

cobas[®] HBV

**Kiekybinis nukleorūgščių tyrimas,
atliekamas su cobas[®] 4800 sistema**

Skirtas *in vitro* diagnostikai

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

Turinys

Numatytasis naudojimas

Tyrimo santrauka ir paaiškinimas

Kontekstas	4
HBV tyrimų pagrindas	4
Tyrimo paaiškinimas	5
Procedūros principai	5

Medžiagos ir reagentai

Reagentai	6
Reagentų laikymo ir naudojimo reikalavimai	11
Papildomos reikalingos medžiagos.....	11
Būtni, bet nepateikiami instrumentai ir programinė įranga.....	12
Tinkami mėgintuvėliai.....	12

Atsargumo priemonės ir naudojimo reikalavimai

Perspėjimai ir atsargumo priemonės	13
Gera laboratorinė praktika	13
Reagentų naudojimas	14
Užteršimas	14
Sąžiningumo principai	14
Atliekų šalinimas	14
Išliejimas ir valymas	15
Mėginių ėmimas, transportavimas ir laikymas	15
Mėginio paėmimas.....	15
Mėginių transportavimas, laikymas ir stabilumas	15

Naudojimo instrukcijos

Tyrimo atlikimas	16
Apdorojamas mėginio tūris	16
Tyrimo apimtis.....	16
Darbo eiga	17

Rezultatai

Kokybės kontrolė ir rezultatų patikimumas	19
Kontrolių rezultatų aiškinimas	19
Rezultatų aiškinimas	20
Rezultatų žymų sąrašas.....	21
Procedūros apribojimai	22

Neklinikinis efektyvumo įvertinimas

Pagrindinės tyrimo savybės	23
Metodų palyginimas	32

Papildoma informacija

Pagrindinės tyrimo ypatybės	34
Simboliai	35
Techninė pagalba	36
Gamintojas	36
Prekių ženklai ir patentai	36
Autorių teisės	36
Šaltinių sąrašas	37
Dokumento leidimas	39

Numatytasis naudojimas

cobas® HBV yra *in vitro* nukleorūgščių amplifikacijos kiekybinis tyrimas hepatito B viruso (HBV) DNR nustatyti HBV užkrėstų asmenų žmogaus EDTA plazmoje ar serume, mėginių apdorojimui, amplifikacijai ir aptikimui naudojant automatizuotą **cobas® 4800** sistemą.

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

Tyrimo santrauka ir paaiškinimas

Kontekstas

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

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

HBV tyrimų pagrindas

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

Tyrimo paaiškinimas

cobas® HBV yra kiekybinis nukleorūgščių tyrimas, atliekamas naudojant **cobas® 4800** sistemą. **cobas® HBV** leidžia aptikti ir kiekybiškai įvertinti HBV DNR užkrėstų pacientų EDTA kraujo plazmoje ar serume. HBV aptinkamas ir kiekybiškai įvertinamas naudojant zondus, tačiau jie nesuteikia galimybės atskirti HBV A, B, C, D, E, F, G ir H genotipų bei labiausiai paplitusio „precore“ mutanto. Virusų kiekis kiekybiškai įvertinamas lyginant su lambda fago DNR kiekybiniu standartu (DNA QS), kuris mėginių apdorojimo metu įterpiamas į kiekvieną mėginį. DNA QS taip pat veikia kaip vidinė kontrolė, skirta viso mėginio paruošimo ir PGR amplifikacijos procesui stebėti. Papildomai tyrime naudojamos trys išorinės kontrolės: teigiama didelio titro, teigiama mažo titro ir neigiama kontrolė.

Procedūros principai

cobas® HBV tyrimas pagrįstas visiškai automatizuotu mėginių paruošimu (nukleorūgščių išgavimu ir išgryninimu), po kurio atliekama PGR amplifikacija ir aptikimas. **cobas® 4800** sistemą sudaro **cobas® x 480** prietaisas ir **cobas® z 480** analizatorius. **cobas® 4800** programinė įranga atlieka automatizuotą duomenų valdymą, kurio metu visiems tyrimams priskiriami tyrimo rezultatai: „target not detected“ (neaptikta), $< \text{LLoQ}$ (apatinė kiekybinė riba), $> \text{ULoQ}$ (viršutinė kiekybinė riba) arba „HBV DNA detected“ (HBV DNR aptikta) nurodant reikšmę $\text{LLoQ} \leq x \leq \text{ULoQ}$ linijiniame intervale. Rezultatus galima tiesiogiai peržiūrėti sistemos ekrane, eksportuoti arba išspausdinti kaip ataskaitą.

Nukleorūgštys iš paciento mėginių, išorinių kontrolių ir pridėtų lambda fago DNR kiekybinio standarto (DNA QS) molekulių išgaunamos vienu metu. Apibendrinant, virusinės nukleorūgštys išskiriamos į mėginį pridėjus proteazės ir lizės reagento. Išlaisvintos nukleorūgštys prisijungia prie magnetinių stiklo dalelių silicio dioksido paviršiaus. Vėlesniame etape plovimo buferiu pašalinamos neprisijungusios medžiagos ir nešvarumai, pvz., denatūruoti baltymai, ląstelių liekanos ir galimi PGR inhibitoriai, o nuo magnetinių stiklo dalelių aukštoje temperatūroje elucijos buferiniu tirpalu nuplaunamos išgrynintos nukleorūgštys.

Selektyvi tiriamų nukleorūgščių amplifikacija iš mėginio gaunama naudojant konkretaus tiriamo viruso tiesioginius ir atvirkštinius pradmenis, kurie parenkami labai konservatyviuose HBV regionuose. Atrankinė DNA QS amplifikacija atliekama naudojant sekai būdingus tiesioginius ir atvirkštinius pradmenis, kurie parenkami taip, kad neturėtų homologijų su HBV genomu. PGR amplifikacijai naudojama šilumai atspari DNR polimerazė. Pagrindiniame mišinyje vietoje deoksitimino trifosfato (dTTP) yra deoksiuridino trifosfato (dUTP), kuris įterpiamas į naujai susintetintą DNR (amplikoną).^{14, 17, 18} Kad užteršiantys ankstesnių PGR amplikonai nebūtų panaudoti kaip PGR šablonai, užtikrina AmpErase – fermentas, įdedamas į pagrindinį mišinį prieš pirmąjį PGR denatūracijos etapą. AmpErase katalizuoja uracilo pašalinimą iš DNR, tačiau neveikia natūraliai susidariusios DNR, kurioje nėra uracilo. Per kitus PGR ciklus susidarę amplikonai nėra inaktyvuojami, nes AmpErase yra neaktyvi PGR pradmenų prilydymo ir denatūravimo temperatūrose.

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

Du konkretūs signaliniai dažikliai išmatuojami apibrėžtame bangos ilgio intervale, todėl galima vienu metu aptikti ir atskirti amplifikuotus HBV taikinius ir DNA-QS.

Medžiagos ir reagentai

Reagentai

Visi neatidaryti reagentai ir kontrolės turi būti laikomi, kaip rekomenduojama lentelėje **Reagentų laikymo ir naudojimo reikalavimai**.

Rinkinys	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® HBV 120 tyrimų (P/N: 06979564190)	MMX R1 (cobas® pagrindinio mišinio 1 reagentas) Mangano acetatas, kalio hidroksidas, < 0,1 % natrio azidas	10 × 1,75 ml	Nėra
	HBV MMX R2 (cobas® HBV pagrindinio mišinio 2 reagentas) Tricino buferis, kalio acetatas, 18 % dimetil-sulfoksidas, glicerolis, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01 % tiesioginiai ir atvirkštiniai HBV pradmenys, < 0,01 % kiekybinio standarto tiesioginiai ir atvirkštiniai pradmenys, < 0,01 % fluorescencine žyme pažymėti oligonukleotidų zondai, specifiniai HBV ir kiekybiniam standartui, < 0,01 % oligonukleotidinis aptameras, < 0,01 % Z05D DNR polimerazė (mikrobinės kilmės), < 0,01 % fermentas AmpErase (uracil-N-glikozilazė) (mikrobinės kilmės), < 0,1 % natrio azidas	10 × 0,5 ml	Nėra
	DNA QS (cobas® HBV DNR kiekybinis standartas) Tris buferinis tirpalas, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % ne HBV kilmės konstruktas, kuriame nėra HBV specifinio pradmens prisijungimo sekos ir su unikalia zondo jungties vieta (neinfekcinė DNR), 0,002 % poli-rA RNR (sintetinė), < 0,1 % natrio azidas	10 × 1,75 ml	Nėra

Rinkinys	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit 10 rinkinių (P/N: 06979572190)	HBV/HCV/HIV-1 L(+)^C (cobas® HBV/HCV/HIV-1 silpnai teigiama kontrolė) < 0,001 % sintetinė (apsaugota) ŽIV-1 M grupės RNR, įkapsuliuota MS2 bakteriofago apvalkalo baltyme, < 0,001 % sintetinė (plazmidė) HBV DNR, įkapsuliuota Lambda bakteriofago apvalkalo baltyme, < 0,001 % sintetinė (apsaugota) HCV RNR, įkapsuliuota MS2 bakteriofago apvalkalo baltyme, įprasta žmogaus kraujo plazma, nereaktyvi pagal licencijuotus ŽIV 1/2 antikūnų, HCV antikūnų, HBsAg, HBc antikūnų tyrimus; ŽIV-1 RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR neaptinkama PGR metodais 0,1 % ProClin® 300 konservantas	10 × 0,75 ml	  ATSARGIAI H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. P261: Stengtis neįkvėpti dulkių / dūmų / dujų / rūko / garų / aerosolio. P272: Užterštų darbo drabužių negalima išnešti iš darbo vietos. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P362 + P364: Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl apsivelkant. P501: Turinį / talpyklą išpilti (išmesti) patvirtintoje atliekų šalinimo įmonėje. 55965-84-9 Mišinys: 5-chloro-2-metil-4-izotiazolin-3-onas [EB nr. 247-500-7] ir 2-metil-2H-izotiazol-3-onas [EB nr. 220-239-6] (3:1).
	HBV/HCV/HIV-1 H(+)^C (cobas® HBV/HCV/HIV-1 stipriai teigiama kontrolė) < 0,001 % sintetinė (apsaugota) ŽIV-1 M grupės RNR, įkapsuliuota MS2 bakteriofago apvalkalo baltyme, < 0,001 % sintetinė (plazmidė) HBV DNR, įkapsuliuota Lambda bakteriofago apvalkalo baltyme, < 0,001 % sintetinė (apsaugota) HCV RNR, įkapsuliuota MS2 bakteriofago apvalkalo baltyme, įprasta žmogaus kraujo plazma, nereaktyvi pagal licencijuotus ŽIV 1/2 antikūnų, HCV antikūnų, HBsAg, HBc antikūnų tyrimus; ŽIV-1 RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR neaptinkama PGR metodais 0,1 % ProClin® 300 konservantas	10 × 0,75 ml	
	(-) C (cobas® neigiama kontrolė) Įprasta žmogaus kraujo plazma, nereaktyvi pagal licencijuotus ŽIV-1/2 antikūnų, HCV antikūnų, HBsAg, HBc antikūnų tyrimus; ŽIV-1 RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR neaptinkama PGR metodais < 0,1 % ProClin® 300 konservantas	10 × 0,75 ml	
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 240 tyrimų (P/N: 06979513190)	MGP 2 (cobas® 4800 MGP 2-as reagentas) Magnetinės stiklo dalelės, Tris buferinis tirpalas, 0,1 % metil-4 hidroksibenzoatas, < 0,1 % natrio azidas	10 × 8 ml	Nėra
	EB 2 (cobas® 4800 eliuacijos 2 buferinis tirpalas) Tris buferinis tirpalas, 0,2 % metil-4 hidroksibenzoatas	10 × 17 ml	

Rinkinys	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 960 tyrimų (P/N: 06979521190)	MGP 2 (cobas® 4800 MGP 2-as reagentas) Magnetinės stiklo dalelės, Tris buferinis tirpalas, 0,1 % metil-4 hidroksibenzoatas, < 0,1 % natrio azidas	10 × 16 ml	Nėra
	EB 2 (cobas® 4800 eliucijos 2 buferinis tirpalas) Tris buferinis tirpalas, 0,2 % metil-4 hidroksibenzoatas	10 × 17 ml	
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 tyrimų (P/N: 05235863190)	WB Natrio citrato dihidratas, 0,05 % N-metilizotiazolono HCl ^b	10 × 55 ml	 ATSARGIAI H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. P261: Stengtis neįkvėpti garų arba aerozolio. P272: Užterštų darbo drabužių negalima išnešti iš darbo vietos. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P362 + P364: Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl apsivelkant. P501: Turinį / talpyklą išpilti (išmesti) patvirtintoje atliekų šalinimo įmonėje. 26172-54-3 2-metil-2H-izotiazol-3-ono hidrochloridas
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 tyrimų (P/N: 05235871190)	WB Natrio citrato dihidratas, 0,05 % N-metilizotiazolono HCl ^b	10 × 200 ml	 ATSARGIAI H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. P261: Stengtis neįkvėpti garų arba aerozolio. P272: Užterštų darbo drabužių negalima išnešti iš darbo vietos. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P362 + P364: Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl apsivelkant. P501: Turinį / talpyklą išpilti (išmesti) patvirtintoje atliekų šalinimo įmonėje. 26172-54-3 2-metil-2H-izotiazol-3-ono hidrochloridas
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2 240 tyrimų (P/N: 06979556190)	SD 2 Tris-buferinis tirpalas, 0,1 % metil-4 hidroksibenzoatas, < 0,1 % natrio azidas	10 × 8 ml	Nėra

Rinkinys	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 240 tyrimų (P/N: 06979530190)	P 2 cobas® 4800 proteazė 2 Tris buferis, < 0,05 % EDTA, kalcio chloridas, kalcio acetatas, 8 % (masė / tūris) proteinazė ^b	10 × 1,0 ml	 PAVOJINGA H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. H334: Įkvėpus gali sukelti alerginę reakciją, astmos simptomus arba apsunkinti kvėpavimą. P261: Stengtis neįkvėpti garų arba aerozolio. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P284: Naudoti kvėpavimo takų apsaugos priemonės. P304 + P340: ĮKVĖPUS: išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P342 + P311: Jeigu pasireiškia respiraciniai simptomai: skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. 39450-01-6 Proteinazė, <i>Tritirachium album</i> serinas
	LYS 2 (cobas® 4800 lizės buferinis tirpalas 2) 43 % (masė / masė) guanidino tiocianatas ^b , 5 % (masė / tūris) polidokanolis ^b , 2 % (masė / tūris) ditiotreitolis, natrio citrato dihidratas	10 × 27 ml	 PAVOJINGA H302: Kenksminga prarijus. H314: Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. H411: Toksiška vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus. EUH032: Kontaktuojama su rūgštimis išskiria labai toksiškas dujas. EUH071: Ėsdina kvėpavimo takus. P273: Saugoti, kad nepatektų į aplinką. P280: Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemonės / naudoti klausos apsaugos priemonės. P303 + P361 + P353: PATEKUS ANT ODOS (arba plaukų): nusivilkite visus užterštus drabužius. Nuplaukite odą vandeniu. P304 + P340 + P310: ĮKVĖPUS: išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. P305 + P351 + P338 + P310: PATEKUS Į AKIS: kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. P391: Surinkti ištekęsias medžiagas. 593-84-0 Guanidinio tiocianatas 9002-92-0 Polidokanolis 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diolis

Rinkinys	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 960 tyrimų (P/N: 06979548190)	P 2 cobas® 4800 proteazė 2 Tris buferis, < 0,05 % EDTA, kalcio chloridas, kalcio acetatas, 8 % (masė / tūris) proteinazė ^b	10 × 1,0 ml	 PAVOJINGA H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. H334: Įkvėpus gali sukelti alerginę reakciją, astmos simptomus arba apsunkinti kvėpavimą. P261: Stengtis neįkvėpti garų arba aerozolio. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P284: Naudoti kvėpavimo takų apsaugos priemonės. P304 + P340: ĮKVĖPUS: išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P342 + P311: Jeigu pasireiškia respiraciniai simptomai: skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. 39450-01-6 Proteinazė, <i>Tritirachium album</i> serinas
	LYS 2 (cobas® 4800 lizės buferinis tirpalas 2) 43 % (masė / masė) guanidino tiocianatas ^b , 5 % (masė / tūris) polidokanolis ^b , 2 % (masė / tūris) ditiotreitolis, natrio citrato dihidratas	10 × 84 ml	 PAVOJINGA H302: Kenksminga prarijus. H314: Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. H411: Toksiška vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus. EUH032: Kontaktuojama su rūgštimis išskiria labai toksiškas dujas. EUH071: Ėsdina kvėpavimo takus. P273: Saugoti, kad nepatektų į aplinką. P280: Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemonės / naudoti klausos apsaugos priemonės. P303 + P361 + P353: PATEKUS ANT ODOS (arba plaukų): nusivilkite visus užterštus drabužius. Nuplaukite odą vandeniu. P304 + P340 + P310: ĮKVĖPUS: išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. P305 + P351 + P338 + P310: PATEKUS Į AKIS: kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. P391: Surinkti ištekėjusią medžiagą. 593-84-0 Guanidinio tiocianatas 9002-92-0 Polidokanolis 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diolis

^a Produkto saugos žymėjimas atliekamas vadovaujantis ES GHS gairėmis.^b Pavojinga medžiaga.

Reagentų laikymo ir naudojimo reikalavimai

Reagentai	Laikymo temperatūra	Laikymo laikas
cobas® HBV	2–8 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	2–8 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2–8 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	15–25 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2	2–8 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.
cobas® 4800 System Lysis Kit 2	2–8 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.

neužšaldykite reagentų.

Papildomos reikalingos medžiagos

Medžiagos	P/N
cobas® 4800 sistemos išskyrimo (gilių šulinėlių) plokštelė, 2,0 ml	06884008001
cobas® 4800 sistemos AD (mikrošulinėlių) plokštelė, 0,3 ml	05232724001
Sandarinio plėvelės uždėjimo priemonė	04900383001
CORE antgaliai, 1 000 µl, dėklas su 96 antgaliais	04639642001
200 ml reagentų rezervuaras	05232759001
50 ml reagentų rezervuaras	05232732001
24 vietų laikiklis	04639502001
32 vietų laikiklis	04639529001
Kietųjų atliekų maišas	05530873001 (mažas) arba 04691989001 (didelis)
Hamilton STAR plastikinis nuleistuvus	04639669001
Laboratorinės pirštinės be pudros	Tinka bet kokios vienkartinės pirštinės be pudros.
Sūkurinis maišytuvas (vienam mėgintuvėliui)	Tinka bet koks sūkurinis maišytuvas.
Centrifuga, turinti svyruojančių laikiklių rotorių, min. RCF 1500	Tinka bet kokia atitinkama centrifuga.

Norėdami gauti daugiau informacijos apie atskirai parduodamas medžiagas, kreipkitės į vietinį Roche atstovą.

Būtinai, bet nepateikiami instrumentai ir programinė įranga

Būtinai instrumentai ir programinė įranga, nepateikiami
cobas® 4800 sistema cobas® x 480 instrumentas cobas® z 480 Analizatorius Valdymo įtaisas
cobas® 4800 sistemos programinės įrangos (pagrindinė) 2.2.0 ar naujesnė versija
cobas® 4800 sistemos cobas® HBV AP v1.1.0 arba naujesnė versija

Pastaba: kreipkitės į vietinį Roche atstovą dėl išsamaus užsakymo sąrašo, kuriame nurodytos instrumentuose tinkami naudoti mėginių dėklai, antgalių dėklai, reagentų dėklai ir plokštelių stovai.

Tinkami mėgintuvėliai

Tyrimui tinkami įprastai naudojami pirminiai ir antriniai mėgintuvėliai.

Tinkami šie mėgintuvėliai:

Pirminiai mėgintuvėliai

Nominalus skersmuo (mm)	Įkeliamo mėginio tūris – apdorotas (centrifuguotas) visas kraujas		Mėgintuvėlio priedas	
	400 µl apdorojimo tūris	200 µl apdorojimo tūris	EDTA plazma	Serumas
11–14	1 800 µl arba daugiau	1 000 µl arba daugiau	Su geliu arba be gelio	Su geliu
14,5–16	Daugiau nei 4 000 µl	Daugiau nei 4 000 µl	Su geliu arba be gelio	Su geliu

Užsakymo informacijos apie konkrečius mėginių mėgintuvėlius ir informacijos apie minimalius konkrečių pirminių mėgintuvėlių įkeliamo mėginio tūrius kreipkitės į vietinį Roche atstovą.

Antriniai mėgintuvėliai

Nominalus skersmuo (mm)	Įkeliamo mėginio tūris	
	400 µl apdorojimo tūris	200 µl apdorojimo tūris
11–16	1 000 µl arba daugiau (kai kurių antrinių mėgintuvėlių minimalus įkeliamas tūris yra mažesnis nei 1 000 µl)	750 µl arba daugiau (kai kurių antrinių mėgintuvėlių minimalus įkeliamas tūris yra mažesnis nei 750 µl)

Užsakymo informacijos apie konkrečius mėginių mėgintuvėlius ir informacijos apie minimalius konkrečių antrinių mėgintuvėlių įkeliamo mėginio tūrius kreipkitės į vietinį Roche atstovą.

Atsargumo priemonės ir naudojimo reikalavimai

Perspėjimai ir atsargumo priemonės

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

- Skirta tik *in vitro* diagnostikai.
- **cobas®** HBV tyrimas yra skirtas tik HBV viruso kiekiui kiekybiškai įvertinti. Tyrimas nėra skirtas pradinei klinikinei HBV infekcijos diagnozei nustatyti.
- **cobas®** HBV nėra skirtas naudoti kaip patikros tyrimas HBV aptikti kraujyje arba kraujo produktuose ar kaip diagnostinis tyrimas, kuris patvirtintų HBV infekcijos buvimą.
- Su visais paciento mėginiais reikia elgtis kaip su užkrečiamais, taikant geras laboratorines procedūras, aprašytas dokumente Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories ir CLSI dokumente M29-A4.^{19, 20} Šią procedūrą turi atlikti tik su biologiškai pavojingomis medžiagomis mokantis elgtis ir **cobas®** HBV bei **cobas®** 4800 sistemą mokantis naudoti personalas.
- Visas iš žmogaus išskirtas medžiagas reikia laikyti potencialiai užkrečiamomis, todėl reikia taikyti universalias atsargumo priemones.
- **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 kontrolių rinkinyje yra iš žmogaus kraujo gauta plazma. Pradinė medžiaga buvo ištirta naudojant patvirtintą antikūnų tyrimą ir nustatyta, kad ji nereaguoja į HCV antikūnus, ŽIV-1/2 antikūnus, HBsAg ir HBc antikūnus. Ištyrus pagal PGR metodus, nebuvo rasta aptinkamų ŽIV-1 RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR arba HBV DNR. Nėra žinomų tyrimo metodų, galinčių visiškai užtikrinti, kad produktai, išskirti iš žmogaus kraujo, neperduos infekcijos.
- Saugokite MGP nuo magnetinių laukų šaltinių poveikio.
- **Neužšaldykite pirminiuose mėgintuvėliuose laikomų viso kraujo ar kitų mėginių.**
- Norėdami užtikrinti didžiausią tyrimo efektyvumą, naudokite tik pateikiamus arba nurodytus reikalingus reikmenis.
- Saugos duomenų lapus (SDS) galite gauti iš vietinio Roche atstovo.
- Kad tyrimas būtų atliktas tinkamai, kruopščiai atlikite procedūras ir laikykitės pateiktų rekomendacijų. Bet koks nukrypimas nuo procedūrų ir rekomendacijų gali turėti įtakos optimaliam tyrimo atlikimui.
- Jei naudojant ir apdorojant mėginius nebus imtasi apsaugos priemonių dėl mėginių kryžminio užteršimo, galima gauti klaidingai teigiamus rezultatus.
- Papildomų įspėjimų, atsargumo priemonių ir procedūrų, mažinančių **cobas®** x 480 instrumento arba **cobas®** z 480 analizatoriaus užteršimo riziką, ieškokite **cobas®** 4800 sistemos naudotojo vadove. Jei įtariate užteršimą, išvalykite ir atlikite savaitinius priežiūros darbus, kaip aprašyta **cobas®** 4800 sistemos naudotojo vadove.

Pastaba: *konkrečias instrukcijas žr. „Mėginių rinkimas, transportavimas ir laikymas“.*

Gera laboratorinė praktika

- Nepipetuokite burna.
- Nevalgykite, negerkite ir nerūkykite laboratorijos darbo vietose.
- Baigę dirbti su mėginiais bei rinkinio reagentais ir nusimovę laboratorines pirštines, kruopščiai nusiplaukite rankas.
- Dirbdami su reagentais dėvėkite akinius, vilkėkite specialius laboratorinius drabužius ir mūvėkite laboratorines pirštines. Stenkitės, kad šių medžiagų nepatektų ant odos, į akis ar ant gleivinių. Jei medžiagų vis dėlto pateko, nedelsdami nuplaukite dideliu vandens kiekiu. Jei nesiimsite veiksmų, gali atsirasti nudegimų. Išpylę kurį nors reagentą, prieš išvalydami vietą sausu audiniu, pirmiausia užpilkite ant jos vandens.

- Švariai nuvalykite ir dezinfekuokite visus laboratorijos darbo vietų paviršius, naudodami šviežiai paruoštą 0,5 % natrio hipochlorito tirpalą, sumaišytą su distiliuotu ar dejonizuotu vandeniu (buityje naudojamą baliklį atskiedus santykiu 1:10). Tada nušluostykite paviršių 70 % etanolium.
- Palaikykite laboratorijoje nuolatinę temperatūrą, atitinkančią sistemos aplinkos reikalavimus, nurodytus **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove.

Reagentų naudojimas

- Visus reagentus, kontrolines medžiagas ir mėginius naudokite laikydamiesi geros laboratorinės praktikos, kad išvengtumėte mėginių ar kontrolinių medžiagų pernašos.
- Prieš naudodami vizualiai patikrinkite visus reagentų buteliukus, kad įsitikintumėte, jog nėra išsiliejimo požymių. Jei pastebėjote kokių nors skysčio išsiliejimo žymių, tos medžiagos tyrimams nenaudokite.
- **cobas® 4800** lizės buferinio tirpalo 2 sudėtyje yra potencialiai pavojingos medžiagos guanidino tiocianato. Stenkitės, kad šių reagentų nepatektų ant odos, į akis ar ant gleivinių. Jei medžiagų vis dėlto pateko, nedelsdami nuplaukite dideliu vandens kiekiu, nes to nepadarius gali atsirasti nudegimų.
- **cobas® HBV**, **cobas® 4800** mėginių paruošimo rinkinio 2 ir **cobas® 4800** sistemos mėginio 2 skiediklio sudėtyje yra konservanto natrio azido. Stenkitės, kad šių reagentų nepatektų ant odos, į akis ar ant gleivinių. Jei medžiagų vis dėlto pateko, nedelsdami nuplaukite dideliu vandens kiekiu, nes to nepadarius gali atsirasti nudegimų. Išpylę kurį nors reagentą, prieš valydami sausu audiniu, pirmiausia praskieskite išsipylusį reagentą.
- Saugokitės, kad **cobas® 4800** lizės buferinis tirpalas 2, kuriame yra guanidino tiocianato, neturėtų sąlyčio su natrio hipochlorito (baliklio) tirpalu. Toks mišinys gali išskirti labai nuodingas dujas.

Užteršimas

- Mūvėkite laboratorines pirštines ir jas keiskite tarp mėginių ir **cobas® HBV** reagentų apdorojimų, kad išvengtumėte užkrėtimo. Venkite pirštinių užteršimo, dirbdami su mėginiais ir kontrolinėmis medžiagomis. Dirbdami su mėginiais ir reagentų rinkiniais, mūvėkite laboratorines pirštines, apsirenkite laboratoriniais drabužiais ir užsidėkite akių apsaugas.
- Neužterškite reagentų mikrobais ir ribonukleazėmis.
- Jei ruošiant mėginius nebus užtikrinta, kad mėginiai neužters vieni kitų, galima gauti klaidingai teigiamus rezultatus.

Sąžiningumo principai

- Nenaudokite rinkinių, jei baigėsi jų galiojimo laikas.
- Nepilkite kelių reagentų į tą pačią talpą.
- Nenaudokite vienkartinį priemonių, jei baigėsi jų galiojimo laikas.
- Visos vienkartinės priemonės skirtos naudoti tik vieną kartą. Nenaudokite pakartotinai.
- Visa įranga turi būti naudojama pagal gamintojo instrukcijas.

Atliekų šalinimas

- **cobas® HBV**, **cobas® 4800** System Sample Preparation Kit 2 ir **cobas® 4800** System Specimen Diluent 2 sudėtyje yra konservanto natrio azido (žr. „**Perspėjimai ir atsargumo priemonės**“). Natrio azidas gali reaguoti su vandentiekio švino ir vario įranga ir sudaryti labai sprogus metalo azidų junginius. Į laboratorijoje esančias kriaukles išpildami tirpalus, kuriuose yra natrio azido, paleiskite stiprią šalto vandens srovę, kad nesusidarytų azidų sancaupų.

- Nepanaudotų reagentų ir jų atliekų šalinimas turi būti atliekamas atsižvelgiant į šalies, federalinius, valstijos ir vietinius reikalavimus.

Pastaba: informaciją apie skystų atliekų šalinimą žr. atitinkamame cobas® 4800 sistemos naudotojo vadove.

Išliejimas ir valymas

- **cobas® 4800** lizės buferinio tirpalo 2 sudėtyje yra guanidino tiocianato. Išlietą guanidino tiocianato turintį skystį valykite tinkamu laboratoriniu valomuoju tirpalu ir vandeniu. Jei išlietas skystis turi potencialiai užkrėstų medžiagų, vietą PIRMIAUSIA nuvalykite laboratoriniu valomuoju tirpalu ir vandeniu, tada 0,5 % natrio hipochlorito tirpalu.
- Jei skystis išliejamas ant **cobas® x 480** instrumento, nuvalykite vykdydami **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove pateiktus nurodymus.
- **cobas® x 480** instrumentui arba **cobas® z 480** analizatoriui valyti nenaudokite natrio hipochlorito tirpalo (baliklio). **cobas® x 480** instrumentą arba **cobas® z 480** analizatorių valykite laikydamiesi procedūrų, aprašytų **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove.

Mėginių ėmimas, transportavimas ir laikymas

Pastaba: visus mėginius apdorokite taip, lyg jie galėtų perduoti infekciją.

Visus mėginius laikykite nurodytoje temperatūroje.

Aukšta temperatūra turi įtakos mėginių stabilumui.

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

Mėginio paėmimas

Kraujo mėginiai turi būti surenkami SST™ serumo atskyrimo mėgintuvėliuose, BD Vacutainer® PPT™ plazmos paruošimo mėgintuvėliuose, skirtuose molekulinės diagnostikos tyrimo metodams, arba steriliuose mėgintuvėliuose naudojant EDTA kaip antikoagulantą.

Pastaba: naudotojas privalo laikytis mėgintuvėlių gamintojo pateiktų serumo / plazmos paruošimo rekomendacijų.

Mėginių transportavimas, laikymas ir stabilumas

- Pilną kraują, surinktą SST™ serumo atskyrimo mėgintuvėliuose, BD Vacutainer® PPT™ plazmos paruošimo mėgintuvėliuose, skirtuose molekulinės diagnostikos tyrimo metodams, arba steriliuose mėgintuvėliuose, naudojant EDTA kaip antikoagulantą, prieš paruošiant plazmą / serumą ir atliekant tolesnius tyrimus galima laikyti ir (arba) transportuoti 2–25 °C temperatūroje ne ilgiau nei 24 valandas.
- Atskirtos plazmos ir (arba) serumo mėginius galima laikyti antriniuose mėgintuvėliuose iki 24 valandų 2–30 °C temperatūroje, iki 72 valandų 2–8 °C temperatūroje arba iki 6 savaičių ≤ –18 °C temperatūroje. Atskirtos plazmos ir (arba) serumo mėginiai, laikomi ≤ –18 °C temperatūroje, antriniuose mėgintuvėliuose yra stabilūs iki trijų užšaldymo / atšildymo ciklų.
- Jei mėginiai bus gabenami, juos reikia supakuoti ir sužymėti pagal taikomas šalies ir (arba) tarptautines mėginių ir etiologinių medžiagų transportavimo taisykles.

Naudojimo instrukcijos

Tyrimo atlikimas

Apdorojamas mėginio tūris

Numatytasis **cobas®** HBV apdorojamas mėginio tūris yra 400 µl. Apdorojant mažo tūrio mėginius, galima pasirinkti 200 µl tūrį. Tokiu atveju į sistemą reikia įdėti papildomą **cobas®** 4800 sistemos mėginio skiediklio 2 reagentą. Jeigu kuriant darbo eigą buvo pasirinktas mėginio tipas „Diluted Serum or Plasma“ (Atskiesta plazma arba serumas), naudotojui tai atlikti nurodys programinės įrangos vedlys.

1 pav. cobas® HBV darbo eiga

1	Paleiskite sistemą
2	Atlikite instrumento priežiūros darbus
3	Išimkite mėginius ir reagentus iš jų laikymo vietos
4	Paleiskite tyrimą
5	Nuskaitykite parametrų korteles
6	Įkelkite mėginius
7	Naudojant LIS: patvirtinkite darbo eigą Nenaudojant LIS: sukurkite darbo eigą
8	Įkelkite reikmenis (gilių šulinėlių plokštelę, mikrošulinėlių plokštelę, antgalių dėklus)
9	Įkelkite reagentus
10	Pradėkite mėginio paruošimą
11	Išimkite ir sandariai uždenkite mikrošulinėlių plokštelę
12	Įkelkite mikrošulinėlių plokštelę į analizatorių
13	Išimkite mėginius, panaudotus reagentus ir gilių šulinėlių plokštelę
14	Peržiūrėkite rezultatus
15	Jei naudojama LIS, išsiųskite rezultatus į LIS
16	Išimkite mikrošulinėlių plokštelę iš analizatoriaus

Pastaba: išsamios valdymo instrukcijos pateikiamos **cobas®** 4800 sistemos naudotojui skirtoje pagalbinėje medžiagoje.

Tyrimo apimtis

Galima įsigyti dviejų dydžių bendrus mėginių paruošimo reagentus (**cobas®** 4800 System Sample Preparation Kit 2, **cobas®** 4800 System Lysis Kit 2 ir **cobas®** 4800 System Wash Buffer Kit), kurių pakanka 10 tyrimų po 24 arba 96 mėginių, įskaitant kontroles ir mėginius, atlikti. Galima įsigyti vieno dydžio **cobas®** HBV rinkinį, kurio pakanka iki 120 (10 × 12) mėginių, įskaitant kontroles ir mėginius, ištirti. **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 kontrolinis rinkinys yra vieno dydžio ir gali būti naudojamas visų konfigūracijų tyrimams. Kiekvieno tyrimo metu naudojama viena HBV/HCV/HIV-1 silpnai teigiama kontrolė, viena HBV/HCV/HIV-1 stipriai teigiama kontrolė ir viena neigiama kontrolė. Vieno tyrimo vykdymo metu daugiausiai galima ištirti 93 mėginius ir 3 kontroles.

Procedūra apibendrinama 1 pav.

Pastaba: *siekiant optimaliai naudoti reagentus, bendruosius mėginių paruošimo reagentus galima naudoti tiriant 1–21 mėginį (10 × 24 dydžio tyrimo rinkinyje) arba tiriant 1–93 mėginius (10 × 96 dydžio tyrimo rinkinyje). Kartu naudoti skirtingų dydžių cobas® 4800 sistemos plovimo buferinio tirpalo rinkinio, cobas® 4800 sistemos mėginių paruošimo rinkinio 2 ir cobas® 4800 sistemos lizės rinkinio 2 negalima. Pavyzdžiui, jeigu tyrimo pradžioje nuskaitomas 96 tyrimų plovimo buferinio tirpalo reagento butelis, būtina naudoti 96 tyrimų rinkinio dydžio reagentus iš kitų mėginio paruošimo reagentų rinkinių.*

Darbo eiga

cobas® HBV vykdomas naudojant pilną **cobas® 4800** programinės įrangos darbo eigą. Ją sudaro mėginių paruošimas **cobas® x 480** instrumentu ir tolimesnė amplifikacija / aptikimas naudojant **cobas® z 480** analizatorių. **cobas® HBV** tyrimo negalima atlikti mišriuoju būdu su kitais tyrimais. Išsamią informaciją žr. **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove.

1. Atlikite sistemos paleidimo procedūras, kaip nurodyta **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove.
2. Atlikite priežiūros veiksmus, vykdydami **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadovo nurodymus.
3. Surinkite visus reikalingus reagentus ir priemones. Visi reagentai, išskyrus HBV MMX R2 ir MMX R1, prieš įdedant į **cobas® x 480** instrumentą, turi būti kambario temperatūros. HBV MMX R2 ir MMX R1 reagentus galima paimti tiesiai iš 2–8 °C temperatūros laikymo vietos, nes, kol bus naudojami, jie sušils iki kambario temperatūros **cobas® x 480** instrumente.

Pastaba: *visi reagentai ir reagentų talpos yra pažymėti brūkšniniais kodais ir skirti naudoti vieną kartą. cobas® 4800 programinė įranga seka reagentų ir reagentų talpų naudojimą ir atmeta anksčiau naudotus reagentus arba reagentų talpas.*

4. Pradėkite naują tyrimą ir pasirinkite darbo eigos tipą HBV.
5. Vykdykite programinės įrangos vedlio nurodymus ir nuskaitykite kontrolinių intervalų bei kalibravimo koeficientų parametrų kortelių brūkšninius kodus.

Pastaba: *nuskaitykite reagentų, kurių galiojimo laikas nepasibaigęs, parametrų korteles. Programinė įranga parametrų kortelėse netikrina reagento galiojimo pabaigos datos. Prieš nuskaitydami atitinkamą brūkšninio kodo ID, patikrinkite parametrų kortelėje arba ant reagentų rinkinio nurodytą galiojimo pabaigos datą.*

6. Įkelkite mėginius. Galima įkelti tiek pirminius, tiek antrinius mėginių mėgintuvėlius, o mažiausias mėginio tūris priklauso nuo mėgintuvėlio tipo ir dydžio. Išsamesnę informaciją rasite skyriuje „Tinkami mėgintuvėliai“.
7. Sukurkite darbo eigą. Yra trys būdai sukurti darbo eigą:
 - Naudojant mėginių redaktorių, prieš įkeliant mėginių stovą į **cobas® x 480** instrumentą (mygtukas „Editor“ (Redaktorius) pagrindinio meniu dešinėje). Darbo eigas, jei reikia, galima išsaugoti, redaguoti ir įkelti iš naujo. Pasirinkdami norimus rezultatus, pasirinkite „HBV“.
 - Vykdam programinės įrangos vedlio nurodymus, atliekant naują tyrimą ir įkeliant mėginius į **cobas® x 480** instrumentą. Mėginio brūkšniniai kodai bus automatiškai nuskaityti ir kiekvienam mėginiui turėsite nurodyti norimą rezultatą. Pasirinkdami norimus rezultatus, pasirinkite „HBV“.
 - Naudojant įstaigos LIS sistemą.

Daugiau išsamios informacijos žr. **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove. Pasirinkdami norimus rezultatus, pažymėkite „HBV“. Įkelkite mėginius ir atitinkamai nustatykite / pasirinkite darbo eigą arba naudokite LIS.

8. Įkelkite priemones, kaip nurodo programinės įrangos vediklis. Nedėkite atskirų antgalių į dalinai išnaudotą antgalių stovą ir neišimkite jų, nes programinė įranga seka likusių antgalių skaičių. Jeigu pasirinktam tyrimui antgalių nepakanka, programinė įranga įspės vartotoją.

9. Įkelkite reagentus.

Perkelkite mėginių paruošimo reagentus į brūkšniniais kodais pažymėtas talpas. Reagentų talpos yra dviejų dydžių: 200 ml ir 50 ml. Sekite programinės įrangos vediklio nurodymus tinkamų reagentų talpų pasirinkimui. Reagentų talpų brūkšniniai kodai turi būti nukreipti į dešinę stovo pusę. Mėginių paruošimo reagentus įdėkite naudodami metodą „nuskaityti-nuskaityti-įpilti-įdėti“:

- Nuskaitykite reagento buteliuko brūkšninį kodą
- Nuskaitykite reagento talpos brūkšninį kodą
- Perpilkite reagentą į talpą
- Įkelkite pripildytą reagento talpą į jam skirtą vietą reagentų stove

Pastaba: *cobas® 4800 sistema turi vidinį laikrodį reagentų buvimo prietaiso viduje trukmei stebėti. Nuskaičius LYS 2 arba WB, leidžiama užtrukti 1 valandą, kol bus užbaigtas įdėjimo procesas ir nuspaustas mygtukas „Start“. Skirtuke „Workplace“ rodomas atvirkštinio skaičiavimo laikmatis. Sistema neleis pradėti tyrimo, jei pasibaigs leistinas buvimo prietaiso viduje laikas.*

Pastaba: *norėdami užtikrinti tikslų MGP perkėlimą, iš karto prieš pildami į reagento talpą supurtykite arba smarkiai supurtykite MGP buteliuką.*

10. Įdėkite amplifikavimo / aptikimo reagentų mėgintuvėlius (HBV MMX R2, MMX R1 ir DNA QS), kontrolių mėgintuvėlius [HBV/HCV/HIV-1 L(+)C, HBV/HCV/HIV-1 H(+)C ir (–) C] ir bendrų reagentų mėgintuvėlius (P2 ir SD2, jei reikia) tiesiai į reagentų stovą.

Pastaba: *siekiant išvengti nepageidaujamo tyrimo nutraukimo bei užteršimo, reagentų mėgintuvėlius reikia lengvai suduoti pirštu, kad nesusidarytų burbuliukai / plėvelė ant skysčio. Kontrolės turėtų būti atsukamos pradedant nuo artimiausių (nuo 24 iki 1 padėties). Atidarius teigiamas kontroles, pakeiskite laboratorines pirštines.*

11. Pradėkite mėginio paruošimą. Sėkmingai paruošus mėginius, sistema leidžia naudoti mygtukus „Sample Preparation results“ (Mėginių paruošimo rezultatai) ir „Unload“ (Išimti). Jei norite peržiūrėti rezultatus, pasirinkite mygtuką „Sample Preparation results“, tada – „Unload“, kad išimtumėte plokštelių stovą. Arba pasirinkite „Unload“, kad išimtumėte plokštelių stovą neperžiūrėję rezultatų. Žr. **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadovą.
12. Išėmę mikrošulinėlių plokštelę, sekite **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove pateiktas plokštelės sandarinimo ir perkėlimo į **cobas® z 480** analizatorių instrukcijas.
13. Įkelkite mikrošulinėlių plokštelę į analizatorių ir pradėkite amplifikacijos ir aptikimo vykdymą, kaip nurodyta **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove.

Pastaba: *cobas® 4800 sistema turi vidinį laikrodį stebėjimui, kiek laiko praėjo po paruoštų mėginių pridėjimo į suaktyvintą pagrindinį reakcijos mišinį. Amplifikacija ir aptikimas turi būti pradėti kiek įmanoma greičiau, bet ne vėliau nei per 40 minučių užbaigus tyrimą, atliktą cobas® x 480 instrumentu. Skirtuke „Workplace“ rodomas atvirkštinio skaičiavimo laikmatis. Sistema nutrauks tyrimą, jei pasibaigs leistinas laikas.*

14. Išimkite mėginius, panaudotus reagentus ir gilių šulinėlių plokštelę, kaip nurodyta **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove.
15. Baigę amplifikacijos ir aptikimo vykdymą, sekite **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove pateiktas rezultatų peržiūros ir patvirtinimo instrukcijas.
16. Jei naudojama LIS, išsiųskite rezultatus į LIS.
17. Vykdykite **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove pateiktas mikrošulinėlių plokštelės išėmimo iš **cobas® z 480** analizatoriaus instrukcijas.

Rezultatai

cobas® 4800 sistema automatiškai nustato HBV DNR koncentraciją mėginiuose ir kontrolėse. HBV DNR koncentracija pateikiama tarptautiniais vienetais mililitre (TV/ml).

Kokybės kontrolė ir rezultatų patikimumas

- Kiekvienoje partijoje apdorojama viena neigiama kontrolė (–) C ir dvi teigiamos kontrolės: silpnai teigiama kontrolė HBV/HCV/HIV-1 L(+)C ir stipriai teigiama kontrolė HBV/HCV/HIV-1 H(+)C.
- Partijos rezultatų patikimumą patikrinkite naudodami cobas® 4800 programinę įrangą ir (arba) ataskaitoje.
- cobas® 4800 programinė įranga rezultatų nepatikimumą automatiškai nustato pagal neigiamų ir teigiamų kontrolių klaidas.

Kontrolių rezultatų aiškinimas

1 lentelė. Neigiamos ir teigiamos kontrolių rezultatų aiškinimas

Neigiamos kontrolinės medžiagos	Rezultatas	Aiškinimas
(–) C	Target Not Detected	Kontrolės rezultatas patikimas. HBV DNR neaptiktas.
	Invalid	Nevertinamas rezultatas arba neigiamos kontrolės suskaičiuotas titro rezultatas nėra neigiamas.
Teigiamos kontrolinės medžiagos	Rezultatas	Aiškinimas
HBV/HCV/HIV-1 L(+)C	Titer	Kontrolės rezultatas patikimas. Suskaičiuotas titras patenka į kontrolės intervalą.
	Invalid	Nevertinamas rezultatas arba silpnai teigiamos kontrolės apskaičiuotas titro rezultatas yra už priskirtos skalės ribų.
HBV/HCV/HIV-1 H(+)C	Titer	Kontrolės rezultatas patikimas. Suskaičiuotas titras patenka į kontrolės intervalą.
	Invalid	Rezultatas nevertinamas vertinti arba stipriai teigiamos kontrolės apskaičiuotas titro rezultatas yra už priskirtos skalės ribų.

Rezultatų aiškinimas

Pastaba: visus tyrimų ir partijų patvirtinimus nustato cobas® 4800 programinė įranga.

Pastaba: vertinamą partiją gali sudaryti ir vertinami, ir nevertinami mėginių rezultatai.

Patvirtintos partijos mėginių rezultatai aiškinami, kaip parodyta 2 lentelėje.

2 lentelė. Taikinio rezultatai ir atskirų taikinio rezultatų aiškinimas

cobas® HBV	Rezultatų ataskaita ir aiškinimas
Target Not Detected	HBV DNR neaptiktas. Rezultatai pranešami taip: „HBV not detected“.
< Titer Min	Apskaičiuota titro reikšmė mažesnė nei tyrimo apatinė kiekybinė riba (LLOQ). Rezultatai pranešami taip: „HBV detected, less than (Titer Min)“. Min. titras = 1,00E+01 TV/ml (400 µl ir 200 µl)
Titer	Suskaičiuotas titras patenka į tyrimo linijinį intervalą – didesnis už min. titrą arba jam lygus ir mažesnis už maks. titrą arba jam lygus. Rezultatai pranešami taip: „(Titer) of HBV detected“.
> Titer Max ^a	Apskaičiuota titro reikšmė didesnė nei tyrimo viršutinė kiekybinė riba (ULOQ). Rezultatai pranešami taip: „HBV detected, greater than (Titer Max)“. Maks. titras = 1,00E+09 TV/ml (400 µl ir 200 µl)

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

Rezultatų žymų sąrašas

Toliau lentelėje išvardytos visos žymos, reikšmingos interpretuojant rezultatus.

3 lentelė. Žymų sąrašas

Žymos kodas	Aprašas	Rekomenduojamas veiksmas
R4800	Taikinio rezultatas yra nevertinamas dėl rezultato apskaičiavimo trikdžių.	Taikinio rezultatas yra nevertinamas dėl rezultato apskaičiavimo trikdžių. 1. Ištyrinkite mėginį dar kartą. 2. Jei problema išlieka, kreipkitės į Roche aptarnavimo padalinį.
R4801	Nevertinamas kiekybinio standarto rezultatas.	Nevertinamas mėginio kiekybinio standarto rezultatas. 1. Ištyrinkite mėginį dar kartą. 2. Jei problema išlieka, kreipkitės į Roche aptarnavimo padalinį.
R4802	Nevertinamas išorinės kontrolės rezultatas.	Nevertinamas išorinės kontrolės rezultatas. ^a 1. Pakartokite visą tyrimą naudodami naujus reagentus. 2. Jei problema išlieka, kreipkitės į Roche aptarnavimo padalinį.
R4803	Nevertinamas kiekybinio standarto rezultatas.	Nevertinamas išorinės kontrolės kiekybinio standarto rezultatas. 1. Pakartokite visą tyrimą naudodami naujus reagentus. 2. Jei problema išlieka, kreipkitės į Roche aptarnavimo padalinį.
R4804	Išorinės kontrolės rezultatas išeina už intervalo ribų.	Išorinė kontrolė nepatenka į diapazoną. ^b 1. Pakartokite visą tyrimą naudodami naujus reagentus. 2. Jei problema išlieka, kreipkitės į Roche aptarnavimo padalinį.
X3	Klaida: aptiktas krešulys, mėginys nebuvo apdorotas.	Įsitikinkite, kad mėginiai buvo apdoroti pagal naudojimo instrukciją. 1. Patikrinkite, ar mėginyje nėra gumulėlių. 2. Ištyrinkite mėginį dar kartą.
X4	Klaida: įvyko pipetavimo klaida. Mėginys nebuvo apdorotas.	Labiausiai tikėtina priežastis – nepakankamas mėginio tūris arba mechaninis pipetavimo sutrikimas. 1. Įsitikinkite, kad mėginio tūris yra pakankamas. 2. Patikrinkite, ar plokštelė antgalių išmetimo pozicijoje yra tinkamai įstatyta. 3. Ištyrinkite mėginį dar kartą.

^a Tai mėginio žyma, rodoma, kai išorinė kontrolė turi nevertinamą rezultatą (dėl taikinio aptikimo arba titro).

^b Ši žyma apima visus scenarijus, kai išorinė kontrolė yra nevertinama (tikslinė analizė arba titras).

Pastaba: visas sistemos žymas žr. cobas® 4800 sistemos naudotojo vadove.

Procedūros apribojimai

1. **cobas®** HBV buvo įvertintas tik naudojant kartu su **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 kontrolių rinkiniu, **cobas®** 4800 sistemos mėginių paruošimo rinkiniu 2, **cobas®** 4800 sistemos lizės rinkiniu 2, **cobas®** 4800 sistemos plovimo buferinio tirpalo rinkiniu ir **cobas®** 4800 sistemos mėginio skiedikliu 2.
2. Norėdami gauti patikimus rezultatus, mėginius rinkite, transportuokite, laikykite ir apdorokite tinkamai. Vykdykite šiame naudojimo instrukcijų dokumente (taip pat vadinamas Pakuotės lapeliu) ir **cobas®** 4800 sistemos naudotojo vadove aprašytas procedūras.
3. Šis tyrimas buvo patvirtintas naudoti tik su EDTA plazma ir serumu. Kitų tipų mėginių tyrimo rezultatai gali būti netikslūs.
4. HBV DNR kiekybinis įvertinimas priklauso nuo viruso dalelių kiekio mėginyje. Jam įtakos gali turėti mėginio paėmimo būdas, su pacientu susiję veiksniai (t. y. amžius, įvairūs simptomai) ir (arba) infekcijos stadija.
5. Retais atvejais mutacijos konservatyviuose virusinio genomo regionuose, kuriuos tiria **cobas®** HBV, gali paveikti pradmenų ir (arba) sondų prisijungimą, todėl kiekybinis viruso įvertinimas gali būti žemesnis nei yra arba virusas gali būti nenustatomas.
6. Tyrimo prognozė priklauso nuo ligos paplitimo konkrečioje populiacijoje.
7. AmpErase fermento pridėjimas į **cobas®** HBV pagrindinį reakcijos mišinį įgalina selektyvią taikinio nukleorūgščių amplifikaciją. Vis dėlto, siekiant neužteršti reagentų ir amplifikavimo mišinių būtina taikyti geros laboratorijos praktikas ir kruopščiai laikytis šiame naudojimo instrukcijų dokumente pateiktų instrukcijų.
8. Šį produktą gali naudoti tik dirbti su PGR technologijomis ir **cobas®** 4800 sistema išmokytas personalas.
9. Šio produkto naudojimas patvirtintas tik su **cobas®** x 480 instrumentu ir **cobas®** z 480 analizatoriumi. Joks kitas mėginių paruošimo instrumentas ar PGR sistema negali būti naudojama su šiuo produktu.
10. Dėl technologijoms būdingų skirtumų naudotojams rekomenduojama prieš pakeičiant vieną technologiją kita savo laboratorijose atlikti metodų koreliacinę analizę, kad būtų įvertinti technologijų skirtumai. Naudotojai turėtų laikytis savo pačių nustatytų specifinių nurodymų/procedūrų.
11. Dėl kryžminio užteršimo galima gauti klaidingus teigiamus rezultatus. Neklinikinio įvertinimo metu nustatytas **cobas®** HBV kryžminio užteršimo iš mėginio į mėginį dažnis yra 0,0 %, o vienpusis 95 % pasikliautinis intervalas – 1,3 %. Kryžminis užteršimas nuo vieno tyrimo kitam nebuvo pastebėtas.
12. **cobas®** HBV nėra skirtas naudoti kaip patikros tyrimas HBV aptikti kraujyje arba kraujo produktuose ar kaip diagnostinis tyrimas, kuris patvirtintų HBV infekcijos buvimą.

Neklinikinis efektyvumo įvertinimas

Pagrindinės tyrimo savybės

Aptikimo riba (LoD)

PSO tarptautinis standartas

cobas® HBV aptikimo riba buvo nustatyta analizuojant PSO tarptautinio standarto, skirto HBV DNR nukleorūgščių amplifikacijos technologijos tyrimams (2-asis PSO tarptautinis standartas), A genotipo, gauto iš NIBSC HBV neigiamoje žmogaus plazmoje su EDTA arba serume, serijinius skiedimus, naudojant 400 µl ir 200 µl apdorojamo tūrio mėginius. Mėginių grupės, kurias sudarė šešių skirtingų koncentracijų skiedimai ir neigiamas mėginys, buvo tiriamos naudojant tris **cobas®** HBV reagentų partijas, atliekant kartotinius tyrimus, skirtingomis dienomis, tyrimą atliekant skirtingiems operatoriams ir su skirtingais instrumentais.

Plazmos su EDTA ir serumo tyrimo rezultatai iš abiejų mėginio apdorojimo tūrių pateikti 4 lentelėje ir 7 lentelėje. Tyrimo rezultatai rodo, kad **cobas®** HBV tiriant 400 µl apdorojamo tūrio mėginį aptiko HBV DNR, kai plazmoje su EDTA RNR koncentracija buvo 4,4 TV/ml, o serume – 2,8 TV/ml, o sutapimo dažnis taikant PROBIT siekė ≥ 95 %; tiriant 200 µl apdorojamo tūrio mėginį RNT buvo aptikta, kai plazmoje su EDTA koncentracija buvo 7,6 TV/ml, o serume – 5,5 TV/ml, sutapimo dažnis taikant PROBIT – ≥ 95 %.

4 lentelė. Aptikimo riba EDTA plazmoje (400 µl)

Įvedama titro koncentracija (HBV DNR TV/ml)	Tinkamus vertinti rezultatus turinčių pakartojimų skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koeficientas
25,0	126	126	100,0 %
15,0	126	126	100,0 %
10,0	126	126	100,0 %
5,0	126	122	96,8 %
2,0	125	94	75,2 %
0,5	126	38	30,2 %
0,0	36	0	0,0 %
LoD pagal PROBIT esant 95 % atitikimo koef.			
4,4 TV/ml 95 % patikimumo intervalas: 3,6–5,7 TV/ml			

5 lentelė. Aptikimo riba serume (400 µl)

Įvedama titro koncentracija (HBV DNR TV/ml)	Tinkamus vertinti rezultatus turinčių pakartojimų skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koeficientas
25,0	125	125	100,0 %
15,0	126	126	100,0 %
10,0	126	126	100,0 %
5,0	126	126	100,0 %
2,0	126	109	86,5 %
0,5	126	54	42,9 %
0,0	36	0	0,0 %
LoD pagal PROBIT esant 95 % atitikimo koef.			
2,8 TV/ml 95 % patikimumo intervalas: 2,3–3,8 TV/ml			

6 lentelė. Aptikimo riba EDTA plazmoje (200 µl)

Ivedama titro koncentracija (HBV DNR TV/ml)	Tinkamus vertinti rezultatus turinčių pakartojimų skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koeficientas
25,0	126	126	100,0 %
15,0	126	125	99,2 %
10,0	126	125	99,2 %
5,0	126	109	86,5 %
2,0	126	71	56,4 %
0,5	126	18	14,3 %
0,0	36	0	0,0 %
LoD pagal PROBIT esant 95 % atitikimo koef.	7,6 TV/ml 95 % patikimumo intervalas: 6,3-9,6 TV/ml		

7 lentelė. Aptikimo riba serume (200 µl)

Ivedama titro koncentracija (HBV DNR TV/ml)	Tinkamus vertinti rezultatus turinčių pakartojimų skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koeficientas
25,0	126	126	100,0 %
15,0	126	126	100,0 %
10,0	126	126	100,0 %
5,0	126	115	91,3 %
2,0	126	90	71,4 %
0,5	126	26	20,6 %
0,0	36	0	0,0 %
LoD pagal PROBIT esant 95 % atitikimo koef.	5,5 TV/ml 95 % patikimumo intervalas: 4,5–7,0 TV/ml		

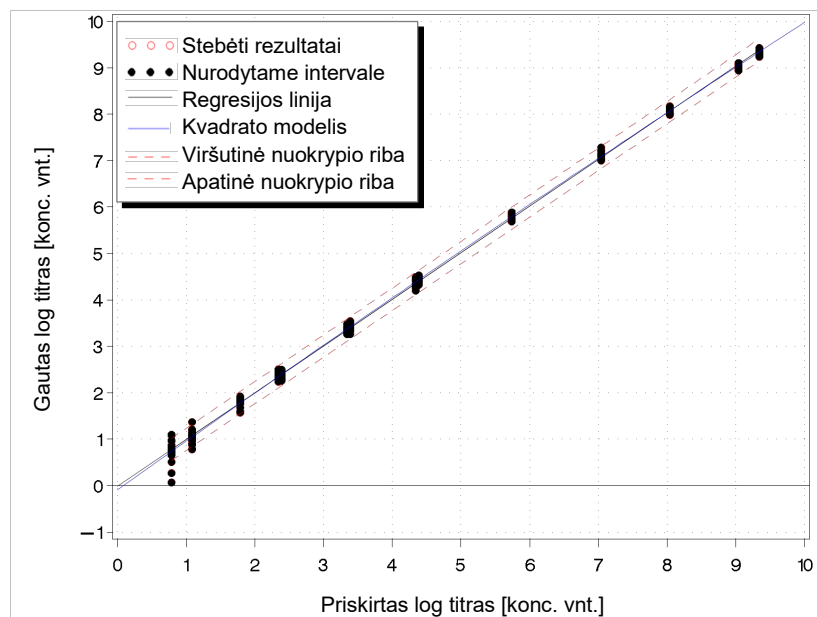
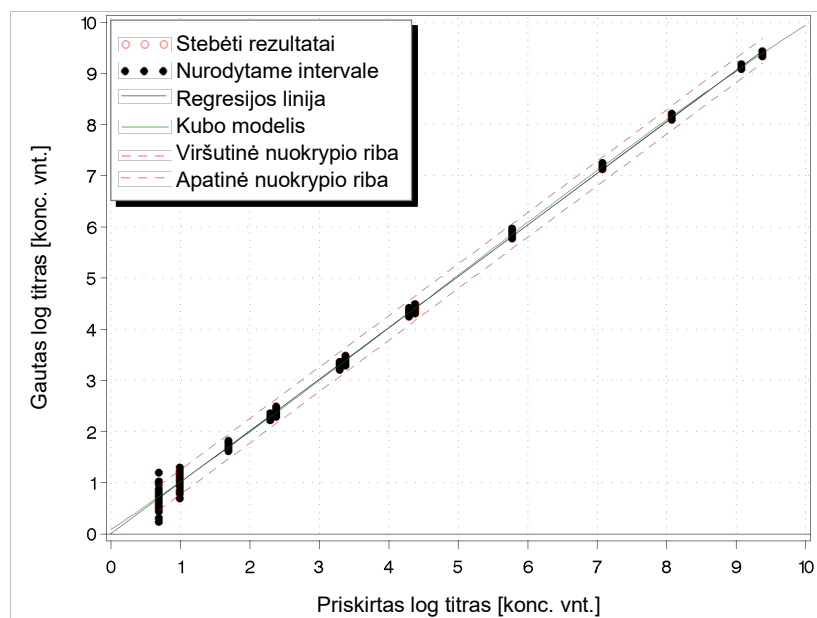
Linijinis intervalas

cobas® HBV tiesiškumas buvo nustatytas tiriant viso intervalo ribose paruoštas 14 rinkinio mėginių skiedinių serijas, kuriuose buvo dominuojančio genotipo (GT A) HBV. Didelio titro rinkinio elementai buvo ruošiami iš didelio titro lambda DNR koncentrato, o mažesnio titro mėginiai buvo ruošiami iš didelio titro klinikinio mėginio (CS). Tiesiškumui tirti rinkinys buvo sudarytas taip, kad iš dviejų šaltinių gautų mėginių titrai persidengtų maždaug 2 log₁₀.

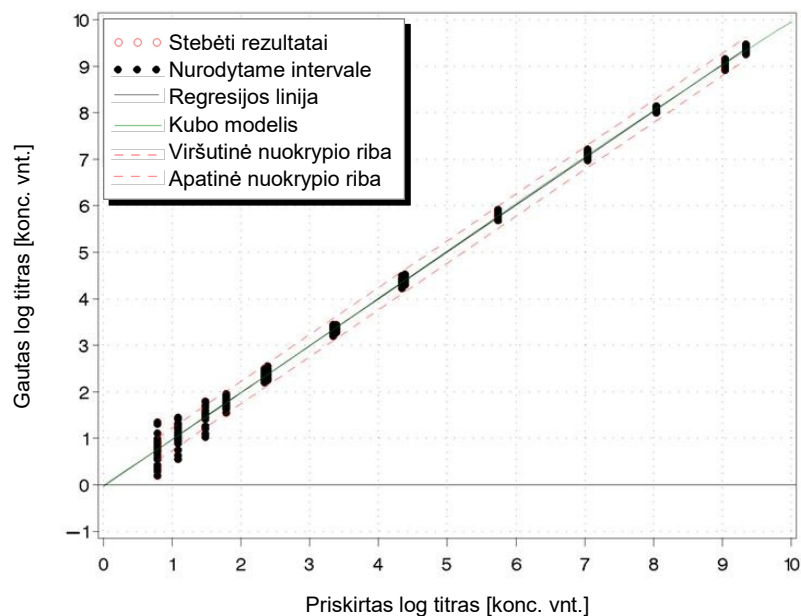
Apdorojant 400 µl mėginio tūrio, **cobas® HBV** plazmos su EDTA ir serumo tyrimų rezultatai buvo tiesiniai nuo 10,0 TV/ml iki 1,0E+09 TV/ml, o didžiausias nuokrypis nuo geriau tinkančios netiesinės regresijos buvo mažesnis arba lygus ±0,06 log₁₀. Linijiniame intervale tyrimo tikslumas buvo ±0,08 log₁₀ tiriant plazmą su EDTA ir ±0,12 log₁₀ tiriant serumą.

Apdorojant 200 µl mėginio tūrio, **cobas® HBV** plazmos su EDTA ir serumo tyrimų rezultatai buvo tiesiniai nuo 10,0 TV/ml iki 1,0E+09 TV/ml, o didžiausias nuokrypis nuo geriau tinkančios netiesinės regresijos buvo mažesnis arba lygus ±0,05 log₁₀. Linijiniame intervale tyrimo tikslumas buvo ±0,08 log₁₀ tiriant plazmą su EDTA ir ±0,16 log₁₀ tiriant serumą.

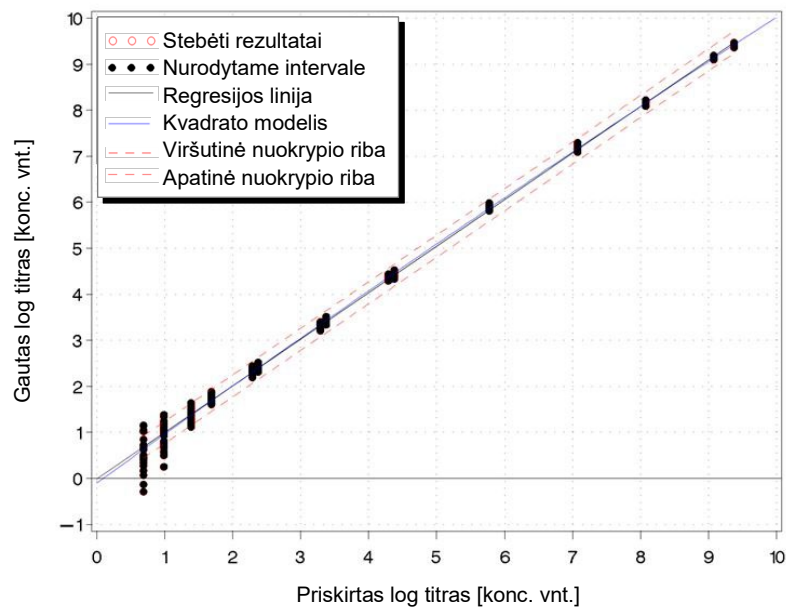
Atitinkami rezultatai pateikti 2 pav. – 5 pav.

2 pav. Linijiskumas plazmoje su EDTA (400 µl)**3 pav.** Linijiskumas serume (400 µl)

4 pav. Linijinis kumas plazmoje su EDTA (200 µl)



5 pav. Linijinis kumas serume (200 µl)



Glaudumas (laboratoriniai duomenys)

cobas® HBV glaudumas buvo nustatytas tiriant klinikinio HBV genotipo (GT A) mėginių (CS) ir didelio titro lambda DNR koncentracijos HBV (lambda DNR) HBV neigiamoje plazmoje su EDTA ir serume serijinius skiedinius. Naudodami tris **cobas® HBV** tyrimo reagentų partijas trys operatoriai trimis prietaisais per 12 dienų atliko septynių lygių skiedimų tyrimus, kiekvienam lygiui, terpei ir mėginio apdorojimo tūriui ištyrė po 72 pakartotinius mėginius. Kiekvienas mėginys buvo tiriamas laikantis visų **cobas® HBV** tyrimo procedūrų, naudojant **cobas® 4800** sistemą. Todėl čia pateikiami tikslumo duomenys atspindi visus tyrimo procedūros aspektus. Rezultatai pateikti 8 lentelėje – 11 lentelėje.

cobas® HBV pasižymėjo dideliu glaudumu naudojant tris reagentų partijas tiriant 200 µl ir 400 µl mėginio apdorojamus tūrius koncentracijose nuo $2,5 \times 10^1$ TV/ml iki $1,0 \times 10^9$ TV/ml.

8 lentelė. cobas® HBV glaudumas laboratorijoje (plazmos su EDTA mėginiai, mėginio apdorojamas tūris – 400 µl)*

Nominalioji koncentracija (TV/ml)	Priskirta koncentracija (TV/ml)	Tiriamoji medžiaga	EDTA plazma			
			1 partija	2 partija	3 partija	Visos partijos
			SD	SD	SD	Jungtinis SD
1,0E+09	1,10E+09	Lambda DNR	0,07	0,08	0,05	0,07
1,0E+07	1,10E+07	Lambda DNR	0,05	0,05	0,05	0,05
5,0E+05	5,49E+05	Lambda DNR	0,06	0,04	0,05	0,05
2,0E+04	2,44E+04	CS	0,06	0,05	0,05	0,05
2,0E+03	2,44E+03	CS	0,08	0,06	0,06	0,07
2,0E+02	2,44E+02	CS	0,06	0,07	0,06	0,06
2,5E+01	3,05E+01	CS	0,14	0,13	0,09	0,12

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

9 lentelė. cobas® HBV glaudumas laboratorijoje (serumo mėginiai, mėginio apdorojamas tūris – 400 µl)*

Nominalioji koncentracija (TV/ml)	Priskirta koncentracija (TV/ml)	Tiriamoji medžiaga	Serumas			
			1 partija	2 partija	3 partija	Visos partijos
			SD	SD	SD	Jungtinis SD
1,0E+09	1,19E+09	Lambda DNR	0,04	0,04	0,03	0,04
1,0E+07	1,19E+07	Lambda DNR	0,05	0,05	0,04	0,05
5,0E+05	5,93E+05	Lambda DNR	0,03	0,04	0,03	0,03
2,0E+04	1,95E+04	CS	0,04	0,03	0,03	0,03
2,0E+03	1,95E+03	CS	0,03	0,02	0,03	0,03
2,0E+02	1,95E+02	CS	0,05	0,04	0,03	0,04
2,5E+01	2,44E+01	CS	0,16	0,08	0,14	0,13

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

10 lentelė. cobas® HBV glaudumas laboratorijoje (plazma su EDTA, mėginio apdorojamas tūris – 200 µl)*

Nominalioji koncentracija (TV/ml)	Priskirta koncentracija (TV/ml)	Tiriamoji medžiaga	EDTA plazma			
			1 partija	2 partija	3 partija	Visos partijos
			SD	SD	SD	Jungtinis SD
1,0E+09	1,10E+09	Lambda DNR	0,04	0,06	0,04	0,05
1,0E+07	1,10E+07	Lambda DNR	0,04	0,07	0,05	0,05
5,0E+05	5,49E+05	Lambda DNR	0,03	0,04	0,04	0,04
2,0E+04	2,44E+04	CS	0,04	0,05	0,06	0,05
2,0E+03	2,44E+03	CS	0,05	0,07	0,05	0,06
2,0E+02	2,44E+02	CS	0,05	0,07	0,04	0,06
2,5E+01	3,05E+01	CS	0,30	0,14	0,22	0,23

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

11 lentelė. cobas® HBV glaudumas laboratorijoje (serumas, mėginio apdorojamas tūris – 200 µl)*

Nominalioji koncentracija (TV/ml)	Priskirta koncentracija (TV/ml)	Tiriamoji medžiaga	Serumas			
			1 partija	2 partija	3 partija	Visos partijos
			SD	SD	SD	Jungtinis SD
1,0E+09	1,19E+09	Lambda DNR	0,02	0,02	0,02	0,02
1,0E+07	1,19E+07	Lambda DNR	0,03	0,04	0,04	0,04
5,0E+05	5,93E+05	Lambda DNR	0,02	0,03	0,04	0,03
2,0E+04	1,95E+04	CS	0,03	0,02	0,03	0,03
2,0E+03	1,95E+03	CS	0,04	0,03	0,03	0,03
2,0E+02	1,95E+02	CS	0,06	0,15	0,05	0,10
2,5E+01	2,44E+01	CS	0,14	0,18	0,15	0,16

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

Genotipo tikrinimas

cobas® HBV efektyvumas tiriant HBV genotipus buvo įvertintas:

- B–H genotipų ir labiausiai paplitusio „precore“ mutanto aptikimo ribos patikrinimas
- B–H genotipų ir labiausiai paplitusio „precore“ mutanto linijiškumo patikrinimas
- Priskiriant titrą, naudojant **cobas® HBV**.

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

Aštuonių skirtingų genotipų (B, C, D, E, F, G, H, G1896A „precore“ mutanto) HBV DNR klinikiniai mėginiai buvo praskiesti plazma su EDTA ir serumu iki dominuojančio genotipo (HBV GT A) koncentracijos plazmoje su EDTA LoD, remiantis 95 % sutapimo dažnio LoD analize (5,0 TV/ml). Atitikimo dažnio analizė buvo atlikta naudojant 42 kiekvieno genotipo ir mėginio terpės pakartojimus. Šie rezultatai patvirtina, kad **cobas® HBV** tyrimas aptiko HBV, tiriant HBV B, C, D, E, F, G, H ir „precore“ mutanto (PC) genotipus, esant 5 TV/ml koncentracijai, o viršutinis vienpusis 95 % pasikliautinas intervalas buvo didesnis nei numatytas 95 % atitikimo dažnis.

12 lentelė. HBV B–H genotipų ir „precore“ mutanto LoD patikrinimas 400 µl plazmos su EDTA

Genotipas	Atitikimo koeficientas	Viršutinė vienpusio 95 % pasikliautinojo intervalo riba
B	97,6 %	99,9 %
C	95,2 %	99,2 %
D	100,0 %	100,0 %
E	100,0 %	100,0 %
F	100,0 %	100,0 %
G	100,0 %	100,0 %
H	90,5 %	96,7 %
PC	100,0 %	100,0 %

13 lentelė. HBV B–H genotipų ir „precore“ mutanto LoD patikrinimas 400 µl serumo

Genotipas	Atitikimo koeficientas	Viršutinė vienpusio 95 % pasikliautinojo intervalo riba
B	100,0 %	100,0 %
C	100,0 %	100,0 %
D	100,0 %	100,0 %
E	100,0 %	100,0 %
F	100,0 %	100,0 %
G	100,0 %	100,0 %
H	97,6 %	99,9 %
PC	100,0 %	100,0 %

B–H genotipų ir „precore“ mutanto linijinio intervalo patikrinimas

cobas® HBV genotipų tiesiškumo tyrimui įvertinti naudotą skiedinių seriją sudarė devyni grupės nariai per visą numatomą linijinį intervalą. Didelio titro rinkinio elementai buvo ruošiami iš didelio titro lambda DNR koncentrato, o mažesnio titro mėginiai buvo ruošiami iš didelio titro klinikinio mėginio (CS). Tiesiškumui tirti rinkinys buvo sudarytas taip, kad iš dviejų šaltinių gautų mėginių titrai persidengtų mažiausiai 2 log₁₀. **cobas®** HBV linijinis intervalas apėmė nuo LLoQ (10,0 TV/ml, apdorojant 400 µl mėginio) iki ULoQ (1,0E+09 TV/ml) ir į jį buvo įtrauktos mažiausiai dvi koncentracijos vertės, reikšmingos priimant medicininius sprendimus. Buvo atlikta po dvylika kiekvienos koncentracijos tyrimo pakartojimų EDTA plazmos mėginiuose.

Buvo patikrintas visų aštuonių genotipų (B, C, D, E, F, G, H ir „precore“ mutanto) **cobas®** HBV tyrimo linijinis intervalas. Didžiausias nuokrypis tarp tiesinės regresijos ir geriau atitinkančios netiesinės regresijos buvo lygus ±0,08 log₁₀ arba mažesnis.

Specifiškumas

cobas® HBV specifiškumas buvo nustatytas analizuojant atskirų donorų HBV neigiamos EDTA plazmos ir serumo mėginius. Su trimis **cobas®** HBV reagentų partijomis ištirta 615 atskirų plazmos su EDTA mėginių ir 613 atskirų serumo mėginių (iš viso gauti 1 228 rezultatai). Ištirtuose 615 plazmos su EDTA mėginių ir 613 serumo mėginių HBV DNR nebuvo aptikta. Tiriamųjų mėginių rinkinyje **cobas®** HBV specifiškumas plazmoje ir serume buvo 100,0 % (vienpusis 95 % pasikliautinasis intervalas – 99,5 %).

Analitinis specifiškumas

cobas® HBV analitinis specifiškumas buvo vertinamas skiedžiant patogenų grupės mėginius (14 lentelė) HBV DNR teigiama ir HBV DNR neigiama plazma su EDTA. Patogenų buvo pridėta į neigiamą plazmą su EDTA ir tirta su HBV DNR ir be jos. Neigiami rezultatai naudojant **cobas®** HBV buvo gauti su visais patogenų mėginiais be tiriamo HBV, teigiami rezultatai buvo gauti su visais patogenų mėginiais su tiriamu HBV. Be to, visų teigiamų HBV mėginių su potencialiai kryžminės reakcijas sukeliančiais organizmais vidutinis log₁₀ buvo ±0,12 log₁₀ ribose, palyginti su pridėto teigiamo mėginio vidutiniu log₁₀ titru.

14 lentelė. Patogenai, kurių kryžminės reakcijos buvo tirtos

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

Analitinis specifiškumas – interferuojančios medžiagos

Didesni galimai interferuojančių endogeninių medžiagų (trigliceridų (27,9–30,1 g/l), konjuguoto bilirubino (0,18–0,22 g/l), nekonjuguoto bilirubino (0,19–0,2 g/l), albumino (57,8–60,6 g/l), hemoglobino (1,8–2,3 g/l) ir žmogaus DNR (2 mg/l)) kiekiai mėginiuose buvo ištirti juose esant HBV DNR ir be jos. Buvo parodyta, kad tirtos medžiagos nedaro įtakos **cobas®** HBV tyrimo efektyvumui. Taip pat buvo ištirtas autoimuninių ligų – sisteminės raudonosios vilkligės (SRV), reumatoidinio faktoriaus (RF) ir antinuklelinių antikūnų (ANA) – žymenų buvimas ir patvirtinta, kad jie nesukelia interferencijos.

Visų teigiamų HBV mėginių su potencialiai interferuojančiomis medžiagomis ir autoimuninių ligų žymenimis vidutinis $\log_{10}$ titras buvo nuo $-0,05 \log_{10}$ iki $0,07 \log_{10}$, palyginti su pridėto teigiamo mėginio vidutiniu $\log_{10}$ titru.

Papildomai buvo ištirtos, 15 lentelėje išvardytos vaistinės medžiagos naudojant tris kartus didesnę jų koncentraciją nei nustatyta C_{maks} , esant HBV DNR ir be jos.

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

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

Parodyta, kad jokios potencialiai interferuojančios vaistinės medžiagos netrukdytų tyrimo efektyvumui. Neigiami rezultatai naudojant cobas® HBV buvo gauti su visais mėginiais be tiriamojo HBV, teigiami rezultatai buvo gauti su visais mėginiais su tiriamuoju HBV. Be to, visų teigiamų HBV mėginių su potencialiai interferenciją sukeliančiomis vaistinėmis medžiagomis vidutinis $\log_{10}$ titras buvo nuo $-0,02 \log_{10}$ iki $0,03 \log_{10}$, palyginti su pridėto teigiamo mėginio vidutiniu $\log_{10}$ titru.

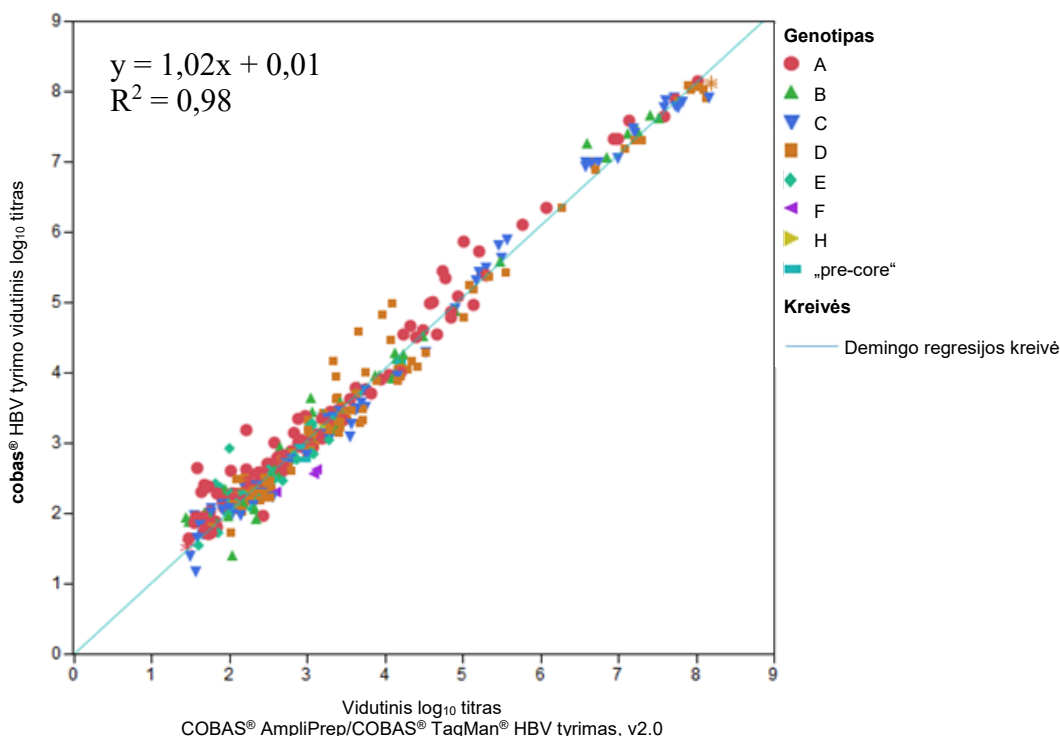
Metodų palyginimas

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

cobas® HBV ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV kiekybinio v2.0 tyrimo (TaqMan® HBV Test, v2.0) našumas buvo lyginamas analizuojant HBV užsikrėtusių pacientų plazmos su EDTA mėginius. Iš viso po du kartus buvo ištirta 215 visų HBV genotipų (išskyrus G genotipą) plazmos su EDTA ir 170 serumo mėginių. Visi abiejų tyrimų rezultatai buvo tinkami vertinti ir neviršijo kiekybinės analizės intervalo ribų. Buvo atlikta Demingo regresinė analizė. Mėginiams, tirtiems abiem tyrimais, nustatytas vidutinis titro nuokrypis 0,06 log₁₀ (95 % pasikliautinis intervalas: 0,04; 0,09).

Demingo regresijos rezultatai pateikti 6 pav. Spalva nurodo genotipą.

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

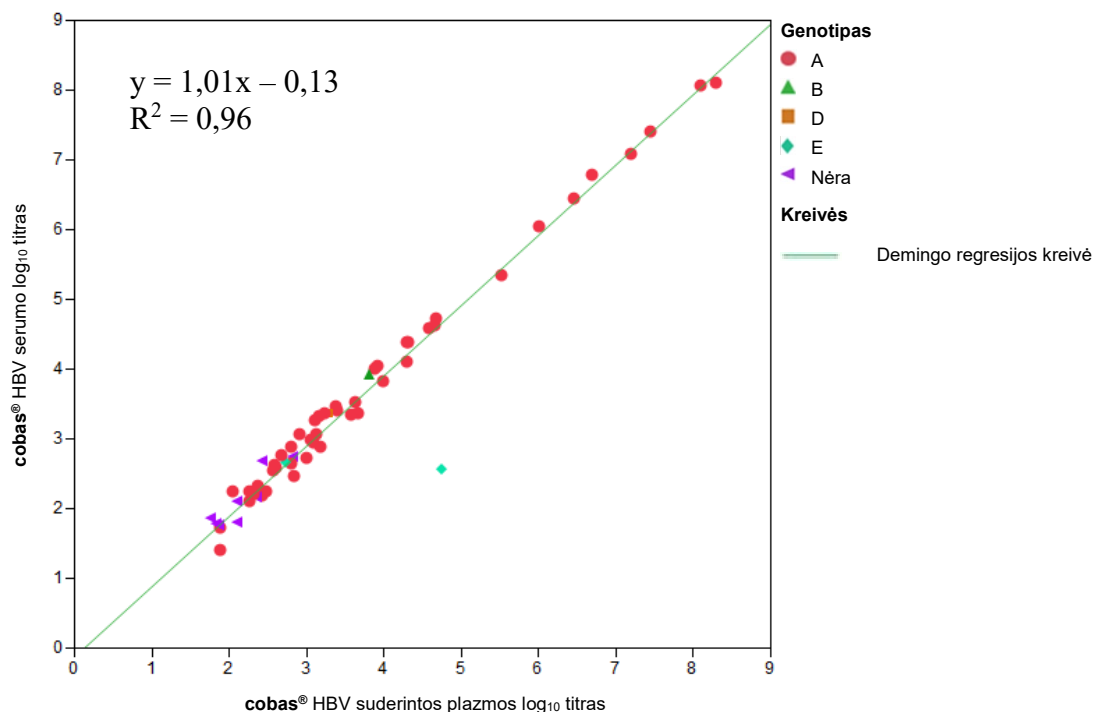


Terpės ekvivalentiškumas – plazma su EDTA ir serumas

Tiriant terpės ekvivalentiškumą ištirta 119 porinių plazmos su EDTA ir serumo mėginių. Iš jų 59 poriniuose mėginiuose buvo HBV. HBV teigiamuose mėginiuose buvo A, B, D ir E genotipų visame linijiniame intervale.

Vidutinis titro nuokrypis, nustatytas poriniams plazmos su EDTA ir serumo mėginiams, buvo –0,10 log₁₀ (95 % pasikliautinis intervalas: –0,18; –0,01) (7 pav.).

7 pav. Terpės ekvivalentiškumas – tyrimo charakteristikos tiriant plazmą su EDTA ir serumą



Visos sistemos sutrikimas

Visos sistemos sutrikimų dažnis atliekant **cobas®** HBV tyrimą nustatytas kelis kartus tiriant 100 plazmos su EDTA mėginių, į kuriuos pridėta HBV. Buvo tiriamos tikslinės šių mėginių koncentracijos, maždaug $3 \times \text{LoD}$ (15,0 TV/ml).

Šio tyrimo rezultatai patvirtino, kad visi pakartotiniai tyrimo mėginiai tinkami vertinti ir buvo teigiami HBV, taigi bendras visos sistemos sutrikimo koeficientas buvo 0,0 %. Dvišalis 95 % tikslumo patikimumo intervalas buvo 0,0 % apatinei ribai ir 3,6 % viršutinei ribai [0,0 %: 3,6 %].

Kryžminis užteršimas

cobas® HBV kryžminio užteršimo koeficientas buvo nustatytas atliekant 230 HBV neigiamų plazmos su EDTA mėginių tyrimo pakartojimų ir 235 aukšto titro ($1,4\text{E}+09$ TV/ml) HBV mėginių tyrimo pakartojimus. Iš viso buvo atliktos penkios tyrimų procedūros, pakaitomis tiriant teigiamus ir neigiamus mėginius.

Pakartotinai tiriant 230 neigiamų mėginių, visi gauti rezultatai buvo tinkami vertinti, o jų tyrimo rezultatas neigiamas. Nustatytas kryžminio užteršimo koeficientas 0,0 %, o vienpusis 95 % pasikliautinas intervalas – 1,3 %.

Papildoma informacija

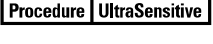
Pagrindinės tyrimo ypatybės

Mėginio tipas	EDTA plazma, serumas		
Apdorojamas mėginio tūris	400 µl arba 200 µl		
Analitinis jautrumas	EDTA plazma:	4,4 TV/ml (400 µl) 7,6 TV/ml (200 µl)	Serumas: 2,8 TV/ml (400 µl) 5,5 TV/ml (200 µl)
Linijinis intervalas	400 µl: 10,0 TV/ml – 1,0E+09 TV/ml 200 µl: 10,0 TV/ml – 1,0E+09 TV/ml		
Specifiškumas	100,0 % (vienašalis 95 % patikimumo intervalas: 99,5 %)		
Aptinkami genotipai	HBV A–H genotipai, G1896A „precore“ mutantas		

Simboliai

Šie simboliai naudojami Roche PGR diagnostikos gaminiams žymėti.

16 lentelė. Simboliai, naudojami Roche PGR diagnostikos produktams žymėti

 Age/DOB Amžius arba gimimo data	 Priemonė nėra skirta tyrimui šalia paciento	 QS IU/PCR QS TV PGR reakcijos metu; naudokite QS tarptautinius vienetus (TV) PGR reakcijos metu, kai skaičiuojami rezultatai.
 SW Papildoma programinė įranga	 Priemonė nėra skirta savarankiškam išsityrimui	
 Assigned Range [copies/mL] Priskirta skalė (kop./ml)	 Platintojas (Pastaba: po šiuo ženklu gali būti nurodyta atitinkama šalis / regionas.)	 SN Serijos numeris
 Assigned Range [IU/mL] Priskirta skalė (TV/ml)	 Nenaudoti pakartotinai	 Site Vieta
 EC REP Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje	 Moteris	 Procedure Standard Standartinė procedūra
 BARCODE Brūkšnių kodų duomenų lapas	 Skirta tik IVD efektyvumui įvertinti	 STERILE EO Sterilizuota etileno oksidu
 LOT Partijos kodas	 GTIN Visuotinis prekės numeris	 Laikyti tamsoje
 Biologinė rizika	 Importuotojas	 Temperatūros ribojimas
 REF Katalogo numeris	 IVD <i>In vitro</i> diagnostikos medicinos priemonė	 TDF Tyrimo nustatymų failas
 CE atitikties ženklavimas; ši priemonė atitinka <i>in vitro</i> diagnostikos medicinos priemonės CE ženklavimo reikalavimus	 LLR Priskirtos skalės apatinė riba	 Šiuo galu į viršų
 Collect Date Paėmimo data	 Vyras	 Procedure UltraSensitive Ypač tiksli procedūra
 Žiūrėti naudojimo instrukcijas	 Gamintojas	 UDI Unikalus priemonės identifikatorius
 Yra pakankamai <n> tyrimų	 CONTROL - Neigiama kontrolė	 ULR Priskirtos skalės viršutinė riba
 CONTENT Rinkinio sudėtis	 NON STERILE Nesterilus	 Urine Fill Line Šlapimo užpildymo linija
 CONTROL Kontrolinės medžiagos	 Paciento vardas, pavardė	 Rx Only Taikytina tik JAV: pagal federalinius įstatymus šį prietaisą galima parduoti tik gydytojui arba gydytojo nurodymu.
 Pagaminimo data	 Paciento numeris	 Naudoti iki datos
 Priemonė tyrimui šalia paciento	 Plėšti čia	
 Priemonė skirta savarankiškai išsityrėti	 CONTROL + Teigiama kontrolė	
	 QS copies / PCR QS kopijos PGR reakcijos metu; naudokite QS kopijas PGR reakcijos metu, kai skaičiuojami rezultatai.	

Techninė pagalba

Dėl techninės pagalbos kreipkitės į vietinį filialą:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Gamintojas

17 lentelė. Gamintojas



Pagaminta JAV

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

Pagaminta JAV

Prekių ženklai ir patentai

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

Autorių teisės

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Šaltinių sąrašas

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

20. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.
21. Dokumento leidimas

Dokumento leidimas

Dokumento leidimo informacija	
Doc Rev. 7.0 02/2024	Atnaujinta lizės rinkinio Lysis Kit 2 pavojaus informacija. Atnaujintas suderintų ženklų puslapis. Ištrauktas skyrius Techninė pagalba. Atnaujinta dabartiniams ekonominės veiklos vykdytojams. Atnaujintas skyrius Prekių ženklai ir patentai, įskaitant nuorodą. Ištrauktas sakinyss apie pagaminimo vietą. Atnaujintas cobas® prekių ženklavimas. Ištrauktas ženklas „Rx Only“. Jeį turite klausimų, kreipkitės į vietinį Roche atstovą.
Doc Rev. 8.0 08/2024	Atnaujinta Wash Buffer Kit keliamo pavojaus informacija. Iš antraštinio puslapio išbrauktas užrašas „Rx Only“. Atnaujintas suderintų ženklų puslapis. Jeį turite klausimų, kreipkitės į vietinį Roche atstovą.