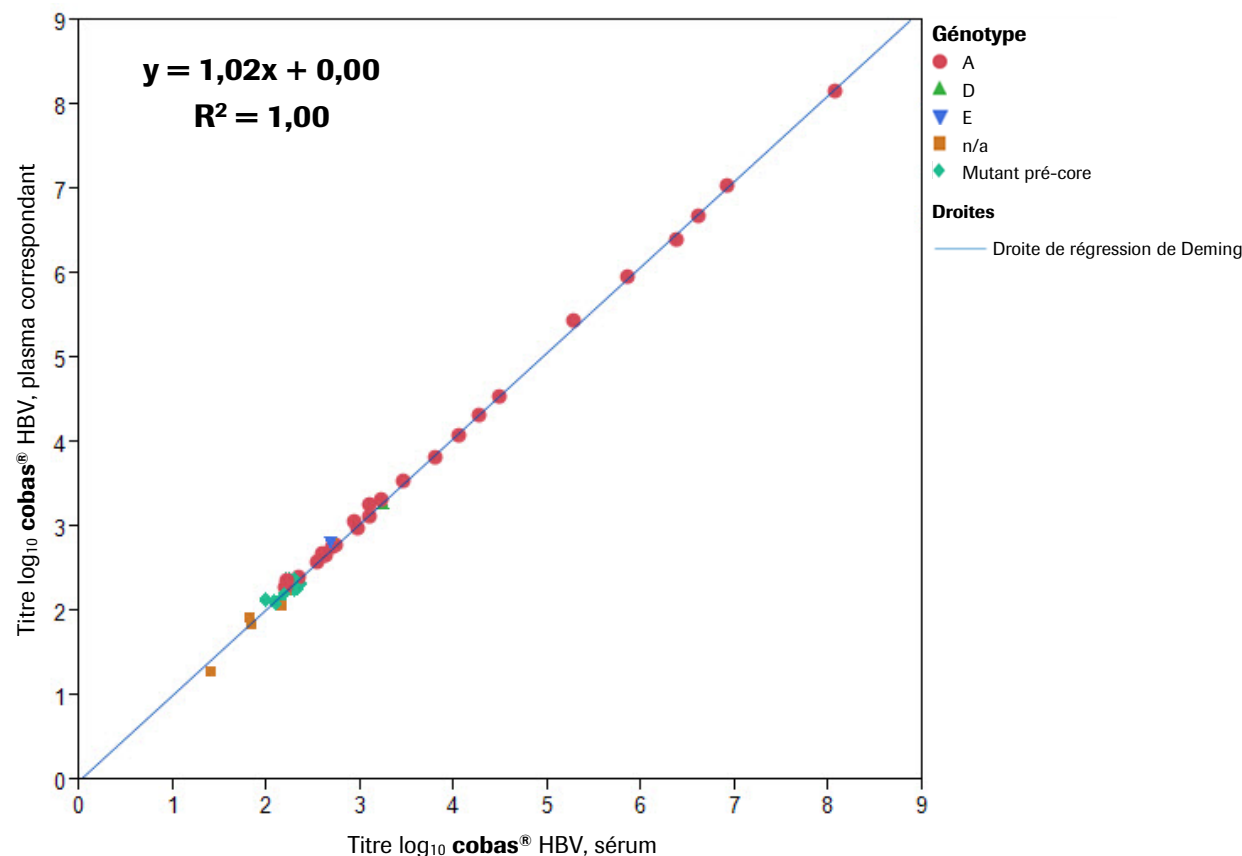


Équivalence des matrices - plasma EDTA et sérum

L'équivalence des matrices de 50 échantillons appariés de plasma EDTA et de sérum a été analysée. Les échantillons positifs pour VHB couvraient la plupart des génotypes et avaient des titres dans tout le domaine de linéarité.

L'équivalence des matrices a été démontrée dans les échantillons testés avec une déviation du titre moyen de 0,05 log₁₀ (Figure 9).

Figure 9 Performances de l'équivalence des matrices entre le plasma EDTA et le sérum



Échec complet du système

Le taux d'échec complet du système pour le test **cobas®** HBV a été déterminé en testant 100 répliquats de plasma EDTA et 100 répliquats de sérum dopés avec le VHB pour un total de 200 répliquats. Ces échantillons ont été testés à une concentration cible d'environ 3 × la LoD. L'étude a été réalisée à l'aide du **cobas®** 6800 System.

D'après les résultats de cette étude, tous les répliquats étaient réactifs pour chaque cible. Le taux d'échec complet du système est donc de 0 %. L'intervalle de confiance bilatéral exact à 95 % était de 0 % pour la limite inférieure et de 3,62 % pour la limite supérieure pour chaque matrice [0 % : 3,62 %].

Contamination croisée

Le taux de contamination croisée pour le test **cobas®** HBV a été déterminé en testant 240 réplicats d'un échantillon de plasma EDTA humain normal négatif pour le virus (VIH, VHC et VHB) et 225 réplicats d'un échantillon de VHB de titre élevé à 1,00E+09 UI/mL. Au total, cinq runs ont été exécutés avec des échantillons positifs et négatifs en configuration de damier.

Les 240 réplicats de l'échantillon négatif étaient tous non réactifs, soit un taux de contamination croisée de 0 %. L'intervalle de confiance bilatéral exact à 95 % était de 0 % pour la limite inférieure et de 1,53 % pour la limite supérieure [0 % : 1,53 %].

Évaluation des performances cliniques

Étude de reproductibilité

La reproductibilité et la variabilité entre les lots du **cobas®** HBV ont été évaluées dans du plasma EDTA sur le **cobas®** 6800 System à l'aide d'un modèle mixte pour estimer la variance totale.

Les résultats d'évaluation sont présentés du Tableau 27 au Tableau 30 ci-dessous.

Variabilité entre les lots

Les tests de variabilité entre les lots ont été réalisés pour les génotypes A et C sur un site de test, à l'aide de trois lots de réactifs. Deux opérateurs sur le site ont testé chaque lot pendant six jours. Deux runs ont été réalisés chaque jour.

Tableau 27 ci-dessous indique les pourcentages attribuables de la variance totale, les écarts types (ET) de la précision totale et les CV (coefficient de variabilité) log-normal par génotype et valeur attendue de $\log_{10}$ de concentration d'ADN du HBV pour le **cobas®** 6800 System.

Tableau 27 Pourcentage attribuable de la variance totale, écart-type de précision totale et CV log-normal (%) de concentration d'ADN du VHB ($\log_{10}$ UI/mL) par génotype et membre de panel positif (entre les lots) sur le **cobas®** 6800 System (reproductibilité)

Géno- type	Concentration d'ADN du VHB ($\log_{10}$ UI/mL)		Nb de tests ^b	Contribution en pour cent par rapport à la variance totale (CV log-normal (%))					Précision totale	
	Attendue	Moyenne observée ^a		Lot	Opérateur	Jour	Run	Intra-run	ET ^c	CV log- normal (%) ^d
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

Géno- type	Concentration d'ADN du VHB (log ₁₀ UI/mL)		Nb de tests ^b	Contribution en pour cent par rapport à la variance totale (CV log-normal (%))					Précision totale	
	Attendue	Moyenne observée ^a		Lot	Opérateur	Jour	Run	Intra-run	ET ^c	CV log- normal (%) ^d
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

Remarque : les résultats avec charge virale détectable sont inclus dans ce tableau ; les résultats de 1,0E+01 UI/mL à 1,0E+09 UI/mL se trouvent dans le domaine de linéarité.

^a Calculée à l'aide de la procédure SAS MIXED.

^b Nombre de tests valides avec charge virale détectable.

^c Calculé à l'aide de la variabilité totale à partir de la procédure SAS MIXED.

^d CV log-normal (%) = $\frac{\text{rac}(10^{\wedge}[\text{ET}^2 \times \ln(10)] - 1)}{100}$.

CV (%) = coefficient de variation en pourcentage ; ADN = acide désoxyribonucléique ; VHB = virus de l'hépatite B ; Nb = nombre ; ET = écart-type ; rac = racine carrée.

Dans le Tableau 28 ci-dessous, le pourcentage de corrélation négative (PCN) pour le **cobas® 6800 System** à l'aide de tests de membre de panel négatif était de 100 %.

Tableau 28 Pourcentage de corrélation négative à l'aide du membre de panel négatif (entre lots)

Concentration d'ADN de VHB attendue	Nb de tests valides	Résultats positifs	Résultats négatifs	Pourcentage de corrélation négative ^a	IC à 95 % ^b
Négatif	106	0	106	100,00	(96,58, 100,00)

^a PCN = (nombre de résultats négatifs ÷ nombre total de tests valides dans le membre de panel négatif) × 100.

^b Calculé à l'aide de la méthode d'intervalle de confiance binomial exact de Clopper-Pearson.

IC = intervalle de confiance ; ADN = acide désoxyribonucléique ; VHB = virus de l'hépatite B ; Nb = nombre ; PCN = pourcentage de corrélation négative.

Reproductibilité

Les tests de reproductibilité ont été réalisés sur trois sites pour les génotypes A et C, à l'aide d'un lot de réactifs. Deux opérateurs sur chaque site ont réalisé les tests pendant 6 jours. Deux runs ont été réalisés chaque jour.

Tableau 29 ci-dessous indique les pourcentages attribuables de la variance totale, les écarts types (ET) de la précision totale et les CV log-normal par génotype et valeur attendue de $\log_{10}$ de concentration d'ADN du VHB pour le cobas® 6800 System.

Tableau 29 Pourcentage attribuable de la variance totale, écart-type de précision totale et CV log-normal (%) de concentration d'ADN du VHB ($\log_{10}$ UI/mL) par génotype et membre de panel positif (reproductibilité)

Géno- type	Concentration d'ADN du VHB ($\log_{10}$ UI/mL)		Nb de tests ^b	Contribution en pour cent par rapport à la variance totale (CV log-normal (%))					Précision totale	
	Attendue	Moyenne observée ^a		Site	Opérateur	Jour	Run	Intra-run	ET ^c	CV log- normal (%) ^d
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

Géno- type	Concentration d'ADN du VHB (log ₁₀ UI/mL)		Nb de tests ^b	Contribution en pour cent par rapport à la variance totale (CV log-normal (%))					Précision totale	
	Attendue	Moyenne observée ^a		Site	Opérateur	Jour	Run	Intra-run	ET ^c	CV log- normal (%) ^d
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

Remarque : les résultats avec charge virale détectable sont inclus dans ce tableau ; les résultats de 1,0E+01 UI/mL à 1,0E+09 UI/mL se trouvent dans le domaine de linéarité.

^a Calculée à l'aide de la procédure SAS MIXED.

^b Nombre de tests valides avec charge virale détectable.

^c Calculé à l'aide de la variabilité totale à partir de la procédure SAS MIXED.

^d CV log-normal (%) = $\text{rac}(10^{[ET^2 \times \ln(10)]} - 1) \times 100$.

CV (%) = coefficient de variation en pourcentage ; VHB = virus de l'hépatite B ; ADN = acide désoxyribonucléique ; Nb = nombre ; ET = écart-type ; rac = racine carrée.

Le PCN était de 100 % (106/106 ; IC à 95 % : 96,58 % à 100 %) à l'aide de tests de membre de panel négatif sur le **cobas® 6800 System** comme présenté dans le Tableau 30 ci-dessous.

Tableau 30 Pourcentage de corrélation négative à l'aide du membre de panel négatif (reproductibilité) sur le **cobas® 6800 System**

Concentration d'ADN de VHB attendue	Nb de tests	Résultats positifs	Résultats négatifs	Pourcentage de corrélation négative ^a	IC à 95 % ^b
Négatif	106	0	106	100,00	(96,58, 100,00)

^a PCN = (nombre de résultats négatifs ÷ nombre total de tests valides dans le membre de panel négatif) × 100.

^b Calculé à l'aide de la méthode d'intervalle de confiance binomial exact de Clopper-Pearson.

IC = intervalle de confiance ; ADN = acide désoxyribonucléique ; VHB = virus de l'hépatite B ; Nb = nombre ; PCN = pourcentage de corrélation négative.

Utilité clinique

L'étude a été conçue pour évaluer la capacité du test à prédire les résultats cliniques.

Des spécimens résiduels obtenus auprès d'environ 300 sujets choisis de manière aléatoire pour recevoir un traitement d'une durée de 100 semaines à base d'entécavir et de ténofovir ou d'entécavir en monothérapie au cours d'un essai clinique pharmaceutique ont été testés. En outre, des spécimens issus d'environ 70 sujets AgHBe (-) souffrant d'une infection chronique par le VHB dans la pratique clinique courante ayant suivi un traitement à base de ténofovir en monothérapie ont été testés (Tableau 31).

Tableau 31 Groupes de traitement

Étude clinique	Statut AgHBe	Traitement	Groupe de traitement
Essai clinique pharmaceutique ²¹	AgHBe (+)	entécavir en monothérapie	Groupe I
		entécavir + ténofovir	Groupe II
	AgHBe (-)	entécavir en monothérapie	Groupe III (inclut jusqu'à 17 sujets de pratique clinique)
		entécavir + ténofovir	Groupe IV
Pratique clinique	AgHBe (-)	ténofovir en monothérapie	Groupe V

AgHBe = antigène e de l'hépatite B.

Les analyses avec le test **cobas**® HBV ont été réalisées sur trois sites. Chaque site était équipé d'un **cobas**® 6800 System. Trois lots de kits ont été utilisés au sein de l'étude ; chaque échantillon a été testé avec un lot de kits. Tableau 32 ci-dessous présente les caractéristiques démographiques et de référence de sujets dont les échantillons ont été testés sur le **cobas**® 6800 System. Des sujets AgHBe (+) et AgHBe (-) ont participé à cette étude et les données concernant ces populations ont été analysées séparément.

Tableau 32 Caractéristiques démographiques et de référence des sujets

Caractéristiques	Statistiques
Total, N	396
Catégorie d'âge (ans), n (%)	
< 40	186 (47,0 %)
≥ 40	210 (53,0 %)
Âge (ans)	
Moyenne ± ET	42 ± 15,2
Médiane	42
Intervalle	17-81
Genre, n (%)	
Homme	276 (69,7 %)
Femme	120 (30,3 %)
Appartenance ethnique, n (%)	
Asiatique	204 (51,5 %)
Noire/Afro-américaine	14 (3,5 %)
Blanche/Caucasienne	169 (42,7 %)
Autre	9 (2,3 %)

Génotype, n (%)	
A	64 (16,2 %)
A et G	1 (0,3 %)
B	62 (15,7 %)
C	74 (18,7 %)
D	105 (26,5 %)
E	4 (1,0 %)
F	10 (2,5 %)
Mixte	1 (0,3 %)
Inconnu	75 (18,9 %)
ALT normale de référence, n (%)	
Oui	23 (5,8 %)
Non	361 (91,2 %)
Inconnu	12 (3,0 %)
ALT de référence (UI/L)	
Moyenne ± ET	140 ± 169,9
Médiane	96
Intervalle	14-1583
ADN du VHB (log₁₀ UI/mL) de référence	
Moyenne ± ET	6,6 ± 2,38
Médiane	7,4
Intervalle	-0,0-10,1
Catégorie ADN du VHB, n (%)	
< 2,0 × 10 ³ UI/mL	41 (10,4 %)
2,0 × 10 ³ à 2,0 × 10 ⁴ UI/mL	13 (3,3 %)
> 2,0 × 10 ⁴ UI/mL	330 (83,3 %)
Inconnu	12 (3,0 %)

ALT = alanine aminotransférase ; VHB = virus de l'hépatite B ; ADN = acide désoxyribonucléique ; ET = écart-type.

Prédiction de réponse à un traitement antiviral

Définitions :

- Réponse virologique (RV) semaine 12 = diminution de l'ADN du VHB 2 log₁₀ par rapport à la référence
- RV semaine 24 = ADN du VHB < 2000 UI/mL (AgHBe (+)) ou < 50 UI/mL (AgHBe (-))
- RV semaine 48 = ADN du VHB < 2000 UI/mL (AgHBe (+)) ou < 50 UI/mL (AgHBe (-))
- RV semaine 96 = ADN du VHB < 50 UI/mL (limite RV)
- Limite hors RV = ADN du VHB > 50 UI/mL à la semaine 96
- Réponse biochimique (RB) = normalisation de l'ALT comparée à la référence ; ALT < 30 UI/L pour les hommes et ALT < 19 UI/L pour les femmes
- Perte d'AgHBe = conversion du statut d'AgHBe (+) en AgHBe (-) au cours du traitement

Prédiction de la réponse virologique à la semaine 96

Dans cette étude, la concentration d'ADN du VHB et les RV aux semaines 12, 24 et 48 de la période de traitement ont été utilisées pour évaluer la capacité de prédiction des résultats (RV, RB ou perte d'AgHBe) à la semaine 96 de la période de traitement. La valeur RV 96 (ADN du VHB < 50 UI/mL) a été évaluée à l'aide des résultats d'ADN du VHB issus d'un test approuvé.

Lorsque le test **cobas®** HBV a été utilisé pour mesurer l'ADN du VHB, une concentration d'ADN du VHB de référence < 10⁸ UI/mL et des RV aux semaines 12, 24 et 48 se sont avérées être d'un haut niveau de prédictibilité quant à la valeur RV 96 concernant tous les groupes de traitement de cette étude (VPP de 79,6 % à 100 %) (Tableau 33 et Tableau 34 ci-dessous).

Tableau 33 Probabilité d'obtention d'une réponse virologique à la semaine 96 sur la base d'une référence d'ADN du VHB < 10⁸ UI/mL par groupe de traitement

Visite pendant traitement	Groupe de traitement	Sujets évaluable	VPP (%)		VPN (%)		RC
			Estimation (IC à 95 %)	n/N	Estimation (IC à 95 %)	n/N	Estimation (IC à 95 %)
Référence	Groupe I	103	93,5 (82,5, 97,8)	43/46	31,6 (21,0, 44,5)	18/57	6,62 (1,81, 24,20)
	Groupe II	102	96,2 (87,0, 98,9)	50/52	4,0 (1,1, 13,5)	2/50	1,04 (0,14, 7,69)
	Groupe III	49	100,0 (92,1, 100,0)	45/45	25,0 (4,6, 69,9)	1/4	30,00 (0,83, 1087,42)
	Groupe IV	48	97,9 (88,9, 99,6)	46/47	100,0 (20,7, 100,0)	1/1	92,00 (1,81, 4686,43)
	Groupe V	30	90,0 (74,4, 96,5)	27/30	NC	0	9,00 (0,15, 541,69)

Remarques : valeur prédictive positive (VPP) = $VP \div (VP + FP)$ ou la probabilité de correspondre à une valeur RV 96 à condition que le sujet présente une réponse virologique lors d'une visite spécifique.

Valeur prédictive négative (VPN) = $VN \div (FN + VN)$ ou la probabilité de ne pas correspondre à une valeur RV 96 à condition que le sujet ne présente pas de réponse virologique lors d'une visite spécifique.

Rapport de cotes (RC) = $(VP \times VN) \div (FP \times FN)$.

Les IC à 95 % pour la VPP et la VPN sont calculés selon la méthode de score de Wilson.

0,5 a été ajouté aux cellules vides (VP, VN, FP ou FN = 0), avant le calcul du RC et de l'IC à 95 % correspondant.

RV semaine 96 = ADN du VHB < 50 UI/mL (limite RV) à partir du test COBAS® Ampliprep/COBAS® Taqman® HBV, version 2

Concentration d'ADN du VHB de référence < 1E8 UI/mL comme déterminé sur le **cobas®** 6800 System.

Groupe I : entécavir en monothérapie (AgHBe (+)).

Groupe II : entécavir + ténofovir (AgHBe (+)).

Groupe III : entécavir en monothérapie (AgHBe (-)).

Groupe IV : entécavir + ténofovir (AgHBe (-)).

Groupe V : ténofovir en monothérapie (AgHBe (-)).

IC = intervalle de confiance ; ADN = acide désoxyribonucléique ; FN = faux négatif ; FP = faux positif ; AgHBe = antigène e de l'hépatite B ;

VHB = virus de l'hépatite B ; NC = non calculable (absence de sujets sans réponse virologique lors de cette visite) ; VN = vrai négatif ;

VP = vrai positif ; RV = réponse virologique ; RV 96 = réponse virologique à la semaine 96.

Tableau 34 Probabilité d'obtention d'une réponse virologique à la semaine 96 lors d'une visite spécifique pendant le traitement par un groupe de traitement

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

Remarques : valeur prédictive positive (VPP) = $VP \div (VP + FP)$ ou la probabilité de correspondre à une valeur RV 96 à condition que le sujet présente une réponse virologique lors d'une visite spécifique.

Valeur prédictive négative (VPN) = $VN \div (FN + VN)$ ou la probabilité de ne pas correspondre à une valeur RV 96 à condition que le sujet ne présente pas de réponse virologique lors d'une visite spécifique.

Rapport de cotes (RC) = $(VP \times VN) \div (FP \times FN)$.

Les IC à 95 % pour la VPP et la VPN sont calculés selon la méthode de score de Wilson.

0,5 a été ajouté aux cellules vides (VP, VN, FP ou FN = 0), avant le calcul du RC et de l'IC à 95 % correspondant.

La valeur RV 96 est obtenue si le sujet présente une concentration d'ADN du VHB < 50 UI/mL à partir du test COBAS® TaqMan® HBV à utiliser avec le High Pure System à la semaine 96.

RV à la semaine 12 = diminution de l'ADN du VHB > 2 log₁₀ par rapport à la référence ; RV à la semaine 24 = ADN du VHB < 2000 UI/mL (AgHBe (+)) ou < 50 UI/mL (AgHBe (-)) ; RV à la semaine 48 = ADN du VHB < 2000 UI/mL (AgHBe (+)) ou < 50 UI/mL (AgHBe (-)).

Groupe I : entécavir en monothérapie (AgHBe (+)).

Groupe II : entécavir + ténofovir (AgHBe (+)).

Groupe III : entécavir en monothérapie (AgHBe (-)).

Groupe IV : entécavir + ténofovir (AgHBe (-)).

Groupe V : ténofovir en monothérapie (AgHBe (-)).

IC = intervalle de confiance ; ADN = acide désoxyribonucléique ; FN = faux négatif ; FP = faux positif ; AgHBe = antigène e de l'hépatite B ; VHB = virus de l'hépatite B ; NC = non calculable (absence de sujets sans réponse virologique lors de cette visite) ; VN = vrai négatif ;

VP = vrai positif ; RV = réponse virologique ; RV 96 = réponse virologique à la semaine 96.

Prédiction de la réponse biochimique à la semaine 96

La probabilité d'obtention d'une réponse biochimique à la semaine 96 sur la base d'une RV pendant le traitement à la semaine 12, 24 ou 48 est résumée dans le Tableau 35.

La valeur de RV à la semaine 12, 24 ou 48 comme critère de prédiction de la valeur RB 96 a varié selon la semaine de RV et selon le groupe de traitement.

Tableau 35 Probabilité d'obtention d'une réponse biochimique à la semaine 96 lors d'une visite spécifique pendant le traitement par un groupe de traitement

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

Remarques : valeur prédictive positive (VPP) = $VP \div (VP + FP)$ ou la probabilité de correspondre à une valeur RB 96 à condition que le sujet présente une réponse virologique lors d'une visite spécifique.

Valeur prédictive négative (VPN) = $VN \div (FN + VN)$ ou la probabilité de ne pas correspondre à une valeur RB 96 à condition que le sujet ne présente pas de réponse virologique lors d'une visite spécifique.

Rapport de cotes (RC) = $(VP \times VN) \div (FP \times FN)$.

Les IC à 95 % pour la VPP et la VPN sont calculés selon la méthode de score de Wilson.

0,5 a été ajouté aux cellules vides (VP, VN, FP ou FN = 0), avant le calcul du RC et de l'IC à 95 % correspondant.

Groupe I : entécavir en monothérapie (AgHBe (+)).

Groupe II : entécavir + ténofovir (AgHBe (+)).

Groupe III : entécavir en monothérapie (AgHBe (-)).

Groupe IV : entécavir + ténofovir (AgHBe (-)).

Groupe V : ténofovir en monothérapie (AgHBe (-)).

La réponse biochimique est définie comme la normalisation de l'ALT (ALT < 30 UI/L pour les hommes et ALT < 19 UI/L pour les femmes) à la semaine 96 comparée à la valeur de référence pour les sujets présentant une ALT élevée au niveau de la référence.

RV semaine 12 = diminution de l'ADN du VHB > 2 log₁₀ par rapport à la référence. RV semaine 24 = ADN du VHB < 2000 UI/mL (AgHBe (+)) ou < 50 UI/mL (AgHBe (-)). RV semaine 48 = ADN du VHB < 2000 UI/mL (AgHBe (+)) ou < 50 UI/mL (AgHBe (-)).

ALT = alanine aminotransférase ; IC = intervalle de confiance ; ADN = acide désoxyribonucléique ; FN = faux négatif ; FP = faux positif ; AgHBe = antigène e de l'hépatite B ; VHB = virus de l'hépatite B ; NC = non calculable (absence de sujets sans réponse virologique lors de cette visite) ; VN = vrai négatif ; VP = vrai positif ; RV = réponse virologique ; RB 96 = réponse biochimique à la semaine 96.

09198946001-02FR

Prédiction de perte d'AgHBe

La perte d'AgHBe n'a pu être évaluée que chez les sujets AgHBe (+) au niveau de la référence.

L'absence de RV à la semaine 24 était d'un haut niveau de prédictibilité quant à la persistance d'AgHBe (les VPN étaient $\geq 80,0\%$ à la fois pour les groupes I et II), et l'absence de RV à la semaine 48 a également prédit la persistance d'AgHBe au sein du groupe I (la VPN était de 100 %) (Tableau 36). Étant donné que tous les sujets suivant le traitement combiné (groupe II) avaient obtenu des RV avant la semaine 48, il n'était pas possible de calculer une VPN à ce moment pour ce groupe.

Tableau 36 Probabilité de perte d'AgHBe à la semaine 96 lors d'une visite spécifique pendant le traitement par un groupe de traitement

Visite pendant traitement	Groupe de traitement	Sujets éligibles	VPP (%)		VPN (%)		RC
			Estimation (IC à 95 %)	n / N	Estimation (IC à 95 %)	n / N	Estimation (IC à 95 %)
Semaine 12	Groupe I	102	46,1 (36,7, 55,7)	47 / 102	NC	0	0,85 (0,02, 43,91)
	Groupe II	101	41,6 (32,5, 51,3)	42 / 101	NC	0	0,71 (0,01, 36,60)
Semaine 24	Groupe I	103	52,6 (41,6, 63,3)	41 / 78	80,0 (60,9, 91,1)	20 / 25	4,43 (1,51, 13,00)
	Groupe II	104	44,1 (34,4, 54,2)	41 / 93	81,8 (52,3, 94,9)	9 / 11	3,55 (0,73, 17,33)
Semaine 48	Groupe I	101	51,1 (41,0, 61,2)	46 / 90	100,0 (74,1, 100,0)	11 / 11	23,00 (1,31, 403,28)
	Groupe II	98	40,8 (31,6, 50,7)	40 / 98	NC	0	0,69 (0,01, 35,48)

Remarque : valeur prédictive positive (VPP) = $VP \div (VP + FP)$ ou la probabilité de perte d'AgHBe à la semaine 96 à condition que le sujet présente une réponse virologique lors d'une visite spécifique.

Valeur prédictive négative (VPN) = $VN \div (FN + VN)$ ou la probabilité d'une absence de perte d'AgHBe à la semaine 96 à condition que le sujet ne présente pas de réponse virologique lors d'une visite spécifique.

Rapport de cotes (RC) = $(VP \times VN) \div (FP \times FN)$.

Les IC à 95 % pour la VPP et la VPN sont calculés selon la méthode de score de Wilson.

0,5 a été ajouté aux cellules vides (VP, VN, FP ou FN = 0), avant le calcul du RC et de l'IC à 95 % correspondant.

Groupe I : entécavir en monothérapie (AgHBe (+)).

Groupe II : entécavir + ténofovir (AgHBe (+)).

La perte d'AgHBe est obtenue si une perte d'AgHBe a lieu au cours du traitement.

RV à la semaine 12 = diminution de l'ADN du VHB $> 2 \log_{10}$ par rapport à la référence ; RV à la semaine 24 = ADN du VHB < 2000 UI/mL (AgHBe (+)) ; RV à la semaine 48 = ADN du VHB < 2000 UI/mL (AgHBe (+)).

IC = intervalle de confiance ; ADN = acide désoxyribonucléique ; FN = faux négatif ; FP = faux positif ; AgHBe = antigène e de l'hépatite B ; VHB = virus de l'hépatite B ; NC = non calculable (absence de sujets sans réponse virologique lors de cette visite) ; VN = vrai négatif ;

VP = vrai positif ; RV = réponse virologique ; RB 96 = réponse biochimique à la semaine 96.

Les résultats ont démontré que le test **cobas® HBV** est utile pour surveiller la charge virale chez les sujets souffrant d'une infection chronique par le VHB au début et au cours d'un traitement antiviral. Cette étude a démontré que la mesure de référence de la concentration d'ADN du VHB, une diminution de la concentration d'ADN du VHB à la semaine 12 ou des concentrations d'ADN du VHB se trouvant en dessous de seuils spécifiques à la semaine 24 ou 48 au cours du traitement prédisaient une réponse au traitement ; l'étude identifiait les sujets ayant obtenu une réponse virologique, une réponse biochimique ou une perte d'AgHBe à la semaine 96 du traitement.

Conclusion

Le test **cobas®** HBV peut quantifier le niveau d'ADN du VHB afin de surveiller et de prédire la réponse à un traitement antiviral. Les résultats de cette étude démontrent l'utilité clinique de ce test pour déterminer de manière précoce la réponse au cours du traitement dans le cadre de la gestion de patients souffrant d'une infection chronique par le VHB.

Équivalence des systèmes/comparaison des systèmes

L'équivalence des **cobas®** 5800, **cobas®** 6800 et **cobas®** 8800 Systems a été démontrée au moyen d'études de performances.

Les résultats présentés dans les instructions d'utilisation indiquent des performances équivalentes pour tous les systèmes.

Informations supplémentaires

Caractéristiques clés du test

Type d'échantillon	Plasma EDTA, sérum		
Quantité d'échantillon minimale requise	650 µL ou 350 µL		
Volume de traitement des échantillons	500 µL ou 200 µL		
Sensibilité analytique		<u>500 µL</u>	<u>200 µL</u>
	Plasma EDTA	2,7 UI/mL	15,5 UI/mL
	Sérum	2,4 UI/mL	12,5 UI/mL
Domaine de linéarité	500 µL : 10 UI/mL - 1,0E+09 UI/mL		
	200 µL : 25 UI/mL - 1,0E+09 UI/mL		
Spécificité	100 % (intervalle de confiance à 95 % unilatéral : 99,5 %)		
Génotypes détectés	Génotypes de VHB A-H et mutant pré-core prédominant		

Symboles

Les symboles suivants sont utilisés dans toute la documentation accompagnant les produits de diagnostic par PCR de Roche.

Tableau 37 Symboles utilisés dans l'étiquetage des produits de diagnostic par PCR de Roche

Age/DOB	Âge ou date de naissance		Dispositif non adapté aux tests à proximité du patient	QS IU/PCR	UI QS par réaction de PCR, utiliser les unités internationales (UI) QS par réaction de PCR pour le calcul des résultats.
	Logiciel auxiliaire		Dispositif non adapté à l'auto-test	SN	Numéro de série
Assigned Range [copies/mL]	Plage assignée (copies/mL)		Distributeur (Remarque : le pays/la région applicable peut être indiqué(e) sous le symbole.)	Site	Site
Assigned Range [IU/mL]	Plage assignée (UI/mL)		Ne pas réutiliser	Procedure Standard	Procédure standard
EC REP	Mandataire dans la Communauté européenne		Femme	STERILE EO	Stérilisé à l'aide d'oxyde d'éthylène
	Fiche technique à code-barres		Pour évaluation des performances DIV uniquement		Conserver dans un endroit sombre
LOT	Code du lot	GTIN	Code article international		Limites de température
	Risques biologiques		Importateur		Fichier de définition de tests
REF	Référence du catalogue	IVD	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>		Orienté vers le haut
	Marquage CE de conformité ; ce dispositif est conforme aux exigences en vigueur concernant le marquage CE d'un dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>	LLR	Limite inférieure de la plage assignée	Procedure UltraSensitive	Procédure ultrasensible
Collect Date	Date de collecte		Homme	UDI	Identification de dispositif unique
	Consulter les instructions d'utilisation		Fabricant	ULR	Limite supérieure de la plage assignée
	Suffisant pour <n> tests	CONTROL -	Contrôle négatif	Urine Fill Line	Ligne de remplissage d'urine
CONTENT	Contenu du kit		Non stérile	Rx Only	États-Unis uniquement : la législation fédérale américaine limite la vente de ce dispositif aux professionnels de santé autorisés à exercer.
CONTROL	Contrôle		Nom du patient		Date limite d'utilisation
	Date de fabrication		Numéro patient		
	Dispositif pour tests à proximité du patient		Retirer ici		
	Dispositif pour auto-test	CONTROL +	Contrôle positif		
		QS copies / PCR	Copies QS par réaction de PCR, utiliser les copies QS par réaction de PCR pour le calcul des résultats.		

Assistance technique

Pour bénéficier d'une assistance technique, merci de vous adresser à votre filiale locale :
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricant et importateur

Tableau 38 Fabricant et importateur



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

Fabriqué aux États-Unis



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 68305 Mannheim, Germany

Marques commerciales et brevets

Ce produit est couvert par un ou plusieurs des brevets américains n° 8962293, 9102924, 8609340, 9234250, 8097717, 8192958, 10059993, 10358675, 8129118 et 6727067, ainsi que par les brevets étrangers équivalents respectifs.

COBAS, COBAS OMNI, AMPERASE, AMPLIPREP et TAQMAN sont des marques commerciales de Roche.

La marque commerciale « Armored RNA® » est détenue par Asuragen, Inc. et Cenetron Diagnostics, Ltd.

ProClin® est une marque déposée de Rohm and Haas Company.

Vacutainer® est une marque déposée de Becton Dickinson & Company.

Tous les autres noms de produit et marques commerciales sont la propriété de leurs titulaires respectifs.

La technologie de prévention de contamination croisée de l'enzyme AmpErase® est couverte par le brevet américain 7,687,247 détenu par Life Technologies ; son exploitation sous licence a été cédée à Roche Molecular Systems, Inc.

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

Copyright

©2021 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Str. 116
 68305 Mannheim
 Germany



Références

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.

Révision du document

Informations sur la révision du document	
Doc Rev. 1.0 12/2020	Première publication.
Doc Rev. 2.0 09/2021	Ajout d'informations spécifiques au cobas® 5800. Ajout de l'adresse de l'importateur. Suppression de l'adresse des distributeurs. Mise à jour de la page des symboles harmonisés. Veuillez contacter votre représentant local Roche si vous avez des questions.