

cobas[®] HBV

Kvantitativt nukleinsyratest för användning på systemen cobas[®] 5800/6800/8800

För *in vitro*-diagnostisk användning

cobas[®] HBV

P/N: 09040820190

För användning på cobas[®] 5800-systemet

cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

P/N 09040773190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N 09051554190

För användning på cobas[®] 6800/8800-systemen

cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

P/N: 06997767190 eller

P/N: 09040773190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 07002220190 eller

P/N: 09051554190

Innehållsförteckning

Avsedd användning	5
Sammanfattning och förklaring av testet	5
Reagens och material	7
cobas® HBV-reagens och -kontroller.....	7
cobas omni-reagens för provberedning.....	10
Förvaring av reagens	11
Extramaterial som behövs för systemet cobas® 5800.....	13
Extramaterial som behövs för systemen cobas® 6800/8800	13
Instrument och programvara som behövs.....	14
Försiktighetsåtgärder och information om hantering.....	15
Varningar och säkerhetsåtgärder	15
Reagenshantering	15
God laboratoriesed	16
Provtagning, transport och förvaring av prover	16
Prover.....	16
Bruksanvisning	17
Anmärkningar om testet	17
Köra cobas® HBV på systemet cobas® 5800	18
Köra cobas® HBV på systemen cobas® 6800/8800	19
Resultat	20
Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på systemet cobas® 5800 och systemen cobas® 6800/8800 med programversion 2.0 eller högre	20
Kontrollresultat för systemen cobas® 5800 och cobas® 6800/8800 med programversion 2.0 eller högre	20
Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på systemen cobas® 6800/8800 med programversion 1.4	21
Kontrollflaggor på systemen cobas® 6800/8800 med programversion 1.4.....	21
Tolkning av resultat för systemen cobas® 5800/6800/8800	22

Tolkning av resultat på systemen cobas ® 5800 och cobas ® 6800/8800 med programversion 2.0 eller högre	22
Tolkning av resultat på systemen cobas ® 6800/8800 med programversion 1.4	23
Testets begränsningar	23
Utvärdering av icke-klinisk prestanda	24
Viktiga prestandaegenskaper på systemen cobas ® 6800/8800	24
Detektionsgräns (LoD)	24
Linjärt intervall	26
Precision – inom laboratoriet	28
Bestämning av genotyp och verifiering	31
Specificitet	34
Analytisk specificitet	34
Analytisk specificitet – interfererande substanser	35
Metodkorrelation	36
Matrisekvivalens – EDTA-plasma jämfört med serum	37
Felfrekvens inom hela systemet	37
Korskontamination	37
Utvärdering av klinisk prestanda	38
Reproducerbarhetsstudie	38
Variabilitet mellan loter	38
Reproducerbarhet	40
Klinisk användbarhet	42
Förutsägelse av svar på antiviral behandling	44
Slutsats	48
Systemekvivalens/systemjämförelse	48
Ytterligare information	49
Viktiga testegenskaper	49
Symboler	50
Teknisk support	51
Tillverkare och importör	51
Varumärken och patent	51

Copyright.....	51
Referenser.....	52
Revidering av dokumentet	54

Avsedd användning

cobas® HBV är ett *in vitro*-test för nukleinsyraamplifiering för kvantifiering av hepatit B-virus (HBV) DNA i human EDTA-plasma eller serum från HBV-infekterade personer.

Detta test är avsett som hjälpmedel vid hantering av patienter med kronisk HBV-infektion som genomgår antiviral behandling. Testet kan användas för att mäta HBV-DNA-nivåer vid baseline och under behandling som ett hjälpmedel vid bedömning av svar på behandling. Resultaten från **cobas® HBV** måste tolkas med hänsyn till alla relevanta kliniska fynd och laboratoriefynd.

Sammanfattning och förklaring av testet

Bakgrund

HBV är ett av flera virus som är kända för att orsaka virushepatit. Mer än 2 miljarder människor i världen har exponerats för HBV och mer än 350 miljoner är kroniskt infekterade.¹ HBV är en huvudorsak till leversjukdom i USA, trots minskad incidens av akut infektion tack vare vaccination och allmänna säkerhetsföreskrifter om hantering av kanyler.² Den allmänna prevalensen av HBV-infektion i USA har bedömts vara 0,3 % till 0,5 %, där 47 % till 70 % av fallen tillskrivs personer som är födda utanför USA.² Riktade screeningprogram har dock visat prevalenstal som överstiger 15 % hos vissa högriskpopulationer bland immigranter.³ Patienter med kronisk HBV-infektion löper hög risk att få långvariga komplikationer av infektionen, bland annat kronisk hepatit, cirrhos och hepatocellulärt karcinom.⁴⁻⁷ Serologiska markörer används vanligtvis som diagnostiska och/eller prognostiska indikatorer på akut eller kronisk HBV-infektion.⁸ Centers for Disease Control and Prevention i USA utökade sina rekommendationer om rutinmässig screening för högriskpersoner till att screening nu även ska utföras i populationer där prevalensen av HBV-ytantigen (HBsAg) är högre än 2 %. Exempel på detta är personer från endemiska områden i världen (till exempel Asien och Afrika), män som har sex med män och sprutnarkomaner.²

Den vanligaste markören för HBV-infektion är förekomst av HBsAg.⁸ Även om bärare eliminerar HBsAg och utvecklar antikroppar mot HBsAg verkar det fortfarande finnas risk för allvarliga leverkomplikationer senare i livet.^{9,10} HBe-antigen (HBeAg) används vanligtvis som en sekundär markör för att indikera aktiv HBV-replikering associerad med progressiv leversjukdom. Misslyckande att eliminera HBeAg verkar öka risken för terminal leversjukdom.^{9,10} Olika stammar av HBV-precure-mutanter kan förlora förmågan att producera HBeAg även om en aktiv infektion förekommer, vilket begränsar användbarheten av markören som övervakning av sjukdomsförlopp.⁷

Princip för HBV-testning

HBV-DNA i EDTA-plasma och serum kan kvantifieras genom metoder som använder nukleinsyraamplifiering, till exempel PCR.¹¹⁻¹⁴ Flera viktiga riktlinjer rekommenderar användning av realtids-PCR-metoder för HBV-DNA-kvantifiering, framför allt på grund av bättre känslighet och ett bredare linjärt intervall.^{15,16}

Förklaring av testet

cobas® HBV är ett kvantitativt test som utförs på systemen **cobas® 5800**, **cobas® 6800** eller **cobas® 8800**. **cobas® HBV** möjliggör detektion och kvantifiering av HBV-DNA i EDTA-plasma eller serum hos infekterade patienter, och är avsett för användning i laboratorier för både kliniska undersökningar och för rutinmässig klinisk behandling av HBV-patienter. En enda prob används för att detektera och kvantifiera men inte diskriminera genotypen A–H. Virusmängden kvantifieras

mot en icke-HBV DNA-kvantifieringsstandard (DNA-QS) som tillsätts i varje prov under provbearbetningen. DNA-QS är även avsedd för övervakning av hela provberednings- och PCR-amplifieringsprocessen. Dessutom används tre externa kontroller i testet: en positiv med hög titer, en positiv med låg titer och en negativ kontroll. De högpositiva och lågpositiva externa kontrollerna tillverkas av spädning från stammaterial med en titer som är spårbar till WHO:s internationella standard för HBV. Varje amplifierings-/detektionskit-lot är kalibrerad spårbart till WHO:s internationella standard för HBV.

Användningsprinciper

cobas® HBV är baserat på helt automatisk provberedning (extraktion och rening av nukleinsyra) följt av PCR-amplifiering och detektion. Systemet **cobas® 5800** är utformat som ett integrerat instrument. Systemen **cobas® 6800/8800** består av en provinmatningsmodul, överföringsmodul, processmodul och analysmodul. Automatisk datahantering utförs av programvaran i systemen **cobas® 5800** eller **cobas® 6800/8800** som tilldelar testresultat för alla tester enligt följande: mål inte detekterat, < LLoQ (nedre kvantifieringsgräns), > ULoQ (övre kvantifieringsgräns) eller HBV-DNA detekterat, ett värde i det linjära intervallet $LLoQ < x < ULoQ$. Resultaten kan visas direkt i systemfönstret, exporteras eller skrivas ut som en rapport.

Nukleinsyra från patientprover, externa kontroller och tillsatta lambda DNA-molekyler (DNA-QS) extraheras samtidigt.

Viral nukleinsyra frisätts genom tillsats av proteinas och lyseringsreagens i provet. Den frisatta nukleinsyran binder till kiselytan på de tillsatta magnetiska glaspartiklarna. Obundna substanser och föroreningar, till exempel denaturerat protein, cellrester och potentiella PCR-hämmare tas bort med efterföljande tvättreagenssteg, och renad nukleinsyra elueras från de magnetiska glaspartiklarna med hjälp av elueringsbuffert vid förhöjd temperatur.

Selektiv amplifiering av mål-nukleinsyra från provet uppnås genom användning av mål-virus specifika forward- och reverse-primers som väljs från maximalt konserverade regioner på HBV. Selektiv amplifiering av DNA-QS uppnås genom användning av sekvensspecifika forward- och reverse-primers som väljs för att inte ha någon homologi med HBV-genomet. Ett värmebeständigt DNA-polymerasenzym används för amplifieringen. I master-mixen ingår deoxiuridin-trifosfat (dUTP) istället för deoxitymidintrifosfat (dTTP), som inkorporerats i det nyligen syntetiserade DNA:t (amplikon).^{14, 17, 18} Eventuellt kontaminerande amplikon från tidigare PCR-körningar elimineras med hjälp av AmpErase-enzymet (ingår i PCR-mixen) under det första termocyklingssteget. Nybildade amplikon elimineras dock inte eftersom AmpErase-enzymet inaktiveras när det utsätts för temperaturer över 55 °C.

cobas® HBV-master-mixen innehåller detektionsprober som är specifika för HBV-målsekvenserna respektive QS-nukleinsyran. De enskilda HBV- och DNA-QS-detektionsproberna är märkta med en av två unika fluorokromer som fungerar som reporterfluorokrom. Varje prob har även en andra fluorokrom som fungerar som quencher. De två reporterfluorokromerna mäts vid definierade våglängder, vilket möjliggör samtidig detektion och urskiljning av det amplifierade HBV-målet och DNA-QS.^{12, 13} Fluorescenssignalen för den intakta proben hämmas av en quencherfluorokrom när den inte är bunden till målsekvensen. Under PCR-amplifieringssteget hybridiserar proberna specifikt till respektive mål på det enkelsträngade DNA:t, vilket resulterar i klyvning av proben genom 5'-till-3'-exonukleasaktiviteten i DNA-polymeraset, vilket i sin tur resulterar i separation av reporter- och quencherfluorokromen och gör att en fluorescenssignal genereras. För varje PCR-cykel genereras ökande mängder klyvda prober, och som en följd av detta ökar den sammanlagda signalen för reporterfluorokromen. Eftersom de två specifika reporterfluorokromerna mäts vid definierade våglängder är samtidig detektion och urskiljning av det amplifierade HBV-målet och DNA-QS möjlig.

Reagens och material

cobas® HBV-reagens och -kontroller

Alla öppnade reagens och kontroller ska sparas enligt rekommendationerna i Tabell 1 till Tabell 4.

Tabell 1 cobas® HBV

cobas® HBV

Förvaras i 2–8 °C

Kassett med 192 tester (P/N 09040820190)

Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit 192 tester
Proteinaslösning (PASE)	Trisbuffert, < 0,05 % EDTA, kalciumklorid, kalciumacetat, 8 % proteinas EUH210: Säkerhetsdatablad finns att rekquirera. EUH208: Kan orsaka allergisk reaktion. Innehåller: subtilisin, 9014-01-1	22,3 ml
DNA-kvantifierings- standard (DNA-QS)	Trisbuffert, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % icke-HBV-DNA-konstrukt som inte binder HBV men har en unik probbindningsregion (ej infektiöst DNA), 0,002 % Poly rA-RNA (syntetiskt), < 0,1 % natriumazid	21,2 ml
Elueringsbuffert (EB)	Trisbuffert, 0,2 % metyl-4 hydroxibensoat	21,2 ml
Master Mix-reagens 1 (MMX-R1)	Manganacetat, kaliumhydroxid, < 0,1 % natriumazid	7,5 ml
HBV master mix- reagens 2 (HBV MMX-R2)	Tricinbuffert, kaliumacetat, 18 % dimetylsulfoxid, glycerol, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01% uppströms- och nedströms-HBV-primers, < 0,01 % forward- och reverse-primers för kvantifieringsstandard, < 0,01 % fluorescensmärkta oligonukleotidprober specifika för HBV och HBV-kvantifieringsstandard, < 0,01 % oligonukleotid-aptamer, < 0,01 % Z05D DNA-polymeras, < 0,10 % AmpErase-enzym (uracil-N-glykosylas) (mikrobiellt), < 0,1 % natriumazid	9,7 ml

* Produktsäkerhetsmärkningen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

** Farlig substans.

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

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

Förvaras i 2–8 °C

För användning på systemet cobas® 5800 och systemen cobas® 6800/8800 med programversion 2.0 eller högre (P/N 09040773190)

För användning på systemen cobas® 6800/8800 med programversion 1.4 (P/N 06997767190 och P/N 09040773190)

Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit	Säkerhetssymbol och varning*
HBV/HCV/HIV-1 lågpositiv kontroll (HBV/HCV/HIV-1 L(+)C)	< 0,001 % armored HIV-1 grupp M-RNA inkapslat i MS2-bakteriofagens skalprotein, < 0,001 % syntetiskt (plasmid) HBV-DNA inkapslat i Lambda-bakteriofagens skalprotein, < 0,001 % syntetiskt (armored) HCV-RNA inkapslat i MS2-bakteriofagens skalprotein, normal human plasma, icke-reaktiv enligt licensierade tester för antikropp mot HCV, antikropp mot HIV-1/2, HBsAg, antikropp mot HBc; HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA och HBV-DNA icke detekterbart med PCR-metoder 0,1 % ProClin® 300 konserveringsmedel**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  VARNING H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P261: Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. P273: Undvik utsläpp till miljön. P280: Använd skyddshandskar. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P362 + P364: Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. P501: Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. 55965-84-9 Reaktionsmassa av: 5-klor-2-metyl-4-isothiazolin-3-on [EC-nr 247-500-7] och 2-metyl-2H-isothiazol-3-on [EC-nr 220-239-6] (3:1).
HBV/HCV/HIV-1 högpositiv kontroll (HBV/HCV/HIV-1 H(+)C)	< 0,001 % syntetiskt (armored) HIV-1 grupp M-RNA med hög titer inkapslat i MS2-bakteriofagens skalprotein, < 0,001 % syntetiskt (plasmid) HBV-DNA inkapslat i Lambda-bakteriofagens skalprotein, < 0,001 % syntetiskt (armored) HCV-RNA inkapslat i MS2-bakteriofagens skalprotein, normal human plasma, icke-reaktiv enligt licensierade tester för antikropp mot HCV, antikropp mot HIV-1/2, HBsAg, antikropp mot HBc; HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA och HBV-DNA icke detekterbart med PCR-metoder 0,1 % ProClin® 300 konserveringsmedel**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  VARNING H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. P261: Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. P272: Nedstänkta arbetskläder får inte avlägsnas från arbetsplatsen. P280: Använd skyddshandskar. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P362 + P364: Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. P501: Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. 55965-84-9 Reaktionsmassa av: 5-klor-2-metyl-4-isothiazolin-3-on [EC-nr 247-500-7] och 2-metyl-2H-isothiazol-3-on [EC-nr 220-239-6] (3:1).

* Produktsäkerhetsmärkningsen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

** Farlig substans.

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

Förvaras i 2–8 °C

För användning på systemet **cobas®** 5800 och systemen **cobas®** 6800/8800 med programversion 2.0 eller högre (P/N 09051554190)För användning på systemen **cobas®** 6800/8800 med programversion 1.4 (P/N 07002220190 och P/N 09051554190)

Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit	Säkerhetssymbol och varning*
Negativ kontroll, normal human plasma (NHP-NC)	Normal human plasma, icke-reaktiv enligt licensierade tester för antikropp mot HCV, antikropp mot HIV-1/2, HBsAg, antikropp mot HBc; HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA och HBV-DNA icke detekterbart med PCR-metoder < 0,1 % ProClin® 300 konserveringsmedel**	16 ml (16 × 1 ml)	  VARNING H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. P261: Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. P272: Nedstänkta arbetskläder får inte avlägsnas från arbetsplatsen. P280: Använd skyddshandskar. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P362 + P364: Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. P501: Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. 55965-84-9 Reaktionsmassa av: 5-klor-2-metyl-4-isothiazolin-3-on [EC-nr 247-500-7] och 2-metyl-2H-isothiazol-3-on [EC-nr 220-239-6] (3:1).

* Produktsäkerhetsmärkningen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

** Farlig substans.

cobas omni-reagens för provberedning

Tabell 4 cobas omni-reagens för provberedning*

Reagens	Reagensingredienser	Kvantitet per kit	Säkerhetssymbol och varning**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Förvaras i 2–8 °C (P/N 06997546190)	Magnetiska glaspartiklar, Trisbuffert, 0,1 % metyl-4 hydroxybensoat, < 0,1 % natriumazid	480 tester	Ej tillämpligt
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Förvaras i 2–8 °C (P/N 06997511190)	Trisbuffert, 0,1 % metyl-4 hydroxybensoat, < 0,1 % natriumazid	4 × 875 ml	Ej tillämpligt
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Förvaras i 2–8 °C (P/N 06997538190)	43 % (vikt/vikt) guanidintiocyanat***, 5 % (vikt/volym) polydokanol***, 2 % (vikt/volym) ditiotreitol, natriumdivätecitrat	4 × 875 ml	 FARA H302 + H332: Skadligt vid förtäring eller vid inandning. H314: Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. EUH032: Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra. P261: Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. P273: Undvik utsläpp till miljön. P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. P303 + P361 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten. P304 + P340 + P310: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P305 + P351 + P338 + P310: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. 593-84-0 Guanidintiocyanat 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-ditioerytritol
cobas omni Wash Reagent (WASH) Förvaras i 15–30 °C (P/N 06997503190)	Natriumcitrat-dihydrat, 0,1 % metyl-4 hydroxybensoat	4,2 l	Ej tillämpligt

* Dessa reagens ingår inte i cobas® HBV-testkitet. Se lista med ytterligare material som behövs (Tabell 9).

** Produktsäkerhetsmärkningen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

*** Farlig substans.

09198946001-04SV

Doc Rev. 3.1

10

Förvaring av reagens

Reagens ska förvaras och hanteras enligt specifikationerna i Tabell 5, Tabell 6 och Tabell 7.

När reagensen inte är laddade i systemen **cobas®** 5800/6800/8800 ska de förvaras i den temperatur som anges i Tabell 5.

Tabell 5 Förvaring av reagens (när reagenset inte är i systemet)

Reagens	Förvaringstemperatur
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

Reagenshantering för systemet **cobas®** 5800

Reagens som laddas i systemet **cobas®** 5800 förvaras i rätt temperatur och deras utgångsdatum övervakas av systemet. Systemet tillåter endast att reagens används om alla villkor som anges i Tabell 7 är uppfyllda. Systemet förhindrar automatiskt användning av reagens som har passerat utgångsdatum. Tabell 6 visar de villkor för hantering av reagens som upprätthålls av systemet **cobas®** 5800.

Tabell 6 Villkor för hållbarhet för reagens som upprätthålls av systemet **cobas®** 5800

Reagens	Utgångsdatum för kitet	Hållbarhet i öppnat kit	Antal körningar som kitet kan användas	Hållbarhet i instrumentet
cobas® HBV	Datomet har inte passerats	90 dagar från första användning	Max 40 körningar	Max 36 dagar*
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Datomet har inte passerats	Ej tillämpligt ¹	Ej tillämpligt	Max 36 dagar*
cobas® NHP Negative Control Kit	Datomet har inte passerats	Ej tillämpligt ¹	Ej tillämpligt	Max 36 dagar*
cobas omni Lysis Reagent	Datomet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni MGP Reagent	Datomet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Specimen Diluent	Datomet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Wash Reagent	Datomet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt

¹ Reagens för engångsbruk.

* Tiden mäts från första gången reagenset laddas i systemet **cobas®** 5800.

Reagenshantering för systemen cobas® 6800/8800

Reagens som laddas i systemen **cobas®** 6800/8800 förvaras i rätt temperatur och deras utgångsdatum övervakas av systemet. Systemen **cobas®** 6800/8800 tillåter endast att reagens används om alla villkor som anges i Tabell 7 är uppfyllda. Systemet förhindrar automatiskt användning av reagens som har passerat utgångsdatum. Tabell 7 visar de villkor för hantering av reagens som upprätthålls av systemen **cobas®** 6800/8800.

Tabell 7 Villkor för hållbarhet för reagens som upprätthålls av systemen **cobas®** 6800/8800

Reagens	Utgångsdatum för kitet	Hållbarhet i öppnat kit	Antal körningar som kitet kan användas	Hållbarhet i instrumentet (sammanlagd tid i instrumentet utanför kylskåp)
cobas® HBV	Datumet har inte passerats	90 dagar från första användning	Max 40 körningar	Max 40 timmar
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Datumet har inte passerats	Ej tillämpligt ^a	Ej tillämpligt	Max 8 timmar
cobas® NHP Negative Control Kit	Datumet har inte passerats	Ej tillämpligt ^a	Ej tillämpligt	Max 10 timmar
cobas omni Lysis Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni MGP Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Specimen Diluent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Wash Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt

^a Reagens för engångsbruk

* Tiden mäts från första gången reagenset laddas i systemen **cobas®** 6800/8800.

Extramaterial som behövs för systemet cobas® 5800

Tabell 8 Material och förbrukningsartiklar för användning på systemet **cobas® 5800**

Material	P/N
cobas omni Processing Plate 24	08413975001
cobas omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Tip CORE TIPS med filter, 1 ml	04639642001
Tip CORE TIPS med filter, 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
Påse för fast avfall eller Påse för fast avfall med insats	07435967001 eller 08030073001

Extramaterial som behövs för systemen cobas® 6800/8800

Tabell 9 Material och förbrukningsartiklar för användning på systemen **cobas® 6800/8800**

Material	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
Påse för fast avfall och behållare för fast avfall eller Påse för fast avfall med insats och kit-låda	07435967001 och 07094361001 eller 08030073001 och 08387281001

Instrument och programvara som behövs

Programvaran till systemet **cobas**® 5800, programvaran till systemen **cobas**® 6800/8800 samt **cobas**® HBV-analyspaketet för systemen **cobas**® 5800/6800/8800 ska installeras.

För systemen **cobas**® 5800 och **cobas**® 6800/8800 med programvara 2.0 eller högre medföljer programvaran x800 Data Manager och en pc (eller server) systemet.

För systemen **cobas**® 6800/8800 med programversion 1.4 medföljer IG-servern (Instrument Gateway) systemen.

Tabell 10 Instrument

Utrustning	P/N
Systemet cobas ® 5800	08707464001
Systemet cobas ® 6800 (flyttbar plattform)	05524245001 och 06379672001
Systemet cobas ® 6800 (fast plattform)	05524245001, 06379664001 och 09575154001
Systemet cobas ® 8800	05412722001 och 09575146001
Provinmatningsmodul	06301037001 och 09936882001

Mer information finns i användarassistansen och/eller användarhandboken till systemet **cobas**® 5800 eller systemen **cobas**® 6800/8800.

Obs! Kontakta din representant från Roche om du vill ha en detaljerad beställningslista över provrack, rack för igensatta spetsar och rackbrickor som kan användas på instrumenten.

Försiktighetsåtgärder och information om hantering

Varningar och säkerhetsåtgärder

Liksom för alla testmetoder är det mycket viktigt att använda god laboratoriesed för att denna analys ska fungera korrekt. Med hänsyn till testets höga sensitivitet är noggrann hantering nödvändig så att reagens- och amplifieringsblandningarna hålls rena.

- Endast för *in vitro*-diagnostisk användning.
- **cobas® HBV** har inte utvärderats för användning som screeningtest för förekomst av HBV i blod eller blodprodukter, eller som diagnostiskt test för att bekräfta förekomst av HBV-infektion.
- Alla patientprover ska hanteras som smittbärande material i enlighet med säkra laboratorierutiner som beskrivs i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories och i CLSI-dokumentet M29-A4.^{19, 20} Endast personal som har erfarenhet av att hantera smittbärande material och att använda **cobas® HBV** och systemen **cobas® 5800** eller **cobas® 6800/8800** får utföra denna procedur.
- Allt material av humant ursprung ska betraktas som potentiellt smittbärande och hanteras enligt allmänna säkerhetsföreskrifter. Om spill sker, desinficera omedelbart med en färsk lösning bestående av natriumhypoklorit 0,5 % i destillerat eller avjoniserat vatten (hushållsblekmedel utspätt 1:10) eller följ de lokala rutinerna.
- **cobas® HBV/HCV/HIV-1-kontrollkitet** och **cobas® NHP negativ kontroll-kitet** innehåller plasma som härstammar från humant blod. Källmaterialet har testats med licensierade antikroppstester och befunnits icke-reaktivt för antikropp mot HCV, antikropp mot HIV-1/2, HBsAg och antikropp mot HBc. Testning av normal human plasma med PCR-metoder visade inte något detekterbart HIV-1-RNA (grupperna M och O), HIV-2-RNA, HCV-RNA och HBV-DNA. Det finns inga testmetoder som garanterar att produkter från humant blod inte kan överföra smitta.
- **Frys inte helblod eller prover som sparas i primärrör.**
- Använd endast de förbrukningsartiklar som medföljer eller efterfrågas för att säkerställa optimal testprestanda.
- Säkerhetsdatablad (SDS) erhålls på begäran från Roche kundsupport.
- Följ noga de rutiner och riktlinjer som medföljer för att säkerställa att testet utförs korrekt. Avvikelse från rutinerna och riktlinjerna kan göra att testets prestanda inte blir optimal.
- Falskt positiva resultat kan förekomma om kontrollen av carryover av prover är otillräcklig vid provhantering och -bearbetning.
- Informera berörd lokal myndighet om eventuella allvarliga incidenter som inträffar när du använder den här analysen.

Reagenshantering

- Hantera alla reagens, kontroller och prover enligt god laboratoriesed för att förhindra carryover av prover eller kontroller.
- Kontrollera varje reagenskassett, spädningslösning, lyseringsreagens och tvättreagens före användning och försäkra dig om att det inte finns tecken på läckage. Använd inte material om det finns tecken på läckage.
- **cobas omni Lysis Reagent** innehåller guanidintiocyanat, en potentiellt farlig kemikalie. Undvik att reagens kommer i kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Tvätta omedelbart med rikliga mängder vatten vid eventuell kontakt. Brännskador kan annars uppstå.

- **cobas® HBV**-testkitet, **cobas omni** MGP Reagent och **cobas omni** Specimen Diluent innehåller natriumazid som konserveringsmedel. Undvik att reagens kommer i kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Tvätta omedelbart med rikliga mängder vatten vid eventuell kontakt. Brännskador kan annars uppstå. Vid spill av dessa reagens, späd med vatten innan spillet torkas upp.
- Låt inte **cobas omni** Lysis Reagent, som innehåller guanidintiocyanat, komma i kontakt med natriumhypoklorit-lösning (blekmedel). Denna blandning kan bilda en mycket giftig gas.
- Kassera allt material som har kommit i kontakt med prover och reagens enligt gällande nationella, regionala och lokala föreskrifter.

God laboratoriesed

- Pipettera inte med munnen.
- Ät, drick eller rök inte i laboratoriet.
- Använd laboratoriehandskar, laboratorierock och ögonskydd när du hanterar prover och reagens. Handskar ska bytas mellan hantering av prover och **cobas® HBV**-kit och **cobas omni**-reagens för att förhindra kontaminering. Undvik att förorena handskena när du hanterar prover och kontroller.
- Tvätta händerna noga efter hantering av prover och kitets reagens, och efter att du har tagit av dig handskena.
- Rengör och desinficera noga alla arbetsytor i laboratoriet med en nyberedd lösning bestående av 0,5 % natriumhypoklorit i destillerat eller avjoniserat vatten (hushållsblekmedel utspätt 1:10). Torka därefter av ytan med 70-procentig etanol.
- Om spill förekommer på **cobas® 5800**-instrumentet ska anvisningarna i användarassistansen och/eller användarhandboken till systemet **cobas® 5800** följas för att rengöra och dekontaminera ytan på instrumentet på rätt sätt.
- Om spill förekommer på **cobas® 6800/8800**-instrumentet ska anvisningarna i användarassistansen och/eller användarhandboken till systemen **cobas® 6800/8800** följas för att rengöra och dekontaminera ytan på instrumentet på rätt sätt.

Provtagning, transport och förvaring av prover

Obs! Hantera alla prover och kontroller som potentiellt smittbärande.

Förvara alla prover vid de angivna temperaturerna.

Provernas hållbarhet påverkas vid förhöjda temperaturer.

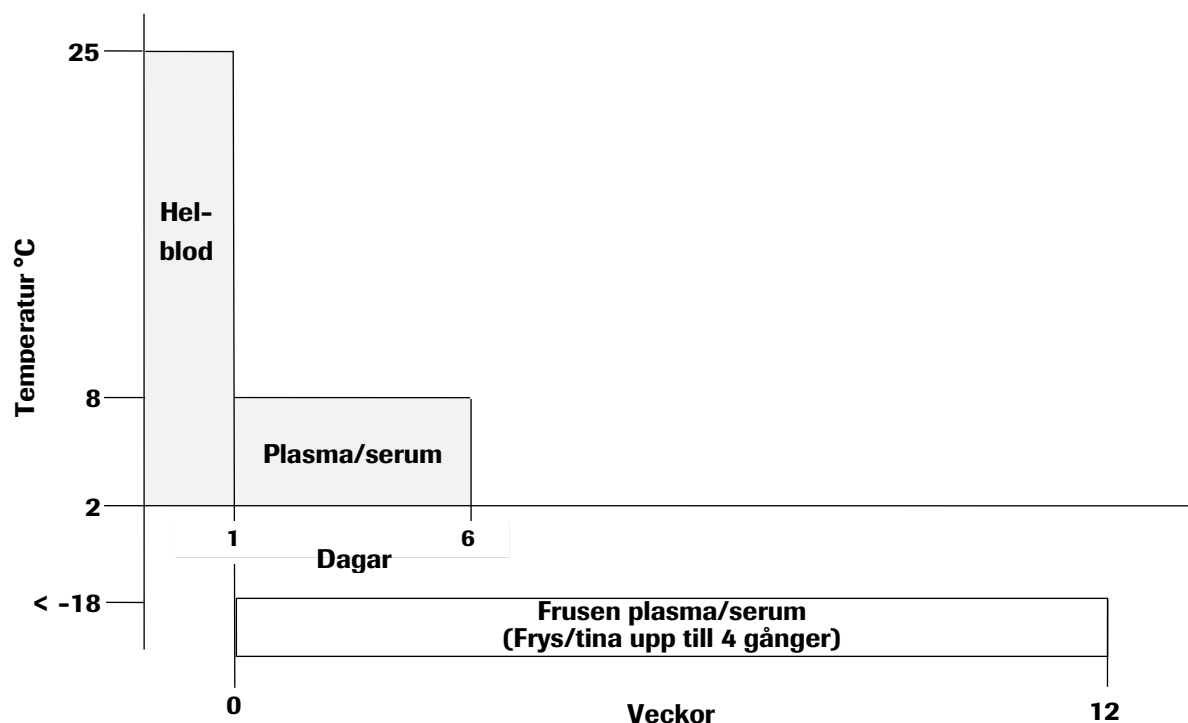
Om du använder frusna prover i sekundärrör placerar du proverna i rumstemperatur (15–30 °C) tills de är helt tinade, och sedan blandar du dem en kort stund (t.ex. genom att vortexa 3–5 sekunder) och centrifugerar dem för att samla hela provvolymen i botten av röret.

Prover

- Helblod ska samlas upp i SST™-serumseparationsrör, BD Vacutainer® PPT™-plasmapreparationsrör för molekyldiagnostiska testmetoder eller i sterila rör med EDTA som antikoagulant. Följ provrörstillverkarens instruktioner. Se Bild 1.
- Helblod som samlats in i SST™-serumseparationsrör, BD Vacutainer® PPT™-plasmapreparationsrör för molekyldiagnostiska testmetoder eller i sterila rör med EDTA som antikoagulant kan förvaras och/eller transporteras i upp till 24 timmar i 2 °C till 25 °C innan plasma-/serumpreparation. Centrifugering ska utföras enligt tillverkarens instruktioner.

- Efter separation kan plasma-/serumprover förvaras i sekundärrör i upp till 6 dagar i 2 °C till 8 °C eller i upp till 12 veckor i ≤ -18 °C.
- Vid längre förvaring i upp till 6 månader rekommenderas temperaturer på ≤ -60 °C.
- Plasma-/serumprover är hållbara i upp till fyra frys/tiningscykler om de fryses i ≤ -18 °C.

Bild 1 Villkor för provförvaring



- Om prover ska transporteras ska de förpackas och etiketteras i enlighet med nationella och/eller internationella föreskrifter för transport av prover och etiologiska agens.

Bruksanvisning

Anmärkningar om testet

- Använd inte **cobas**® HBV-testreagens, **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, **cobas**® NHP Negative Control Kit eller **cobas omni**-reagens efter utgångsdatum.
- Återanvänd inte förbrukningsartiklar. De är endast avsedda för engångsbruk.
- I användarassistenten och/eller användarhandboken till systemen **cobas**® 5800 eller **cobas**® 6800/8800 finns instruktioner om hur underhåll av instrumenten ska utföras.

Köra cobas® HBV på systemet cobas® 5800

Vid körning av cobas® HBV finns olika provvolymmer att välja mellan: 350 µl (för provarbetsflödet med 200 µl) och 650 µl (för provarbetsflödet med 500 µl). En detaljerad beskrivning av testproceduren finns i användarassistansen och/eller användarhandboken till systemet cobas® 5800. Bild 2 sammanfattar proceduren nedan.

Bild 2 cobas® HBV-testprocedur på systemet cobas® 5800

1	Logga in i systemet
2	Ladda prover i systemet: • Ladda provrack i systemet • Systemet förbereds automatiskt • Beställ tester
3	Fyll på reagens och förbrukningsartiklar vid uppmaning från systemet: • Ladda testspecifika reagenskassetter • Ladda kontroll-minirack • Ladda processpetsar • Ladda elueringspetsar • Ladda processplattor • Ladda vätskeavfallsplattor • Ladda amplifieringsplattor • Ladda MGP-kassett • Fyll på spädningsbuffert • Fyll på lyseringsreagens • Fyll på tvättreagens
4	Starta körningen genom att trycka på knappen "Start processing" (Starta bearbetning) i användargränssnittet. Alla efterföljande körningar startar automatiskt om de inte skjuts upp manuellt
5	Granska och exportera resultat
6	Förslut alla provrör som uppfyller kraven för minimivolymer för framtida användning om det behövs Gör i ordning instrumentet: • Mata ut tomma kontroll-minirack • Mata ut tomma testspecifika reagenskassetter • Töm lådan för amplifieringsplattan • Töm vätskeavfallet • Töm det fasta avfallet

Köra cobas® HBV på systemen cobas® 6800/8800

Krav för körning av cobas® HBV är två minimiprovolymer på 350 µl (för provarbetsflödet med 200 µl) och 650 µl (för provarbetsflödet med 500 µl). En detaljerad beskrivning av testproceduren finns i användarassistansen och/eller användarhandboken till cobas® 6800/8800. Bild 3 sammanfattar proceduren nedan.

Bild 3 cobas® HBV-testprocedur på systemen cobas® 6800/8800

1	Logga in i systemet Tryck på Start för att förbereda systemet Beställ tester
2	Fyll på reagens och förbrukningsartiklar vid uppmaning från systemet: • Ladda testspecifik reagenskasset • Ladda kontrollkassetter • Ladda pipettspetsar • Ladda processplattor • Ladda MGP-reagens • Ladda amplifieringsplattor • Fyll på spädningsbuffert • Fyll på lyseringsreagens • Fyll på tvättreagens
3	Ladda prover i systemet: • Ladda provrack och racket för igensatta spetsar på provinmatningsmodulen • Bekräfta att proverna har tagits emot i överföringsmodulen
4	Starta körningen genom att trycka på knappen "Start manually" (Starta manuellt) i användargränssnittet eller låt körningen starta automatiskt efter 120 minuter eller om provomgången är full
5	Granska och exportera resultat
6	Förslut alla provrör som uppfyller kraven för minimivolymer för framtida användning om det behövs Gör i ordning instrumentet: • Mata ut tomma kontrollkassetter • Töm lådan för amplifieringsplattan • Töm vätskeavfallet • Töm det fasta avfallet

Resultat

Systemet **cobas**® 5800 och systemen **cobas**® 6800/8800 fastställer automatiskt HBV-DNA-koncentrationen för proverna och kontrollerna. HBV DNA-koncentrationen uttrycks i internationella enheter per milliliter (IU/ml).

Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på systemet **cobas**® 5800 och systemen **cobas**® 6800/8800 med programversion 2.0 eller högre

- En negativ kontroll [(-) C] och två positiva kontroller, en lågpositiv kontroll [HBV L(+)C] och en högpositiv kontroll [HBV H(+)C] bearbetas minst var 72:a timme eller i varje ny kitlot. Positiva och/eller negativa kontroller kan schemaläggas mer frekvent baserat på laboratorierutinerna och/eller de gällande lokala bestämmelserna.
- I programvaran och/eller rapporten ska du kontrollera om det finns flaggor till resultaten för att säkerställa giltigheten för provomgången (i användarassistenten till x800 Data Manager finns en "Lista med flaggkoder").
- Provomgången är giltig om inga flaggor visas för samtliga tre kontroller, vilket inkluderar en negativ kontroll och två positiva kontroller: HBV L(+)C, HBV H(+)C. Resultatet för den negativa kontrollen visas som (-) C och den lågpositiva och högpositiva kontrollen visas som HxV L(+)C och HxV H(+)C.

Ogiltigförklarande av resultat utförs automatiskt av instrumentet baserat på misslyckade negativa eller positiva kontroller.

OBS! Systemet **cobas**® 5800 och systemen **cobas**® 6800/8800 med programversion 2.0 eller högre levereras med standardinställningen för körning av en uppsättning kontroller (positiva och negativa) i varje körning, men kan konfigureras till ett mindre frekvent körschema på upp till var 72:a timme, baserat på laboratorierutinerna och/eller de gällande lokala bestämmelserna. Kontakta Roche kundsupport om du vill ha mer information.

Kontrollresultat för systemen **cobas**® 5800 och **cobas**® 6800/8800 med programversion 2.0 eller högre

Resultaten för kontrollerna visas i programvaran i appen "Controls".

- Kontroller är markerade med "Valid" (Giltig) i kolumnen "Control result" (Kontrollresultat) om alla targets för kontrollen har rapporterats som giltiga. Kontroller är markerade med "Invalid" (Ogiltig) i kolumnen "Control result" om alla targets eller en target för kontrollen har rapporterats som ogiltig.
- Kontroller som är markerade med "Invalid" har en flagga i kolumnen "Flags" (Flaggor). Mer information om varför kontrollen har rapporterats som ogiltig (inklusive flagginformation) visas i vyn med detaljerad information.
- Om en av de positiva kontrollerna är ogiltig upprepar du testningen av alla positiva kontroller och alla associerade prover. Om den negativa kontrollen är ogiltig upprepar du testningen av alla kontroller och alla associerade prover.

Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på systemen cobas® 6800/8800 med programversion 1.4

- En negativ kontroll [(-) C] och två positiva kontroller, en lågpositiv kontroll [HBV L(+)C] och en högpositiv kontroll [HBV H(+)C] bearbetas i varje provomgång.
- Kontrollera om det finns flaggor till resultaten i programvaran i systemen cobas® 6800/8800 och/eller i rapporterna för att säkerställa giltigheten för provomgången.
- Provomgången är giltig om inga flaggor visas för samtliga tre kontroller, vilket inkluderar en negativ kontroll och två positiva kontroller: HBV L(+)C, HBV H(+)C. Resultatet för den negativa kontrollen visas som (-) C och den lågpositiva och högpositiva kontrollen visas som HxV L(+)C och HxV H(+)C.

Ogiltigförklarande av resultat utförs automatiskt av cobas® 6800/8800-programmet baserat på misslyckade negativa och positiva kontroller.

Kontrollflaggor på systemen cobas® 6800/8800 med programversion 1.4

Tabell 11 Kontrollflaggor för negativa och positiva kontroller

Negativ kontroll	Flagga	Resultat	Betydelse
(-) C	Q02 (Misslyckad kontrollomgång)	Invalid	Ett ogiltigt resultat eller det beräknade titerresultatet för den negativa kontrollen är inte negativt.
Positiv kontroll	Flagga	Resultat	Betydelse
HxV L (+) C	Q02 (Misslyckad kontrollomgång)	Invalid	Ett ogiltigt resultat eller det beräknade titerresultatet för den lågpositiva kontrollen ligger inte inom det tilldelade intervallet.
HxV H (+) C	Q02 (Misslyckad kontrollomgång)	Invalid	Ett ogiltigt resultat eller det beräknade titerresultatet för den högpositiva kontrollen ligger inte inom det tilldelade intervallet.

Om omgången är ogiltig måste du upprepa testningen av hela omgången inklusive prover och kontroller.

HxV L(+)C står för cobas® HBV/HCV/HIV-1 lågpositiv kontroll och HxV H(+)C står för cobas® HBV/HCV/HIV-1 högpositiv kontroll i cobas® 6800/8800-programmet.

Tolkning av resultat för systemen cobas® 5800/6800/8800

För en giltig kontrollomgång ska varje enskilt prov kontrolleras avseende flaggor i programvaran till systemen cobas® 5800 och cobas® 6800/8800 och/eller i rapporterna. Tolkningen av resultaten ska göras på följande sätt:

- En giltig omgång kan innehålla både giltiga och ogiltiga provresultat.

Tabell 12 Tolkning av enskilda target-resultat

Resultat	Betydelse
Target Not Detected	HBV-DNA inte detekterat. Rapportera resultat som "HBV inte detekterat".
< Titer Min	Beräknad titer ligger under analysens nedre kvantifieringsgräns (LLOQ). Rapportera resultat som "HBV detekterat, mindre än (Titer Min)". Titer min = 10 IU/ml (500 µl) Titer min = 25 IU/ml (200 µl)
Titer	Beräknad titer ligger inom analysens linjära intervall – större än eller lika stor som Titer Min och mindre än eller lika stor som Titer Max. Rapportera resultat som "(Titer) av HBV detekterad".
> Titer Max ^a	Beräknad titer ligger över analysens övre kvantifieringsgräns (ULOQ). Rapportera resultat som "HBV detekterat, större än (Titer Max)". Titer max = 1,00E+09 IU/ml (500 µl och 200 µl)

^a Provresultat > Titer Max hänvisar till HBV-positiva prover som detekterats med titrar över analysens övre kvantifieringsgräns (ULOQ). Om ett kvantitativt resultat önskas ska det ursprungliga provet spädas med HBV-negativ EDTA-plasma eller serum, beroende på det ursprungliga provets typ, och testet upprepas. Multiplicera det rapporterade resultatet med spädningsfaktorn.

Tolkning av resultat på systemen cobas® 5800 och cobas® 6800/8800 med programversion 2.0 eller högre

Resultaten för proverna visas i programvaran i appen "Results".

För en giltig kontrollomgång ska varje enskilt prov kontrolleras avseende flaggor i programvaran och/eller i rapporten. Tolkningen av resultaten ska göras på följande sätt:

- Prover associerade med en giltig kontrollomgång visas som "Valid" (Giltig) i kolumnen "Control result" (Kontrollresultat) om alla kontrolltargetresultat har rapporterats som giltiga. Prover associerade med en misslyckad kontrollomgång visas som "Invalid" (Ogiltig) i kolumnen "Control result" om alla kontrolltargetresultat har rapporterats som ogiltiga.
- Om de associerade kontrollerna för ett provresultat är ogiltiga läggs en specifik flagga till enligt följande:
 - Q05D: Fel vid resultatvalidering på grund av en ogiltig positiv kontroll
 - Q06D: Fel vid resultatvalidering på grund av en ogiltig negativ kontroll
- Värdena i kolumnen "Results" (Resultat) för enskilda prov-target-resultat ska tolkas enligt Tabell 12 ovan.
- Om ett eller flera provtarget(s) har markerats med "Invalid" (Ogiltig) visar programvaran en flagga i kolumnen "Flags" (Flaggor). Mer information om varför provtarget(s) har rapporterats som ogiltiga (inklusive flagg-information) visas i vyn med detaljerad information.

Tolkning av resultat på systemen cobas® 6800/8800 med programversion 1.4

För en giltig omgång ska varje enskilt prov kontrolleras avseende flaggor i programvaran i systemen **cobas®** 6800/8800 och/eller i rapporten. Tolkningen av resultaten ska göras på följande sätt:

- Prover markeras med "Yes" i kolumnen "Valid" om alla begärda targetresultat rapporterade giltiga resultat. Prover som markeras med "No" i kolumnen "Valid" kan behöva tolkas och åtgärdas ytterligare.
- Värdena för enskilda provtargetresultat ska tolkas enligt Tabell 12 ovan.

Testets begränsningar

- **cobas®** HBV har endast validerats för användning tillsammans med **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, **cobas®** NHP Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent och **cobas omni** Wash Reagent för användning på systemen **cobas®** 5800/6800/8800.
- Tillförlitliga resultat förutsätter rätt provtagning, förvaring och hantering av prover.
- Detta test har endast validerats för användning med EDTA-plasma och serum. Testning av andra provtyper kan resultera i felaktiga resultat.
- Kvantifiering av HBV-DNA är beroende av antalet viruspartiklar i provet och kan påverkas av provtagningsmetoder, patientfaktorer (dvs. ålder, förekomst av symptom) och/eller infektionsstadium.
- I sällsynta fall kan mutationer inom de maximalt konserverade regionerna på ett virusgenom som täcks in av **cobas®** HBV påverka primer- och/eller probbindning, vilket resulterar i för låg kvantifiering av virus eller misslyckad detektering av förekomst av virus.
- På grund av inneboende skillnader mellan metoder rekommenderas användaren, innan en metod byts ut mot en annan, att genomföra metodkorrelationsanalyser i laboratoriet för att bestämma skillnaderna mellan metoderna. Användarna ska följa sina egna specifika regler och procedurer.
- **cobas®** HBV är inte avsett att användas som screeningtest för förekomst av HBV i blod eller blodprodukter eller som ett diagnostiskt test för att bekräfta förekomst av HBV-infektion.

Utvärdering av icke-klinisk prestanda

Viktiga prestandaegenskaper på systemen cobas® 6800/8800

Detektionsgräns (LoD)

WHO:s internationella standard

Detektionsgränsen för cobas® HBV fastställdes genom analys av seriella spädningar av WHO:s internationella standard för hepatit B-virus-DNA för NAT-testning (Nucleic Acid Amplification Technology, WHO:s andra internationella standard), genotyp A, erhållet från National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC), i HBV-negativ human EDTA-plasma och serum med provbearbetningsvolymerna på 500 µl och 200 µl. Paneler med åtta koncentrationsnivåer plus ett negativt prov testades med provbearbetningsvolymen 500 µl och nio koncentrationsnivåer testades med provbearbetningsvolymen 200 µl, med tre loter av cobas® HBV-testreagens, under flera körningar och dagar och med olika användare och instrument.

Resultaten för EDTA-plasma och serum från båda provbearbetningsvolymerna visas i Tabell 13 till Tabell 16. Studien visar att cobas® HBV detekterade HBV-DNA vid en koncentration på 3 IU/ml med en träffsannolikhet på $\geq 95\%$ för provbearbetningsvolymen 500 µl och vid en koncentration på 17,5 IU/ml med en träffsannolikhet på $\geq 95\%$ för provbearbetningsvolymen 200 µl i EDTA-plasma. För serum visade studien att cobas® HBV detekterade HBV-DNA vid en koncentration på 3 IU/ml med en träffsannolikhet på $\geq 95\%$ för provbearbetningsvolymen 500 µl och vid en koncentration på 15 IU/ml med en träffsannolikhet på $\geq 95\%$ för provbearbetningsvolymen 200 µl.

Tabell 13 Detektionsgräns i EDTA-plasma (500 µl)

Input-koncentration för titer (HBV-DNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i %
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
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet	2,7 IU/ml 95 % konfidensintervall: 2,4–3,1 IU/ml		

Tabell 14 Detektionsgräns i serum (500 µl)

Input-koncentration för titer (HBV-DNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i %
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
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet	2,4 IU/ml 95 % konfidensintervall: 2,0–2,7 IU/ml		

Tabell 15 Detektionsgräns i EDTA-plasma (200 µl)

Input-koncentration för titer (HBV-DNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i %
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
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet	15,5 IU/ml 95 % konfidensintervall: 14,4–16,9 IU/ml		

Tabell 16 Detektionsgräns i serum (200 µl)

Input-koncentration för titer (HBV-DNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i %
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
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet	12,5 IU/ml 95 % konfidensintervall: 11,6–13,8 IU/ml		

Linjärt intervall

Studien av linjäritet för **cobas**® HBV utfördes med hjälp av en spädningsserie som bestod av 15 panelprover som omfattade det linjära intervallet för den dominerande genotypen (GT A). Panelprover med hög titer preparerades från en HBV plasmid-DNA-stam med hög titer, medan panelprover med låg titer preparerades från ett kliniskt prov. Linjäritetspanelen utformades så att den hade en ungefärlig överlappning om 2 log₁₀ titer mellan de två materialkällorna. Det förväntade linjära intervallet för **cobas**® HBV är från LLoQ (10 IU/ml i 500 µl bearbetningsvolym och 25 IU/ml i 200 µl bearbetningsvolym) till ULoQ (1,00E+09 IU/ml). Linjäritetspanelen utformades för ett intervall från en koncentration lägre än LLoQ (till exempel 7,5 IU/ml) till en koncentrationsnivå högre än ULoQ (till exempel 2,0E+09 IU/ml), och för att inkludera medicinska beslutpunkter. Dessutom utformades linjäritetspanelen för att delvis stödja steg om 1,0 log₁₀ genom det linjära intervallet. För varje panelprov var den nominella koncentrationen i IU/ml och källan för HBV-DNA kända.

Med provbearbetningsvolymen 500 µl är **cobas**® HBV linjärt för EDTA-plasma och serum från 10 IU/ml till 1,00E+09 IU/ml och visar en absolut avvikelse från den bättre passande icke-linjära regressionen på mindre än ±0,2 log₁₀. Över hela det linjära intervallet var noggrannheten för testet inom ±0,24 log₁₀.

Med provbearbetningsvolymen 200 µl är **cobas**® HBV linjärt för EDTA-plasma och serum från 25 IU/ml till 1,00E+09 IU/ml och visar en absolut avvikelse från den bättre passande icke-linjära regressionen på mindre än ±0,2 log₁₀. Över hela det linjära intervallet var noggrannheten för testet inom ±0,24 log₁₀.

I Bild 4 till Bild 7 visas representativa resultat.

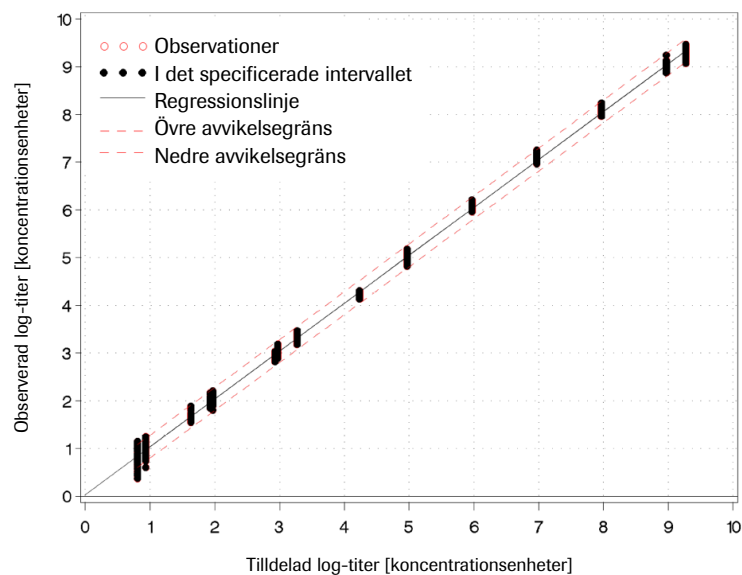
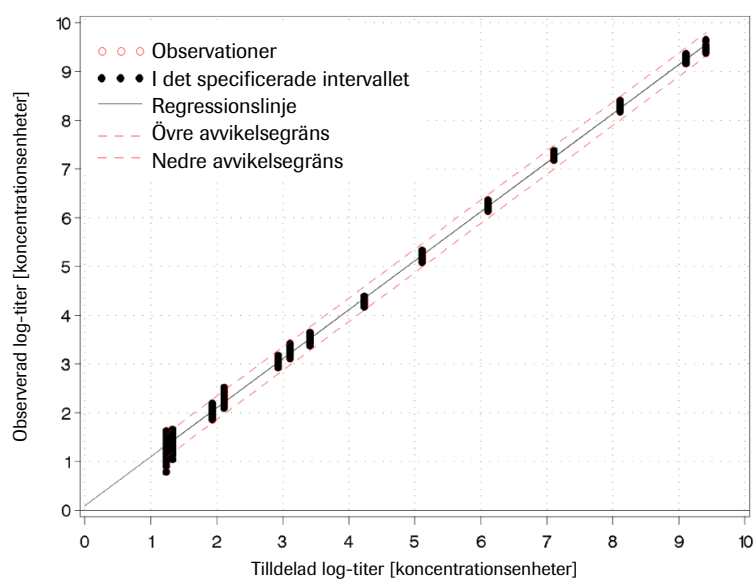
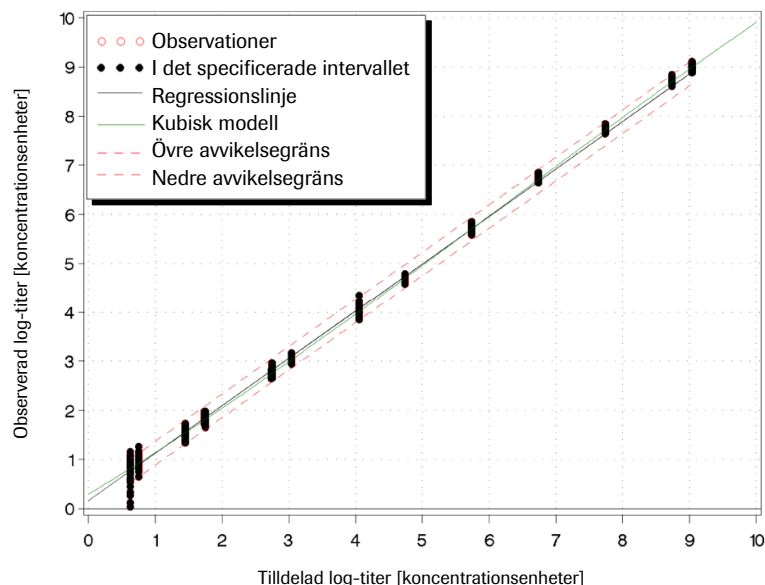
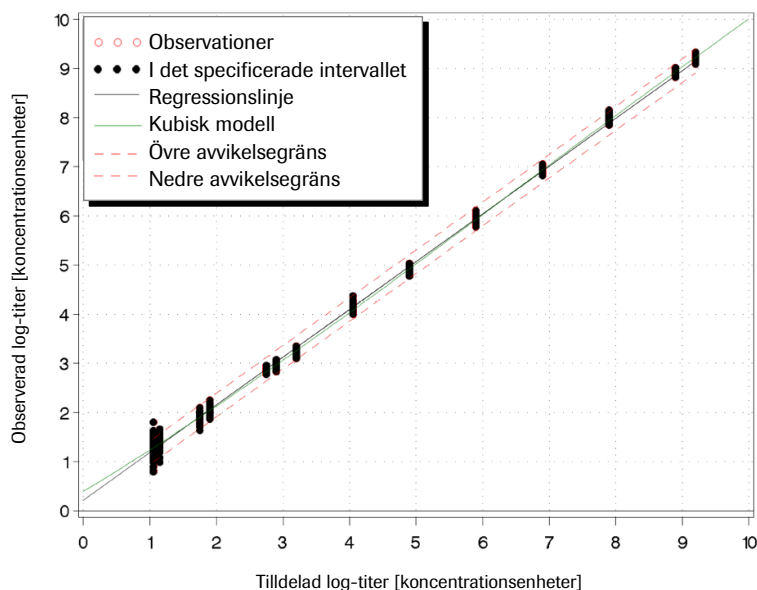
Bild 4 Bestämning av linjärt intervall i EDTA-plasma (500 µl)**Bild 5** Bestämning av linjärt intervall i EDTA-plasma (200 µl)

Bild 6 Bestämning av linjärt intervall i serum (500 µl)**Bild 7** Bestämning av linjärt intervall i serum (200 µl)

Precision – inom laboratoriet

Precisionen för **cobas**® HBV bestämdes genom analys av seriella spädningar av kliniska HBV-prover (genotyp A) eller av HBV plasmid-DNA i HBV-negativ EDTA-plasma eller i serum. 10 till 12 spädningsnivåer testades i 48 replikat för varje nivå och bearbetningsvolym över tre loter av **cobas**® HBV-testreagens med tre instrument och tre användare under 12 dagar. Varje prov genomgick hela **cobas**® HBV-testproceduren på det helt automatiska systemen **cobas**® 6800/8800. Därför representerar den precision som anges här alla aspekter av testproceduren. Resultaten visas i Tabell 17 till Tabell 20.

cobas® HBV visade hög precision för tre reagensloter som testades i ett koncentrationsintervall från 5,00E+01 IU/ml till 1,0E+09 IU/ml med 500 µl provbearbetningsvolym och 1,00E+02 IU/ml till 1,0E+08 IU/ml (EDTA-plasma) och 1,0E+09 IU/ml (serum) med 200 µl provbearbetningsvolym.

Tabell 17 Precision inom laboratoriet för cobas® HBV (EDTA-plasmaprover – provbearbetningsvolym 500 µl)*

Nominell koncentration (IU/ml)	Tilldelad koncentration (IU/ml)	Källmaterial	EDTA-plasma			
			Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alla loter
			SD	SD	SD	Poolad SD
1,00E+09	9,32E+08	Plasmid-DNA	0,04	0,07	0,09	0,07
1,00E+08	9,32E+07	Plasmid-DNA	0,04	0,08	0,05	0,06
1,00E+07	9,32E+06	Plasmid-DNA	0,06	0,05	0,04	0,05
1,00E+06	9,32E+05	Plasmid-DNA	0,06	0,07	0,04	0,06
1,00E+05	9,32E+04	Plasmid-DNA	0,06	0,06	0,07	0,06
2,00E+04	1,71E+04	Kliniskt prov	0,05	0,03	0,03	0,04
2,00E+03	1,86E+03	Plasmid-DNA	0,05	0,04	0,07	0,05
1,00E+03	8,54E+02	Kliniskt prov	0,04	0,05	0,04	0,04
1,00E+03	9,32E+02	Plasmid-DNA	0,06	0,06	0,05	0,06
1,00E+02	8,54E+01	Kliniskt prov	0,07	0,08	0,07	0,07
1,00E+02	9,32E+01	Plasmid-DNA	0,10	0,08	0,09	0,09
5,00E+01	4,27E+01	Kliniskt prov	0,09	0,04	0,08	0,08

* Titerdata anses ha fördelats log-normalt och analyseras efter omvandling enligt log₁₀. I kolumnerna för standardavvikelse (SD) visas totalvärdet för den log-omvandlade titern för var och en av de tre reagensloterna.

Tabell 18 Precision inom laboratoriet för cobas® HBV (serumprover – provbearbetningsvolym 500 µl)*

Nominell koncentration (IU/ml)	Tilldelad koncentration (IU/ml)	Källmaterial	Serum			
			Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alla loter
			SD	SD	SD	Poolad SD
1,00E+09	5,47E+08	Plasmid-DNA	0,05	0,06	0,03	0,05
1,00E+08	5,47E+07	Plasmid-DNA	0,03	0,04	0,03	0,04
1,00E+07	5,47E+06	Plasmid-DNA	0,05	0,05	0,03	0,05
1,00E+06	5,47E+05	Plasmid-DNA	0,04	0,06	0,06	0,05
1,00E+05	5,47E+04	Plasmid-DNA	0,04	0,03	0,03	0,04
2,00E+04	1,12E+04	Kliniskt prov	0,10	0,07	0,08	0,08
2,00E+03	1,09E+03	Plasmid-DNA	0,05	0,05	0,03	0,05
1,00E+03	5,62E+02	Kliniskt prov	0,03	0,14	0,03	0,09
1,00E+03	5,47E+02	Plasmid-DNA	0,04	0,05	0,04	0,04
1,00E+02	5,62E+01	Kliniskt prov	0,09	0,06	0,07	0,07
1,00E+02	5,47E+01	Plasmid-DNA	0,05	0,07	0,04	0,06
5,00E+01	2,81E+01	Kliniskt prov	0,07	0,06	0,10	0,08

* Titerdata anses ha fördelats log-normalt och analyseras efter omvandling enligt log₁₀. I kolumnerna för standardavvikelse (SD) visas totalvärdet för den log-omvandlade titern för var och en av de tre reagensloterna.

Tabell 19 Precision inom laboratoriet för **cobas®** HBV (EDTA-plasmaprover – provbearbetningsvolym 200 µl)*

Nominell koncentration (IU/ml)	Tilldelad koncentration (IU/ml)	Källmaterial	EDTA-plasma			
			Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alla loter
			SD	SD	SD	Poolad SD
1,00E+08	1,28E+08	Plasmid-DNA	0,04	0,05	0,03	0,04
1,00E+07	1,28E+07	Plasmid-DNA	0,06	0,04	0,02	0,04
1,00E+06	1,28E+06	Plasmid-DNA	0,03	0,04	0,04	0,03
1,00E+05	1,28E+05	Plasmid-DNA	0,02	0,06	0,05	0,05
2,00E+04	1,71E+04	Kliniskt prov	0,03	0,05	0,03	0,04
2,00E+03	2,57E+03	Plasmid-DNA	0,05	0,06	0,05	0,05
1,00E+03	8,54E+02	Kliniskt prov	0,07	0,05	0,03	0,05
1,00E+03	1,28E+03	Plasmid-DNA	0,06	0,07	0,03	0,05
1,00E+02	8,54E+01	Kliniskt prov	0,09	0,09	0,07	0,09
1,00E+02	1,28E+02	Plasmid-DNA	0,06	0,09	0,11	0,09

* Titerdata anses ha fördelats log-normalt och analyseras efter omvandling enligt $\log_{10}$. I kolumnerna för standardavvikelse (SD) visas totalvärdet för den log-omvandlade titern för var och en av de tre reagensloterna.

Tabell 20 Precision inom laboratoriet för **cobas®** HBV (serumprover – provbearbetningsvolym 200 µl)*

Nominell koncentration (IU/ml)	Tilldelad koncentration (IU/ml)	Källmaterial	Serum			
			Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alla loter
			SD	SD	SD	Poolad SD
1,00E+09	7,92E+08	Plasmid-DNA	0,04	0,03	0,03	0,04
1,00E+08	7,92E+07	Plasmid-DNA	0,07	0,05	0,06	0,06
1,00E+07	7,92E+06	Plasmid-DNA	0,04	0,03	0,04	0,04
1,00E+06	7,92E+05	Plasmid-DNA	0,03	0,05	0,04	0,04
1,00E+05	7,92E+04	Plasmid-DNA	0,06	0,07	0,03	0,06
2,00E+04	1,12E+04	Kliniskt prov	0,16	0,08	0,03	0,11
2,00E+03	1,58E+03	Plasmid-DNA	0,05	0,04	0,05	0,05
1,00E+03	5,62E+02	Kliniskt prov	0,07	0,04	0,04	0,05
1,00E+03	7,92E+02	Plasmid-DNA	0,07	0,05	0,06	0,06
1,00E+02	5,62E+01	Kliniskt prov	0,09	0,10	0,07	0,09
1,00E+02	7,92E+01	Plasmid-DNA	0,08	0,09	0,09	0,08

* Titerdata anses ha fördelats log-normalt och analyseras efter omvandling enligt $\log_{10}$. I kolumnerna för standardavvikelse (SD) visas totalvärdet för den log-omvandlade titern för var och en av de tre reagensloterna.

Bestämning av genotyp och verifiering

Prestandan för **cobas**® HBV på HBV-genotyper utvärderades genom:

- Bestämning av detektionsgränsen för genotyperna B till H och den dominerande precore-mutanten med EDTA-plasma och serum för provbearbetningsvolymen 500 µl.
- Verifiering av detektionsgränsen för genotyperna B till H och den dominerande precore-mutanten med EDTA-plasma och serum för provbearbetningsvolymen 200 µl.
- Verifiering av linjäriteten för genotyperna B till H och den dominerande precore-mutanten

Detektionsgränsen för genotyperna B till H och den dominerande precore-mutanten

Detektionsgränsen för **cobas**® HBV fastställdes genom analys av seriella spädningar av sju olika genotyper (B, C, D, E, F, G, H) och den dominerande precore-mutanten (G1896A; C1858T) i HBV-negativ human EDTA-plasma och serum med provbearbetningsvolymen på 500 µl. Paneler med åtta koncentrationer plus ett negativt prov testades med tre loter av **cobas**® HBV-testreagens under flera körningar och dagar och med olika användare och instrument.

Resultaten för EDTA-plasma och serum för provbearbetningsvolymen 500 µl visas i Tabell 21 respektive Tabell 22.

Studien visar att **cobas**® HBV detekterade alla HBV-genotyper som testades med en liknande LoD som HBV-genotyp A.

Tabell 21 Detektionsgräns för HBV-DNA-genotyp i EDTA-plasma (500 µl)

Genotyp	95 % LoD med PROBIT	95-procentigt konfidensintervall
GT B	3,45 IU/ml	2,95–4,32 IU/ml
GT C	4,13 IU/ml	3,32–5,82 IU/ml
GT D	4,52 IU/ml	3,59–6,49 IU/ml
GT E	3,21 IU/ml	2,76–3,98 IU/ml
GT F	1,87 IU/ml	1,66–2,24 IU/ml
GT G	2,49 IU/ml	2,17–3,02 IU/ml
GT H	6,55 IU/ml	5,33–8,77 IU/ml
Pcore-mutant	2,38 IU/ml	2,08–2,90 IU/ml

Tabell 22 Detektionsgräns för HBV-DNA-genotyp i serum (500 µl)

Genotyp	95 % LoD med PROBIT	95-procentigt konfidensintervall
GT B	3,30 IU/ml	2,76–4,30 IU/ml
GT C	3,34 IU/ml	2,83–4,23 IU/ml
GT D	2,59 IU/ml	2,17–3,42 IU/ml
GT E	2,67 IU/ml	2,25–3,49 IU/ml
GT F	1,98 IU/ml	1,72–2,45 IU/ml
GT G	2,07 IU/ml	1,75–2,66 IU/ml
GT H	3,48 IU/ml	2,89–4,60 IU/ml
Pcore-mutant	1,65 IU/ml	1,43–2,03 IU/ml

Verifiering av detektionsgränsen för genotyperna B till H och den dominerande precore-mutanten

Kliniska HBV-DNA-prover från alla genotyper (B, C, D, E, F, G, H) och den dominerande precore-mutanten (G1896A; C1858T) späddes till tre olika koncentrationsnivåer i EDTA-plasma och serum. Bestämning av träffsannolikheten utfördes med 63 replikat för varje nivå. Testningen utfördes med tre loter av **cobas®** HBV-reagens. Resultaten från EDTA-plasma och serum med 200 µl visas i Tabell 23 och Tabell 24. De här resultaten bekräftar att **cobas®** HBV detekterade HBV-DNA för de sju olika genotyperna och den dominerande precore-mutanten vid koncentrationer på 12,50 IU/ml med en träffsannolikhet på $\geq 93,65$ %, med ett övre ensidigt 95-procentigt konfidensintervall på 97,80 %.

Tabell 23 Verifiering av detektionsgräns för HBV-DNA-genotyp i EDTA-plasma (200 µl)

Genotyp	6,25 IU/ml			12,50 IU/ml			18,75 IU/ml		
	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i % (95 % KI*)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i % (95 % KI*)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i % (95 % KI*)
B	63	51	80,95 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
C	63	45	71,43 (80,65)	63	62	98,41 (99,92)	62	62	100,00 (100,00)
D	61	49	80,33 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	62	61	98,39 (99,92)
E	63	51	80,95 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
F	63	54	85,71 (92,34)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
G	63	46	73,02 (82,02)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
H	63	33	52,38 (63,26)	63	59	93,65 (97,80)	63	59	93,65 (97,80)
Precore-mutant	63	54	85,71 (92,34)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)

* Övre ensidigt 95 % konfidensintervall

Tabell 24 Verifiering av detektionsgräns för HBV-DNA-genotyp i serum (200 µl)

Genotyp	6,25 IU/ml			12,50 IU/ml			18,75 IU/ml		
	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffs-annolikhet i % (95 % KI*)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffs-annolikhet i % (95 % KI*)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffs-annolikhet i % (95 % KI*)
B	63	51	80,95 (88,63)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
C	63	54	85,71 (92,34)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
D	63	53	84,13 (91,13)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
E	63	54	85,71 (92,34)	62	62	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
F	63	59	93,65 (97,80)	63	63	100,00 (100,00)	62	62	100,00 (100,00)
G	63	59	93,65 (97,80)	62	62	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
H	63	47	74,60 (83,37)	63	61	96,83 (99,43)	63	62	98,41 (99,92)
Precore-mutant	63	60	95,24 (98,66)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)

* Övre ensidigt 95 % konfidensintervall

Linjäriteten för genotyperna B till H och den dominerande precore-mutanten

Spädningsserierna som användes i studien för verifiering av linjäritet för genotyper i **cobas**® HBV består av 10 panelprover som täcker in det avsedda linjära intervallet. Panelprover med hög titer preparerades från en plasmid-DNA-stam med hög titer, medan panelprover med låg titer preparerades från ett kliniskt prov med hög titer. Linjäritetspanelen utformades så att den hade en ungefärlig överlappning om 2 log₁₀ titer mellan de två materialkällorna. Det linjära intervallet för **cobas**® HBV sträckte sig från under LLoQ (10 IU/ml för en provbearbetningsvolym om 500 µl, 25 IU/ml för en bearbetningsvolym om 200 µl) till ULoQ (1,00E+09 IU/ml) och inkluderade minst en medicinsk beslutspunkt. Här testades 21 replikat över tre loter av **cobas**® HBV-reagens för varje nivå i EDTA-plasma och serum.

Linjäriteten inom det linjära intervallet för **cobas**® HBV verifierades för alla sju genotyperna (B, C, D, E, F, G, H) och den dominerande precore-mutanten (G1896A; C1858T). Den maximala avvikelser mellan den linjära regressionen och den bättre passande icke-linjära regressionen var lika stor som eller mindre än ±0,2 log₁₀.

Specificitet

Specificiteten för cobas® HBV bestämdes genom analys av HBV-negativa EDTA-plasmaprover och serumprover från enskilda blodgivare. Här testades 300 enskilda EDTA-plasmaprover och 300 enskilda serumprover (totalt 600 resultat) med två loter av cobas® HBV-reagens. Alla prover testades som negativa för HBV-DNA. I testpanelen var specificiteten för cobas® HBV 100 % (med ett ensidigt 95-procentigt konfidensintervall på 99,5 %).

Analytisk specificitet

Den analytiska specificiteten för cobas® HBV utvärderades genom att späda en panel med mikroorganismer med HBV-DNA-positiv och HBV-DNA-negativ EDTA-plasma. Mikroorganismerna tillsattes i negativ human EDTA-plasma och testades med och utan HBV DNA. Inga av icke-HBV-patogenerna interfererade med testets prestanda. Negativa resultat erhöles med cobas® HBV för alla mikroorganismprover utan HBV-mål och positiva resultat erhöles för alla mikroorganismprover med HBV-mål. Dessutom var den genomsnittliga log₁₀-titern för vart och ett av de positiva HBV-proverna som innehöll potentiellt korsreagerande organismer inom $\pm 0,3 \log_{10}$ för den genomsnittliga log₁₀-titern för den respektive positiva spikade kontrollen.

Tabell 25 Mikroorganismer som testades för korsreaktivitet

Virus		Bakterier	Svamp
Adenovirus typ 5	Västra Nilen-virus	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovirus	St. Louis-encefalitvirus	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Hepatit A-virus	Dengue-virus typ 1, 2, 3 och 4	-	-
Hepatit C-virus	FSME-virus (stam HYPR)	-	-
Hepatit D-virus	Gula febern-virus	-	-
Humant immunbristvirus 1	Humant papillomavirus	-	-
Humant T-cellymfotropvirus typ 1 och 2	Varicella-zoster-virus	-	-
Humant herpesvirus typ 6	Influensa A	-	-
Herpes simplex-virus typ 1 och 2	Zika-virus	-	-

Analytisk specificitet – interfererande substanser

Förhöjda nivåer av triglycerider (34,5 g/l), konjugerat bilirubin (0,25 g/l), okonjugerat bilirubin (0,25 g/l), albumin (58,7 g/l), hemoglobin (2,9 g/l) och humant DNA (2 mg/l) i proverna har testats vid förekomst och avsaknad av HBV-DNA. De testade endogena interferenserna visades inte interferera med testprestandan för **cobas® HBV**.

Dessutom testades förekomst av autoimmuna sjukdomar som systemisk lupus erythematosus (SLE), reumatoid artrit (RA) och antinukleära antikroppar.

Dessutom testades läkemedelsföreningarna som listas i Tabell 26 vid 3 gånger $C_{\max}$ vid förekomst och avsaknad av HBV-DNA.

Alla potentiellt interfererande substanser har visats inte interferera med testets prestanda. Negativa resultat erhöles med **cobas® HBV** för alla prover utan HBV-mål och positiva resultat erhöles för alla prover med HBV-mål. Dessutom var den genomsnittliga $\log_{10}$ -titern för vart och ett av de positiva HBV-proverna som innehöll potentiellt interfererande substanser inom $\pm 0,5 \log_{10}$ för den genomsnittliga $\log_{10}$ -titern för den respektive positiva spikade kontrollen.

Tabell 26 Läkemedelsföreningar testade för interferens med kvantifiering av HBV-DNA med **cobas® HBV**

Läkemedelsgrupp	Generiskt läkemedelsnamn	
Immunmodulatorer	Peginterferon α -2a	Peginterferon α -2b
	Ribavirin	-
HIV-inträdeshämmare	Maraviroc	
HIV-integrashämmare	Elvitegravir/kobicistat	Raltegravir
Icke-nukleosid HIV omvänt transkriptas-hämmare	Efavirenz	Nevirapin
	Etravirin	Rilpivirin
HIV-proteashämmare	Atazanavir	Lopinavir
	Tipranavir	Nelfinavir
	Darunavir	Ritonavir
	Fosamprenavir	Sakvinavir
HCV-proteashämmare	Boceprevir	Telaprevir
	Simeprevir	-
Omvänt transkriptas- eller DNA polymeras-hämmare	Abacavir	Tenofovir
	Emtricitabin	Adefovir dipivoxil
	Entecavir	Telbivudin
	Foskarnet	Zidovudin
	Cidofovir	Aciclovir
	Lamivudin	Valganciclovir
	Ganciklovir	Sofosbuvir
Föreningar för behandling av opportunistiska infektioner	Azitromycin	Pyrazinamid
	Klaritromycin	Rifabutin
	Etambutol	Rifampicin
	Flukonazol	Sulfametoxazol
	Isoniazid	Trimetoprim

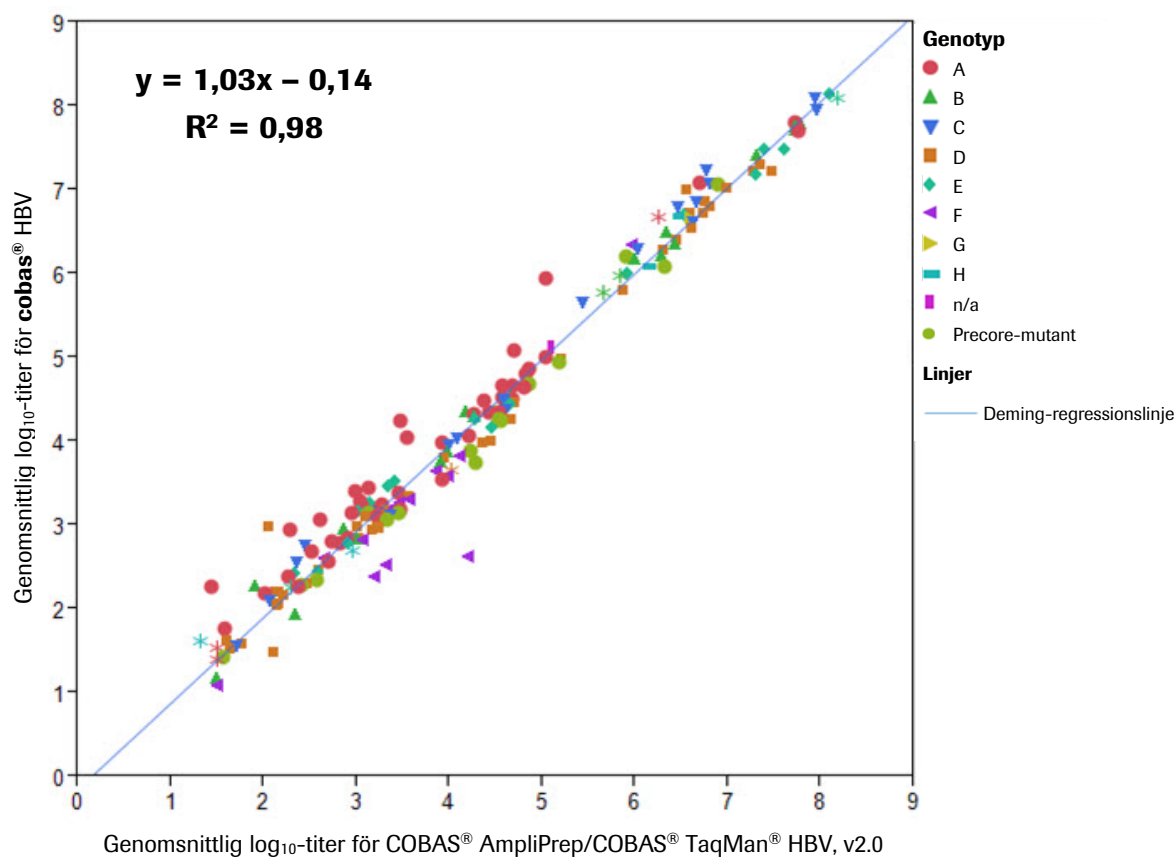
Metodkorrelation

Egenskapsutvärdering av cobas® HBV jämfört med testet COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV, v2.0

Prestandan för **cobas® HBV** och testet COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV, v2.0 (testet TaqMan® HBV, v2.0) jämfördes genom analys av EDTA-plasmaprover och serumprover från HBV-smittade patienter. Totalt 103 EDTA-plasmaprover och 85 serumprover för alla HBV-genotyper som analyserades i duplikat var giltiga och låg inom kvantifieringsintervallet för båda testen. Demings regressionsanalys utfördes. Medeltiteravvikelsen för proverna som testades med de två testen var $-0,03 \log_{10}$.

Resultaten för Demings regressionsanalys visas i Bild 8.

Bild 8 Regressionsanalys för **cobas® HBV** jämfört med testet TaqMan® HBV v2.0, EDTA-plasmaprover och serumprover

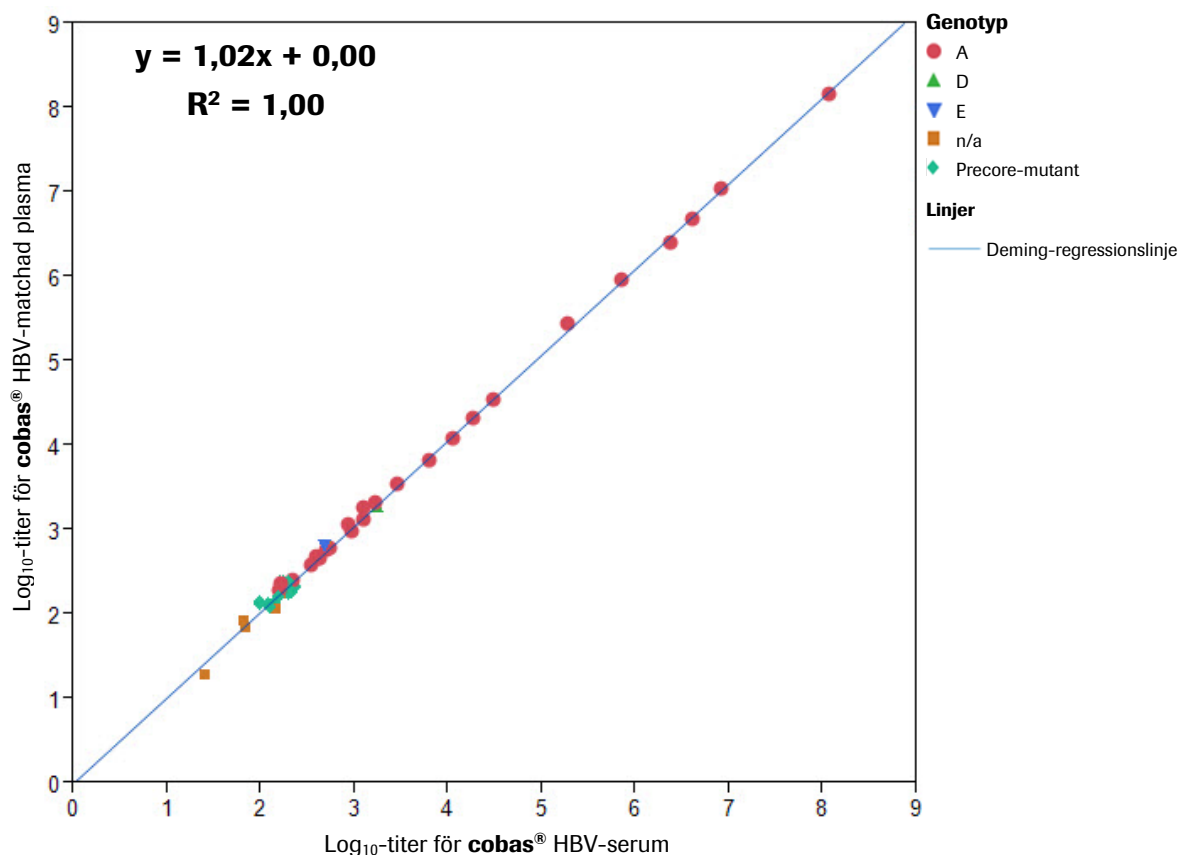


Matrisekvivalens – EDTA-plasma jämfört med serum

Här analyserades 50 parade EDTA-plasmaprover och serumprover med avseende på matrisekvivalens. De HBV-positiva proverna täckte de flesta genotyperna och hade titrar i hela det linjära intervallet.

Matrisekvivalens visades i de testade proverna med en medeltiteravvikelse på 0,05 log₁₀ (Bild 9).

Bild 9 Utfall av utvärdering av matrisekvivalens mellan EDTA-plasma och serum



Felfrekvens inom hela systemet

Felfrekvensen inom hela systemet för cobas® HBV bestämdes genom testning av 100 replikat av EDTA-plasma och 100 replikat av serum spikat med HBV för totalt 200 replikat. De här proverna testades vid en målkonzentration på ungefär $3 \times \text{LoD}$. Studien genomfördes med systemet cobas® 6800.

Resultaten i den här studien fastställde att samtliga replikat var reaktiva för varje mål, vilket gav en felfrekvens inom hela systemet på 0 %. Det tvåsidiga 95-procentiga exakta konfidensintervallet var 0 % för den nedre gränsen och 3,62 % för den övre gränsen för varje matris [0 %: 3,62 %].

Korskontamination

Nivån för korskontamination för cobas® HBV bestämdes genom testning av 240 replikat av ett normalt, virus-negativt (HIV, HCV och HBV) humant EDTA-plasmaprov och 225 replikat av ett HBV-prov med hög titer vid $1,00\text{E}+09$ IU/ml. Sammanlagt fem körningar utfördes med positiva och negativa prover i en checkerboard-konfiguration.

Samtliga 240 replikat av det negativa provet var icke-reaktiva, vilket gav en korskontaminationsnivå på 0 %. Det tvåsidiga 95-procentiga exakta konfidensintervallet var 0 % för den nedre gränsen och 1,53 % för den övre gränsen [0 %: 1,53 %].

Utvärdering av klinisk prestanda

Reproducerbarhetsstudie

Reproducerbarheten och variabiliteten mellan loter för **cobas**® HBV utvärderades i EDTA-plasma på systemet **cobas**® 6800 med hjälp av en blandad modell för att uppskatta den totala variansen.

Resultaten av utvärderingen sammanfattas i Tabell 27 till Tabell 30 nedan.

Variabilitet mellan loter

Testningen av variabilitet mellan loter utfördes för genotyperna A och C på en testplats med tre reagensloter. Två användare på platsen testade varje lot i sex dagar. Två körningar utfördes varje dag.

Tabell 27 nedan visas tillämpbara procentandelar av den totala variansen, standardavvikelse för den totala precisionen och lognormal variabilitetskoefficient (CV) efter genotyp och förväntad log₁₀ HBV-DNA-koncentration för systemet **cobas**® 6800.

Tabell 27 Tillämpbar procentandel av den totala variansen, standardavvikelse för den totala precisionen och lognormal CV (%) för HBV-DNA-koncentration (log₁₀ IU/ml) efter genotyp och positivt panelprov (mellan loter) på systemet **cobas**® 6800 (reproducerbarhet)

Genotyp	HBV-DNA-koncentration (log ₁₀ IU/ml)		Antal tester ^b	Bidrag till den totala variansen i procent (lognormal CV (%))					Total precision	
	Förväntad	Observerat medelvärde ^a		Lot	Användare	Dag	Körning	Inom körning	SD ^c	Lognormal CV (%) ^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

	HBV-DNA-koncentration (log ₁₀ IU/ml)			Bidrag till den totala variansen i procent (lognormal CV (%))					Total precision	
Genotyp	Förväntad	Observerat medelvärde ^a	Antal tester ^b	Lot	Användare	Dag	Körning	Inom körning	SD ^c	Lognormal CV (%) ^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

Obs! Resultat med detekterbar virusmängd är inkluderade i den här tabellen; Resultat från 1,0E+01 IU/ml till 1,0E+09 IU/ml är inom intervallet för analysen.

^a Beräknat med proceduren SAS MIXED.

^b Antal giltiga tester med detekterbar virusmängd.

^c Beräknat med den totala variabiliteten från SAS MIXED-proceduren.

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

CV (%) = variationskoefficient i procent; DNA = deoxiribonukleinsyra; HBV = hepatit B-virus; SD = standardavvikelse; sqrt = kvadratroten.

I Tabell 28 nedan var den procentuella överensstämmelsen för negativa resultat (NPA) för systemet **cobas®** 6800 100 % vid användning av tester med negativa panelprover.

Tabell 28 Procentuell överensstämmelse för negativa resultat vid användning av negativt panelprov (mellan loter)

Förväntad HBV-DNA-koncentration	Antal giltiga tester	Positiva resultat	Negativa resultat	Procentuell överensstämmelse för negativa resultat ^a	95% CI ^b
Negativa	106	0	106	100,00	(96,58/100,00)

^a NPA = (antal negativa resultat ÷ totalt antal giltiga tester i negativt panelprov) × 100.

^b Beräknat med Clopper-Pearson Exact-metoden för beräkning av binomialt konfidensintervall.

CI = konfidensintervall; DNA = deoxiribonukleinsyra; HBV = hepatit B-virus; NPA = procentuell överensstämmelse för negativa resultat.

Reproducerbarhet

Testningen av reproducerbarhet utfördes på tre platser för genotyperna A och C med en reagenslot. Två användare på varje plats testade i 6 dagar. Två körningar utfördes varje dag.

Tabell 29 nedan visas tillämpbara procentandelar av den totala variansen, SD för den totala precisionen och lognormal CV efter genotyp och förväntad $\log_{10}$ HBV-DNA-koncentration för systemet **cobas® 6800**.

Tabell 29 Tillämpbar procentandel av den totala variansen, standardavvikelse för den totala precisionen och lognormal CV (%) för HBV-DNA-koncentration ($\log_{10}$ IU/ml) efter genotyp och positivt panelprov (reproducerbarhet)

Genotyp	HBV-DNA-koncentration ($\log_{10}$ IU/ml)		Antal tester ^b	Bidrag till den totala variansen i procent (lognormal CV (%))					Total precision	
	Förväntad	Observerat medelvärde ^a		Plats	Användare	Dag	Körning	Inom körning	SD ^c	Lognormal CV (%) ^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

	HBV-DNA-koncentration (log ₁₀ IU/ml)			Bidrag till den totala variansen i procent (lognormal CV (%))					Total precision	
Genotyp	Förväntad	Observerat medelvärde ^a	Antal tester ^b	Plats	Användare	Dag	Körning	Inom körning	SD ^c	Lognormal CV (%) ^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

Obs! Resultat med detekterbar virusmängd är inkluderade i den här tabellen; Resultat från 1,0E+01 IU/ml till 1,0E+09 IU/ml är inom intervallet för analysen.

^a Beräknat med proceduren SAS MIXED.

^b Antal giltiga tester med detekterbar virusmängd.

^c Beräknat med den totala variabiliteten från SAS MIXED-proceduren.

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

CV (%) = variationskoefficient i procent; HBV = hepatit B-virus; DNA = deoxiribonukleinsyra; SD = standardavvikelse; sqrt = kvadratroten.

NPA var 100 % (106/106; 95 % CI: 96,58 % till 100 %) vid användning av tester med negativa panelprover på systemet **cobas® 6800**, vilket visas i Tabell 30 nedan.

Tabell 30 Procentuell överensstämmelse för negativa resultat vid användning av negativt panelprov (reproducerbarhet) på systemet **cobas® 6800**

Förväntad HBV-DNA-koncentration	Antal tester	Positiva resultat	Negativa resultat	Procentuell överensstämmelse för negativa resultat ^a	95% CI ^b
Negativa	106	0	106	100,00	(96,58/100,00)

^a NPA = (antal negativa resultat ÷ totalt antal giltiga tester i negativt panelprov) × 100.

^b Beräknat med Clopper-Pearson Exact-metoden för beräkning av binomialt konfidensintervall.

CI = konfidensintervall; DNA = deoxiribonukleinsyra; HBV = hepatit B-virus; NPA = procentuell överensstämmelse för negativa resultat.

Klinisk användbarhet

Studien utformades för att utvärdera analysens möjlighet att förutsäga kliniskt utfall.

Återstående prover som erhållits från ungefär 300 personer som valts ut slumpmässigt för att få behandling i 100 veckor med entecavir plus tenofovir eller enbart entecavir under en farmaceutisk klinisk studie testades. Dessutom testades prover från ungefär 70 personer med kronisk HBV-infektion (HBeAg (-)) som genomgick rutinmässig klinisk behandling med enbart tenofovir (Tabell 31).

Tabell 31 Behandlingsgrupper

Klinisk studie	HBeAg-status	Behandling	Behandlingsarm
Farmaceutisk klinisk studie ²¹	HBeAg (+)	Enbart entecavir	Arm I
		Entecavir + tenofovir	Arm II
	HBeAg (-)	Enbart entecavir	Arm III (inkluderar upp till 17 personer från klinisk studie)
		Entecavir + tenofovir	Arm IV
Klinisk studie	HBeAg (-)	Enbart tenofovir	Arm V

HBeAg = hepatit B e-antigen.

Testning med **cobas**® HBV utfördes på tre platser. Ett system **cobas**® 6800 fanns på varje plats. Tre kitloter med reagens användes i studien, och varje prov testades med en kitlot. Tabell 32 nedan visas demografi- och baseline-egenskaperna för personer vars prover testades på systemet **cobas**® 6800. Både HBeAg (+)- och HBeAg (-)-personer deltog i studien, och data för de här populationerna analyserades separat.

Tabell 32 Demografi- och baseline-egenskaper för personer

Egenskaper	Statistik
Totalt, N	396
Ålderskategori (år), n (%)	
< 40	186 (47,0 %)
≥ 40	210 (53,0 %)
Ålder (år)	
Medelvärde ± SD	42 ± 15,2
Median	42
Intervall	17–81
Kön, n (%)	
Man	276 (69,7 %)
Kvinna	120 (30,3 %)
Ursprung, n (%)	
Asiat	204 (51,5 %)
Svart/afroamerikan	14 (3,5 %)
Vit/kaukasier	169 (42,7 %)
Övriga	9 (2,3 %)

Genotyp, n (%)	
A	64 (16,2 %)
A och G	1 (0,3 %)
B	62 (15,7 %)
C	74 (18,7 %)
D	105 (26,5 %)
E	4 (1,0 %)
F	10 (2,5 %)
Blandat	1 (0,3 %)
Okänd	75 (18,9 %)
Normal ALT vid baseline, n (%)	
Ja	23 (5,8 %)
Nej	361 (91,2 %)
Okänd	12 (3,0 %)
Baseline-ALT (IU/l)	
Medelvärde ± SD	140 ± 169,9
Median	96
Intervall	14–1583
HBV-DNA (log₁₀ IU/ml) vid baseline	
Medelvärde ± SD	6,6 ± 2,38
Median	7,4
Intervall	-0,0–10,1
HBV-DNA-kategori, n (%)	
< 2,0 × 10 ³ IU/ml	41 (10,4 %)
2,0 × 10 ³ till 2,0 × 10 ⁴ IU/ml	13 (3,3 %)
> 2,0 × 10 ⁴ IU/ml	330 (83,3 %)
Okänd	12 (3,0 %)

ALT = alaninaminotransferas; HBV = hepatit B-virus; DNA = deoxiribonukleinsyra; SD = standardavvikelse.

Förutsägelse av svar på antiviral behandling

Definitioner:

- Virologiskt svar (VR) vecka 12 = HBV-DNA 2 log₁₀-minskning från baseline
- VR vecka 24 = HBV-DNA < 2000 IU/ml (HBeAg (+)) eller < 50 IU/ml (HBeAg (-))
- VR vecka 48 = HBV-DNA < 2000 IU/ml (HBeAg (+)) eller < 50 IU/ml (HBeAg (-))
- VR vecka 96 = HBV-DNA < 50 IU/ml (VR-slutpunkt)
- Slutpunkt för inget VR = HBV-DNA > 50 IU/ml vid vecka 96
- Biokemiskt svar (BR) = normalisering av ALT jämfört med baseline; ALT för män < 30 IU/l och ALT för kvinnor < 19 IU/l
- HBeAg-förlust = omvandling från statusen HBeAg (+) till HBeAg (-) under behandlingen

Förutsägelse av virologiskt svar vid vecka 96

I den här studien användes HBV-DNA-koncentrationen vid baseline och VR vid vecka 12, 24 och 48 av behandlingen för att utvärdera förmågan att förutsäga utfallet (VR, BR eller HBeAg-förlust) vid vecka 96 av behandlingen. VR96 (HBV-DNA < 50 IU/ml) bestämdes med hjälp av HBV-DNA-resultat från ett godkänt test.

När **cobas®** HBV användes för att mäta HBV-DNA visades en HBV-DNA-koncentration vid baseline på < 10⁸ IU/ml och VR vid vecka 12, 24 och 48 vara starkt prediktivt för VR96 för alla behandlingsarmar i den här studien (PPV 79,6 % till 100 %) (Tabell 33 och Tabell 34 nedan).

Tabell 33 Sannolikhet för att få virologiskt svar vid vecka 96 med HBV-DNA < 10⁸ IU/ml vid baseline för olika behandlingsarmar

Besök under pågående behandling	Behandlings-arm	Utvärderingsbara personer	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Uppskattning (95 % CI)	n/N	Uppskattning (95 % CI)	n/N	Uppskattning (95 % CI)
Baseline	Arm I	103	93,5 (82,5, 97,8)	43/46	31,6 (21,0, 44,5)	18/57	6,62 (1,81, 24,20)
	Arm II	102	96,2 (87,0, 98,9)	50/52	4,0 (1,1, 13,5)	2/50	1,04 (0,14, 7,69)
	Arm III	49	100,0 (92,1, 100,0)	45/45	25,0 (4,6, 69,9)	1/4	30,00 (0,83, 1087,42)
	Arm IV	48	97,9 (88,9, 99,6)	46/47	100,0 (20,7, 100,0)	1/1	92,00 (1,81, 4686,43)
	Arm V	30	90,0 (74,4, 96,5)	27/30	NC	0	9,00 (0,15, 541,69)

Anteckningar: Positivt prediktivt värde (PPV) = $TP \div (TP + FP)$ eller sannolikheten för att vara en VR96 givet att personen uppvisade virologiskt svar vid ett specifikt besök.

Negativt prediktivt värde (NPV) = $TN \div (FN + TN)$ eller sannolikheten för att inte vara en VR96 givet att personen inte uppvisade virologiskt svar vid ett specifikt besök.

Oddsquot (OR) = $(TP \times TN) \div (FP \times FN)$.

95 % CI för PPV och NPV beräknas baserat på Wilson-score.

0,5 lades till i tomma celler (TP, TN, FP eller FN = 0) innan beräkning av OR och motsvarande 95 % CI.

VR vecka 96 = HBV-DNA < 50 IU/ml (VR-slutpunkt) från COBAS® Ampliprep/COBAS® Taqman® HBV Test, version 2

HBV-DNA-koncentration vid baseline < 1E8 IU/ml enligt bestämning med systemet **cobas®** 6800.

Arm I: enbart entecavir (HBeAg (+)).

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

Arm III: enbart entecavir (HBeAg (-)).

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

Arm V: enbart tenofovir (HBeAg (-)).

CI = konfidensintervall; DNA = deoxiribonukleinsyra; FN = falskt negativt; FP = falskt positivt; HBeAg = hepatit B e-antigen; HBV = hepatit B-virus; NC = ej beräkningsbart (eftersom det inte fanns några personer som inte uppvisade virologiskt svar vid det besöket); TN = sant negativt; TP = sant positivt; VR = virologiskt svar; VR96 = virologiskt svar vid vecka 96.

Tabell 34 Sannolikhet för att få virologiskt svar vid vecka 96 givet virologiskt svar vid ett specifikt besök under pågående behandling för olika behandlingsarmar

Besök under pågående behandling	Behandlings-arm	Lämpliga personer	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Uppskattning (95 % CI)	n/N	Uppskattning (95 % CI)	n/N	Uppskattning (95 % CI)
Vecka 12	Arm I	103	79,6 (70,8, 86,3)	82 / 103	NC	0	3,90 (0,08, 202,63)
	Arm II	100	97,0 (91,5, 99,0)	97 / 100	NC	0	32,33 (0,54, 1921,79)
	Arm III	48	97,8 (88,7, 99,6)	45 / 46	0,0 (0,0, 65,8)	0 / 2	11,25 (0,28, 445,33)
	Arm IV	48	95,8 (86,0, 98,8)	46 / 48	NC	0	23,00 (0,36, 1485,21)
	Arm V	21	85,7 (48,7, 97,4)	6 / 7	7,1 (1,3, 31,5)	1 / 14	0,46 (0,02, 8,69)
Vecka 24	Arm I	103	96,1 (89,2, 98,7)	74 / 77	69,2 (50,0, 83,5)	18 / 26	55,50 (13,37, 230,39)
	Arm II	102	96,7 (90,8, 98,9)	89 / 92	10,0 (1,8, 40,4)	1 / 10	3,30 (0,31, 35,08)
	Arm III	47	100,0 (89,8, 100,0)	34 / 34	7,7 (1,4, 33,3)	1 / 13	5,67 (0,18, 179,94)
	Arm IV	49	97,7 (87,9, 99,6)	42 / 43	16,7 (3,0, 56,4)	1 / 6	8,40 (0,45, 156,19)
	Arm V	20	94,1 (73,0, 99,0)	16 / 17	33,3 (6,1, 79,2)	1 / 3	8,00 (0,35, 184,38)
Vecka 48	Arm I	101	89,9 (81,9, 94,6)	80 / 89	91,7 (64,6, 98,5)	11 / 12	97,78 (11,28, 847,86)
	Arm II	97	95,9 (89,9, 98,4)	93 / 97	NC	0	23,25 (0,41, 1328,83)
	Arm III	46	100,0 (91,6, 100,0)	42 / 42	25,0 (4,6, 69,9)	1 / 4	28,00 (0,77, 1015,78)
	Arm IV	48	97,8 (88,4, 99,6)	44 / 45	33,3 (6,1, 79,2)	1 / 3	22,00 (0,98, 494,79)
	Arm V	28	92,3 (75,9, 97,9)	24 / 26	50,0 (9,5, 90,5)	1 / 2	12,00 (0,53, 273,05)

Anteckningar: Positivt prediktivt värde (PPV) = $TP \div (TP + FP)$ eller sannolikheten för att vara en VR96 givet att personen uppvisade virologiskt svar vid ett specifikt besök.

Negativt prediktivt värde (NPV) = $TN \div (FN + TN)$ eller sannolikheten för att inte vara en VR96 givet att personen inte uppvisade virologiskt svar vid ett specifikt besök.

Oddsquot (OR) = $(TP \times TN) \div (FP \times FN)$.

95 % CI för PPV och NPV beräknas baserat på Wilson-score.

0,5 lades till i tomma celler (TP, TN, FP eller FN = 0) innan beräkning av OR och motsvarande 95 % CI.

VR96 uppnås om personen har HBV-DNA < 50 IU/ml från COBAS® TaqMan® HBV Test för användning med High Pure System vid vecka 96.

VR vecka 12 = HBV-DNA > 2 log₁₀-minskning från baseline; VR vecka 24 = HBV-DNA < 2000 IU/ml (HBeAg (+)) eller < 50 IU/ml (HBeAg (-));

VR vecka 48 = HBV-DNA < 2000 IU/ml (HBeAg (+)) eller < 50 IU/ml (HBeAg (-)).

Arm I: enbart entecavir (HBeAg (+)).

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

09198946001-04SV

Arm III: enbart entecavir (HBeAg (-)).

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

Arm V: enbart tenofovir (HBeAg (-)).

CI = konfidensintervall; DNA = deoxiribonukleinsyra; FN = falskt negativt; FP = falskt positivt; HBeAg = hepatit B e-antigen; HBV = hepatit B-virus;

NC = ej beräkningsbart (eftersom det inte fanns några personer som inte uppvisade virologiskt svar vid det besöket); TN = sant negativt; TP = sant positivt;

VR = virologiskt svar; VR96 = virologiskt svar vid vecka 96.

Förutsägelse av biokemiskt svar vid vecka 96

Sannolikheten för att få ett biokemiskt svar vid vecka 96 givet ett VR under pågående behandling vid vecka 12, vecka 24 eller vecka 48 sammanfattas i Tabell 35.

Värdet för VR vid vecka 12, vecka 24 eller vecka 48 som en prediktor för BR96 varierade med VR-vecka och behandlingsarm.

Tabell 35 Sannolikhet för biokemiskt svar vid vecka 96 givet virologiskt svar vid ett specifikt besök under pågående behandling för olika behandlingsarmar

Besök under pågående behandling	Behandlings-arm	Lämpliga personer	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Uppskattning (95 % CI)	n/N	Uppskattning (95 % CI)	n/N	Uppskattning (95 % CI)
Vecka 12	Arm I	101	62,4 (52,6, 71,2)	63 / 101	NC	0	1,66 (0,03, 85,30)
	Arm II	100	43,0 (33,7, 52,8)	43 / 100	NC	0	0,75 (0,01, 38,79)
	Arm III	49	50,0 (36,1, 63,9)	23 / 46	66,7 (20,8, 93,9)	2 / 3	2,00 (0,17, 23,62)
	Arm IV	49	32,7 (21,2, 46,6)	16 / 49	NC	0	0,48 (0,01, 25,57)
	Arm V	21	40,0 (16,8, 68,7)	4 / 10	90,9 (62,3, 98,4)	10 / 11	6,67 (0,60, 74,51)
Vecka 24	Arm I	102	66,2 (55,1, 75,8)	51 / 77	60,0 (40,7, 76,6)	15 / 25	2,94 (1,16, 7,45)
	Arm II	103	44,6 (34,8, 54,7)	41 / 92	81,8 (52,3, 94,9)	9 / 11	3,62 (0,74, 17,68)
	Arm III	51	47,2 (32,0, 63,0)	17 / 36	33,3 (15,2, 58,3)	5 / 15	0,45 (0,13, 1,57)
	Arm IV	50	38,6 (25,7, 53,4)	17 / 44	100,0 (61,0, 100,0)	6 / 6	7,56 (0,40, 144,09)
	Arm V	24	42,1 (23,1, 63,7)	8 / 19	80,0 (37,6, 96,4)	4 / 5	2,91 (0,27, 31,22)
Vecka 48	Arm I	100	65,2 (54,8, 74,3)	58 / 89	81,8 (52,3, 94,9)	9 / 11	8,42 (1,71, 41,41)
	Arm II	97	43,3 (33,9, 53,2)	42 / 97	NC	0	0,76 (0,01, 39,29)
	Arm III	49	52,3 (37,9, 66,2)	23 / 44	40,0 (11,8, 76,9)	2 / 5	0,73 (0,11, 4,81)
	Arm IV	49	37,0 (24,5, 51,4)	17 / 46	100,0 (43,9, 100,0)	3 / 3	3,52 (0,17, 74,51)
	Arm V	28	33,3 (18,0, 53,3)	8 / 24	75,0 (30,1, 95,4)	3 / 4	1,50 (0,13, 16,82)

Anteckningar: Positivt prediktivt värde (PPV) = $TP \div (TP + FP)$ eller sannolikheten för att vara en BR96 givet att personen uppvisade virologiskt svar vid ett specifikt besök.

Negativt prediktivt värde (NPV) = $TN \div (FN + TN)$ eller sannolikheten för att inte vara en BR96 givet att personen inte uppvisade virologiskt svar vid ett specifikt besök.

Oddsquot (OR) = $(TP \times TN) \div (FP \times FN)$.

95 % CI för PPV och NPV beräknas baserat på Wilson-score.

0,5 lades till i tomma celler (TP, TN, FP eller FN = 0) innan beräkning av OR och motsvarande 95 % CI.

09198946001-04SV

Arm I: enbart entecavir (HBeAg (+)).

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

Arm III: enbart entecavir (HBeAg (-)).

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

Arm V: enbart tenofovir (HBeAg (-)).

Biokemiskt svar definieras som normalisering av ALT (ALT < 30 IU/l för män och ALT < 19 IU/l för kvinnor) vid vecka 96 jämfört med baseline för personer med förhöjd ALT vid baseline.

VR vecka 12 = HBV-DNA > 2 log₁₀-minskning från baseline. VR vecka 24 = HBV-DNA < 2000 IU/ml (HBeAg (+)) eller < 50 IU/ml (HBeAg (-)).

VR vecka 48 = HBV-DNA < 2000 IU/ml (HBeAg (+)) eller < 50 IU/ml (HBeAg (-)).

ALT = alaninaminotransferas; CI = konfidensintervall; DNA = deoxiribonukleinsyra; FN = falskt negativt; FP = falskt positivt; HBeAg = hepatit B e-antigen;

HBV = hepatit B-virus; NC = ej beräkningsbart (eftersom det inte fanns några personer som inte uppvisade virologiskt svar vid det besöket);

TN = sant negativt; TP = sant positivt; VR = virologiskt svar; BR96 = biokemiskt svar vid vecka 96.

Förutsäga HBeAg-förlust

HBeAg-förlust kunde endast utvärderas hos personer som var HBeAg (+) vid baseline.

Frånvaro av VR vid vecka 24 var starkt prediktivt för förekomst av HBeAg (NPV var ≥ 80,0 % för både arm I och II), och frånvaro av VR vid vecka 48 var även prediktivt för förekomst av HBeAg i arm I (NPV var 100 %) (Tabell 36). Eftersom alla personer i kombinationsregimen (arm II) hade uppnått VR vid vecka 48 var det inte möjligt att beräkna ett NPV vid denna tidpunkt för den här gruppen.

Tabell 36 Sannolikhet för HBeAg-förlust vid vecka 96 givet virologiskt svar vid ett specifikt besök under pågående behandling för olika behandlingsarmar

Besök under pågående behandling	Behandlings-arm	Lämpliga personer	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Uppskattning (95 % CI)	n/N	Uppskattning (95 % CI)	n/N	Uppskattning (95 % CI)
Vecka 12	Arm I	102	46,1 (36,7, 55,7)	47 / 102	NC	0	0,85 (0,02, 43,91)
	Arm II	101	41,6 (32,5, 51,3)	42 / 101	NC	0	0,71 (0,01, 36,60)
Vecka 24	Arm I	103	52,6 (41,6, 63,3)	41 / 78	80,0 (60,9, 91,1)	20 / 25	4,43 (1,51, 13,00)
	Arm II	104	44,1 (34,4, 54,2)	41 / 93	81,8 (52,3, 94,9)	9 / 11	3,55 (0,73, 17,33)
Vecka 48	Arm I	101	51,1 (41,0, 61,2)	46 / 90	100,0 (74,1, 100,0)	11 / 11	23,00 (1,31, 403,28)
	Arm II	98	40,8 (31,6, 50,7)	40 / 98	NC	0	0,69 (0,01, 35,48)

Obs! Positivt prediktivt värde (PPV) = $TP \div (TP + FP)$ eller sannolikheten för HBeAg-förlust vid vecka 96 givet att personen uppvisade virologiskt svar vid ett specifikt besök.

Negativt prediktivt värde (NPV) = $TN \div (FN + TN)$ eller sannolikheten för ingen HBeAg-förlust vid vecka 96 givet att personen inte uppvisade virologiskt svar vid ett specifikt besök.

Oddsquot (OR) = $(TP \times TN) \div (FP \times FN)$.

95 % CI för PPV och NPV beräknas baserat på Wilson-score.

0,5 lades till i tomma celler (TP, TN, FP eller FN = 0) innan beräkning av OR och motsvarande 95 % CI.

Arm I: enbart entecavir (HBeAg (+)).

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

HBeAg-förlust uppnås om förlust av HBeAg påvisas under behandling.

VR vecka 12 = HBV-DNA > 2 log₁₀-minskning från baseline; VR vecka 24 = HBV-DNA < 2000 IU/ml (HBeAg (+)); VR vecka 48 = HBV-DNA < 2000 IU/ml (HBeAg (+)).

CI = konfidensintervall; DNA = deoxiribonukleinsyra; FN = falskt negativt; FP = falskt positivt; HBeAg = hepatit B e-antigen; HBV = hepatit B-virus; NC = ej beräkningsbart (eftersom det inte fanns några personer som inte uppvisade virologiskt svar vid det besöket); TN = sant negativt; TP = sant positivt; VR = virologiskt svar; BR96 = biokemiskt svar vid vecka 96.

Resultaten visade att **cobas® HBV** är användbart för övervakning av virusmängd hos personer med kronisk HBV-infektion vid starten av och under pågående antiviral behandling. Studien visade att mätning av HBV-DNA-koncentration vid baseline, en minskning av HBV-DNA-koncentrationen vid vecka 12 eller HBV-DNA-koncentrationer under specifika tröskelvärden vid vecka 24 eller 48 under behandlingen kunde förutse svar på behandlingen. Studien identifierade även personer som uppnådde virologiskt svar, biokemiskt svar eller förlust av HBeAg vid vecka 96 av behandlingen.

Slutsats

cobas® HBV kan kvantifiera nivån av HBV-DNA för att övervaka och förutse svar på antiviral behandling. Resultaten av den här studien visar den kliniska användbarheten för det här testet för att fastställa svar på behandling hos patienter med kronisk HBV-infektion tidigt under pågående behandling.

Systemekvivalens/systemjämförelse

Systemekvivalensen för systemen **cobas® 5800**, **cobas® 6800** och **cobas® 8800** påvisades genom studier av prestandan.

Resultaten som presenteras i bruksanvisningen ger stöd för motsvarande prestanda för alla system.

Ytterligare information

Viktiga testegenskaper

Provtyp	EDTA-plasma, serum		
Minsta mängd prov som krävs	650 µl eller 350 µl		
Provbearbetningsvolym	500 µl eller 200 µl		
Analytisk sensitivitet		<u>500 µl</u>	<u>200 µl</u>
	EDTA-plasma	2,7 IU/ml	15,5 IU/ml
	Serum	2,4 IU/ml	12,5 IU/ml
Linjärt intervall	500 µl: 10 IU/ml – 1,0E+09 IU/ml		
	200 µl: 25 IU/ml – 1,0E+09 IU/ml		
Specificitet	100 % (ensidigt 95-procentigt konfidensintervall: 99,5 %)		
Detekterade genotyper	HBV genotyp A–H, och den dominerande precore-mutanten		

Symboler

Följande symboler används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter.

Tabell 37 Symboler som används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter

Age/DOB	Ålder eller födelsedatum		Produkt ej avsedd för patientnära testning	QS IU/PCR	QS IU per PCR-reaktion, använd antalet internationella enheter (IU) för QS per PCR-reaktion vid beräkning av resultaten.
	Stödprogramvara		Produkt ej avsedd för självtestning	SN	Serienummer
Assigned Range [copies/mL]	Tilldelat intervall (kopior/mL)		Distributör (Obs! Det tillämpliga landet/regionen kan vara betecknat nedanför symbolen.)	Site	Plats
Assigned Range [IU/mL]	Tilldelat intervall (IU/mL)		Får ej återanvändas	Procedure Standard	Standardprocedur
EC REP	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen		Kvinna	STERILE EO	Steriliserad med etylenoxid
BARCODE	Streckkodsdatablad		Endast för IVD-egenskapsutvärdering		Förvaras mörkt
LOT	Lotnummer	GTIN	GTIN-nummer		Temperaturgräns
	Biologisk risk		Importör		Testdefinitionsfil
REF	Katalognummer	IVD	Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik		Denna sida upp
	CE-märkning om överensstämmelse: den här enheten uppfyller alla tillämpliga krav för CE-märkning av en medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik	LLR	Lägre gräns för tilldelat intervall	Procedure UltraSensitive	Ultrasensitiv procedur
Collect Date	Provtagningsdatum		Man	UDI	Unikt enhets-ID
	Se bruksanvisningen		Tillverkare	ULR	Övre gräns för tilldelat intervall
	Innehåller tillräckligt med reagens för <n> analyser	CONTROL -	Negativ kontroll	Urine Fill Line	Urinfyllnadsnivå
CONTENT	Utrustningen innehåller		Icke-steril	Rx Only	Endast USA: Särskilda nationella regler kan gälla för försäljning av den här enheten.
CONTROL	Kontroll		Patientens namn		Utgångsdatum
	Tillverkningsdatum		Patientnummer		
	Produkt för patientnära testning		Öppna här		
	Produkt för självtestning	CONTROL +	Positiv kontroll		
		QS copies / PCR	QS-kopior per PCR-reaktion, använd antalet QS-kopior per PCR-reaktion vid beräkning av resultaten.		

Teknisk support

Om du behöver teknisk support kontaktar du Roche kundsupport via:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Tillverkare och importör

Tabell 38 Tillverkare och importör



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

Made in USA (FTC-standard)



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Varumärken och patent

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

Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referenser

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.

Revidering av dokumentet

Information om revidering av dokumentet	
Doc Rev. 3.1 12/2024	Information om systemprogramversion 2.0 för systemen cobas ® 6800/8800 har lagts till. Kontakta din representant från Roche vid eventuella frågor.