

cobas[®] HBV

Ilościowy test kwasu nukleinowego do użytku z systemami cobas[®] 5800/6800/8800

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

cobas[®] HBV

P/N: 09040820190

Do użytku z systemem cobas[®] 5800

cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

P/N 09040773190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N 09051554190

Do użytku z systemami cobas[®] 6800/8800

cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

P/N: 06997767190 lub

P/N: 09040773190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 07002220190 lub

P/N: 09051554190

Spis treści

Przeznaczenie	4
Podsumowanie oraz objaśnienie testu	4
Odczynniki i materiały	6
Odczynniki i kontrole do testu cobas® HBV	6
Odczynniki cobas omni do przygotowywania próbek	9
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników	10
Materiały dodatkowe wymagane dla systemu cobas® 5800	12
Materiały dodatkowe wymagane dla systemów cobas® 6800/8800	12
Wymagane urządzenia i oprogramowanie	13
Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania	14
Ostrzeżenia i środki ostrożności	14
Użytkowanie odczynników	14
Dobra praktyka laboratoryjna	15
Pobieranie, transport i przechowywanie próbek	15
Próbki	15
Instrukcja użytkowania	16
Uwagi proceduralne	16
Wykonanie testu cobas® HBV w systemie cobas® 5800	17
Wykonanie testu cobas® HBV w systemach cobas® 6800/8800	18
Wyniki	19
Kontrola jakości i ważność wyników w systemie cobas® 5800	19
Wyniki kontroli w systemie cobas® 5800	19
Kontrola jakości i ważność wyników w systemach cobas® 6800/8800	19
Flagi kontroli w systemach cobas® 6800/8800	20
Interpretacja wyników	20
Interpretacja wyników w systemie cobas® 5800	21
Interpretacja wyników w systemach cobas® 6800/8800	21
Ograniczenia metody	21

Niekliniczna ocena wiarygodności	22
Najważniejsze parametry działania wykonywanego w systemach cobas® 6800/8800	22
Granica wykrywalności (LoD)	22
Zakres liniowości.....	24
Precyzja wewnątrz laboratorium	26
Określanie i weryfikowanie genotypu	29
Swoistość.....	32
Swoistość analityczna	32
Swoistość analityczna — substancje interferujące	33
Korelacja metody.....	34
Równoważność materiału próbki — osocze krwi pobranej na EDTA w porównaniu z surowicą.....	35
Błąd całego systemu	36
Kontaminacja między próbkami	36
Ocena klinicznej wiarygodności testu.....	37
Badanie odtwarzalności.....	37
Zmienność między seriami.....	37
Odtwarzalność	39
Przydatność kliniczna	41
Przewidywanie odpowiedzi na leczenie antywirusowe	43
Wnioski.....	47
Równoważność/porównanie systemu.....	47
Dodatkowe informacje	48
Najważniejsze cechy testu	48
Oznaczenia.....	49
Pomoc techniczna.....	50
Wytwórca i importer.....	50
Znaki towarowe i patenty	50
Prawo autorskie.....	50
Piśmiennictwo.....	51
Wersja dokumentu.....	53

Przeznaczenie

Test **cobas®** HBV jest testem amplifikacji kwasów nukleinowych w warunkach *in vitro*, służącym do oceny ilościowej DNA wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV) w osoczu lub surowicy krwi ludzkiej pobranej na EDTA osób zakażonych HBV.

Test ten jest testem pomocniczym w opiece klinicznej nad chorymi z przewlekłym zakażeniem wirusem HBV, poddawany terapii przeciwwirusowej. Oznaczenie można zastosować do zmierzenia wyjściowego poziomu DNA wirusa HBV oraz do powtórnego pomiaru podczas leczenia, co pomaga w ocenie odpowiedzi chorego na leczenie. Wyniki testu **cobas®** HBV muszą być interpretowane w oparciu o wszystkie istotne dane kliniczne i laboratoryjne.

Podsumowanie oraz objaśnienie testu

Informacje podstawowe

HBV jest jednym z szeregu wirusów o znanej zdolności wywoływania wirusowego zapalenia wątroby. Przeszło 2 miliardy ludzi na całym świecie uległo zakażeniu wirusem HBV, zaś spośród nich ponad 350 milionów osób to przewlekle zakażeni nosiciele.¹ HBV to jeden z częstszych powodów chorób wątroby w Stanach Zjednoczonych (USA) pomimo malejącej częstości występowania ostrej infekcji, co wiąże się ze szczepieniami oraz stosowaniem uniwersalnych środków ostrożności dotyczących igieł.² Ogólną częstość występowania zakażenia wirusem HBV w USA szacuje się na 0,3–0,5%, z 47 do 70% przypadków występujących u osób urodzonych poza USA.² Jednak programy celowanych badań przesiewowych wykazały w pewnych populacjach imigrantów wysokiego ryzyka częstości występowania ponad 15% większe.³ Pacjenci z przewlekłym zakażeniem HBV są obarczeni podwyższonym ryzykiem odległych powikłań zakażenia, w tym przewlekłego zapalenia i marskości wątroby oraz pierwotnego raka wątrobowokomórkowego.^{4–7} Markery serologiczne są powszechnie stosowane w roli diagnostycznych i/lub prognostycznych wskaźników ostrego lub przewlekłego zakażenia wirusem HBV.⁸ Amerykańska organizacja CDCP (ang. *Centers for Disease Control and Prevention*, Ośrodki Zwalczania i Zapobiegania Chorobom) rozszerzyły swoje zalecenia dotyczące rutynowych badań przesiewowych pacjentów wysokiego ryzyka uwzględniając populacje, w których częstość występowania antygenu powierzchniowego HBV (HBsAg) przekracza 2%, w tym osób z endemicznych regionów świata (jak Azja i Afryka), mężczyzn odbywających stosunki płciowe z mężczyznami oraz osób przyjmujących dożylnie narkotyki.²

Najczęściej stosowanym markerem zakażenia wirusem HBV jest obecność jego antygenu powierzchniowego HBsAg.⁸ Chociaż u nosicieli może dochodzić do eliminacji antygenu HBsAg oraz do wytwarzania przeciwciał HBsAg skierowanych przeciwko niemu, okazuje się, że osoby te są nadal obciążone ryzykiem rozwoju w późniejszym okresie życia poważnych powikłań dotyczących wątroby.^{9, 10} Antygenu HBe (HBeAg) używa się zazwyczaj jako markera wtórnego, wskazującego na czynną replikację HBV związaną z postępującą chorobą wątroby. Okazuje się, że niezdolność do eliminacji antygenu HBeAg zwiększa ryzyko wystąpienia krańcowych stadiów rozwoju choroby wątroby.^{9, 10} Różne szczepy mutantów wirusa HBV w regionie precore mogą tracić zdolność produkcji HBeAg nawet w przypadku aktywnego zakażenia, co ogranicza możliwość używania tego markera do monitorowania postępu choroby.⁷

Uzasadnienie badań na obecność HBV

Ilościowe oznaczenie DNA wirusa HBV w osoczu i surowicy krwi pobranej na EDTA można przeprowadzić przy użyciu technik amplifikacji kwasów nukleinowych, takich jak reakcja łańcuchowej polimerazy (ang. *Polymerase Chain Reaction*, PCR).^{11–14} Kilka kluczowych wytycznych zaleca przyjęcie metodologii reakcji PCR w czasie rzeczywistym do ilościowego oznaczania DNA wirusa HBV głównie z powodu wyższej czułości oraz szerszego zakresu liniowości.^{15, 16}

Objaśnienie testu

Test **cobas®** HBV to test ilościowy wykonywany w systemach **cobas®** 5800, **cobas®** 6800 lub **cobas®** 8800. Test **cobas®** HBV umożliwia wykrywanie oraz ilościowe oznaczanie DNA wirusa HBV w próbkach osocza lub surowicy krwi pobranej na EDTA pobranych od zakażonych pacjentów i wykorzystywanych w laboratoriach obsługujących badania kliniczne oraz rutynowe praktyki kliniczne stosowane w leczeniu pacjentów z HBV. Do wykrywania i ilościowego

oznaczania używana jest jedna sonda, która jednak nie umożliwia rozróżniania genotypów A–H. Miano wirusa określane jest ilościowo w porównaniu ze standardem DNA nie-HBV (DNA-QS), który jest wprowadzany do każdej próbki podczas jej przygotowywania. DNA-QS pełni również funkcje monitorowania całego procesu przygotowania próbki oraz amplifikacji PCR. Dodatkowo test wykorzystuje trzy kontrole zewnętrzne: o wysokim mianie dodatnim, o niskim mianie dodatnim i kontrolę ujemną. Zewnętrzne kontrole wysokododatnie i niskododatnie wytwarza się przez rozcieńczanie z materiału wyjściowego o mianie spójnym z międzynarodowym standardem WHO HBV. Każda seria zestawu do amplifikacji/detekcji została skalibrowana w odniesieniu do międzynarodowego standardu WHO HBV.

Zasady procedury

Test **cobas**® HBV opiera się na całkowicie zautomatyzowanym przygotowaniu próbek (ekstrakcji i oczyszczaniu kwasów nukleinowych), po którym przeprowadzana jest amplifikacja i detekcja podczas reakcji PCR. System **cobas**® 5800 zaprojektowano jako urządzenie zintegrowane. **cobas**® 6800/8800 składa się z modułu podawania próbek, modułu transferu, modułu przetwarzania oraz modułu analitycznego. Automatyczne przetwarzanie danych jest prowadzone przez oprogramowanie systemu **cobas**® 5800 lub **cobas**® 6800/8800, które przypisuje wynik testu dla wszystkich badań jako nie wykryto targetu, < dolnej granicy oznaczalności, > górnej granicy oznaczalności lub wykryto DNA HBV, wartość w liniowym zakresie oznaczalności (dolna granica oznaczalności < x < górna granica oznaczalności). Wyniki można analizować bezpośrednio na ekranie systemu, można je eksportować lub wydrukować w postaci raportu.

Kwasy nukleinowe z próbek pacjentów, kontrole zewnętrzne i dodane cząsteczki lambda DNA (DNA-QS) są izolowane równocześnie.

Wirusowy kwas nukleinowy jest uwalniany poprzez dodanie do próbki proteiny i odczynnika lizującego. Uwolniony kwas nukleinowy wiąże się z silikonową powierzchnią dodanych szklanych cząstek magnetycznych. Niezwiązane substancje i zanieczyszczenia, takie jak zdenaturowane białko, debris komórkowy i potencjalne inhibitory reakcji PCR są usuwane na kolejnych etapach z użyciem odczynnika płuczącego, a oczyszczony kwas nukleinowy jest następnie wmywany w podwyższonej temperaturze ze szklanych cząstek magnetycznych z użyciem buforu do elucji.

Wybiórcza amplifikacja docelowego kwasu nukleinowego z próbki jest osiągana przez zastosowanie docelowych swoistych dla wirusa starterów, wiodącego iodwrotnego, które są projektowane w obrębie wysoce konserwatywnych obszarów HBV. Selektywna amplifikacja DNA-QS uzyskiwana jest przy użyciu starterów wiodącego iodwrotnego o swoistej sekwencji, które wybierane są tak, aby nie były homologiczne z genomem HBV. Do amplifikacji wykorzystywana jest termostabilna polimeraza DNA. Odczynnik Mastermiks zamiast trifosforanu deoksytymidyny (dTTP) zawiera trifosforan deoksyurydyny (dUTP), który wbudowywany jest do nowo syntetyzowanego DNA (amplikonu).^{14, 17, 18} Jakikolwiek zanieczyszczający amplikon z poprzednich reakcji PCR są usuwane w pierwszym etapie cyklu termicznego dzięki aktywności enzymu AmpErase, który znajduje się w mieszaninie reakcyjnej PCR. Jednak nowo powstały amplikon nie jest eliminowany, gdyż enzym AmpErase w temperaturze przekraczającej 55°C ulega inaktywacji.

Mastermiks **cobas**® HBV zawiera sondy detekcyjne, które są swoiste odpowiednio wobec sekwencji docelowych HBV i kwasu nukleinowego QS. Swoiste dla wirusa HBV oraz DNA-QS sondy detekcyjne są znakowane jednym z dwóch unikatowych barwników fluorescencyjnych, pełniących rolę barwnika reporterowego. Każda sonda jest również wyznakowana drugim barwnikiem pełniącym rolę wygaszacza. Fluorescencja dwóch swoistych barwników reporterowych jest mierzona przy określonych długościach fali, możliwa jest równoczesna detekcja i rozróżnienie zamplifikowanych sekwencji docelowych wirusów HBV oraz DNA-QS.^{12, 13} W przypadku niezwiązania z sekwencją docelową sygnał fluorescencyjny nienaruszonych sond jest tłumiony przez barwnik wygaszający. Podczas amplifikacji PCR hybrydyzacja sond do swoistych sekwencji jednoniciowej matrycy DNA skutkuje cięciem nici przez polimerazę DNA w wyniku jej aktywności egzonukleazy w kierunku od końca 5' do 3', co powoduje rozdzielenie barwników reporterowego i wygaszającego oraz wygenerowanie sygnału fluorescencyjnego. Z każdym cyklem PCR generowana jest zwiększająca się liczba rozszczepionych sond i jednocześnie wzrasta sumaryczny sygnał barwnika reporterowego. Ponieważ fluorescencja dwóch swoistych barwników reporterowych jest mierzona przy określonych długościach fali, możliwa jest równoczesna detekcja i rozróżnienie zamplifikowanych sekwencji docelowych wirusów HBV oraz DNA-QS.

Odczynniki i materiały

Odczynniki i kontrole do testu cobas® HBV

Wszystkie nieotwarte odczynniki i kontrole należy przechowywać zgodnie z zaleceniami, które zawiera Tabela 1 do Tabela 4.

Tabela 1 cobas® HBV

cobas® HBV

Przechowywać w temperaturze 2–8°C

Kaseta na 192 testów (P/N 09040820190)

Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw 192 testów
Roztwór proteiny (PASE)	Bufor Tris, < 0,05% EDTA, chlorek wapnia, octan wapnia, 8% proteiny EUH210: Karta charakterystyki dostępna na żądanie. EUH208: Może powodować wystąpienie reakcji alergicznej. Zawiera: subtylizyna, 9014-01-1	22,3 ml
DNA Quantitation Standard (DNA-QS)	Bufor Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% konstruktu innego niż DNA HBV zawierającego starter wiążący region inny niż HBV oraz region unikatowej sondy (niezakaźny DNA), 0,002% Poli-rA RNA (syntetyczny), < 0,1% azydku sodu	21,2 ml
Bufor do elucji (EB)	Bufor Tris, 0,2% metylo-4-hydroksybenzoesan	21,2 ml
Mastermiks 1 (MMX-R1)	Octan magnezu, wodorotlenek potasu, < 0,1% azydku sodu	7,5 ml
HBV Mastermiks 2 (HBV MMX-R2)	Bufor trycynowy, octan potasu, 18% dimetylosulfotlenku, glicerol, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% starterów wiodących odwrotnych dla HBV, < 0,01% starterów wiodących odwrotnych standardu ilościowego, < 0,01% znakowanych barwnikami fluorescencyjnymi sond oligonukleotydowych, swoistych dla HBV i standardu ilościowego HBV, < 0,01% aptameru oligonukleotydowego, < 0,01% polimerazy DNA Z05D, < 0,10% enzymu AmpErase (uracylo-N-glikozylazy) (bakteryjnej), < 0,1% azydku sodu	9,7 ml

* Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

** Substancja niebezpieczna.

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

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

Przechowywać w 2–8°C

Do użytku z systemem cobas® 5800 (P/N 09040773190)

Do użytku z systemami cobas® 6800/8800 (P/N 06997767190 i P/N 09040773190)

Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie*
Kontrola nisko dodatnia HBV/HCV/HIV-1 (HBV/HCV/HIV-1 L(+))C)	< 0,001% RNA wirusa HIV-1 grupy M opłaszczanego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, < 0,001% syntetycznego (plazmidowego) DNA wirusa HBV opłaszczanego białkiem kapsydowym bakteriofaga Lambda, < 0,001% syntetycznego RNA wirusa HCV opłaszczanego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, prawidłowe osocze ludzkie niewykazujące reaktywności w licencjonowanych testach na obecność przeciwciał przeciwko wirusowi HIV-1/2, HCV, antygenowi HBsAg ani przeciwciał przeciwko antygenowi HBc; RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV niewykrywalnego metodami PCR 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  UWAGA H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P273: Unikać uwolnienia do środowiska. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Masa reakcyjna: 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolino-3-on [WE nr 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazolo-3-on [WE nr 220-239-6] (3:1).
Kontrola wysoko dodatnia HBV/HCV/HIV-1 (HBV/HCV/HIV-1 H(+))C)	< 0,001% syntetycznego RNA wirusa HIV-1 grupy M opłaszczanego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2 o wysokim mianie, < 0,001% syntetycznego (plazmidowego) DNA wirusa HBV opłaszczanego białkiem kapsydowym bakteriofaga Lambda, < 0,001% syntetycznego RNA wirusa HCV opłaszczanego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, prawidłowe osocze ludzkie niewykazujące reaktywności w licencjonowanych testach na obecność przeciwciał przeciwko wirusowi HIV-1/2, HCV, antygenowi HBsAg ani przeciwciał przeciwko antygenowi HBc; RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV niewykrywalnego metodami PCR 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  UWAGA H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P272: Zanieczyszczoną odzież ochronnej nie wносить poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Masa reakcyjna: 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolino-3-on [WE nr 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazolo-3-on [WE nr 220-239-6] (3:1).

* Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

** Substancja niebezpieczna.

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

Przechowywać w temperaturze 2–8°C

Do użytku z systemem **cobas®** 5800 (P/N 09051554190)Do użytku z systemami **cobas®** 6800/8800 (P/N 07002220190 i P/N 09051554190)

Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie*
Kontrola ujemna z prawidłowego osocza ludzkiego (NHP-NC)	Prawidłowe osocze ludzkie niereaktywne w licencjonowanych testach na obecność przeciwciał przeciwko HCV, przeciwciał przeciwko HIV-1/2, antygenu HBsAg, przeciwciał przeciwko HBc; RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV niewykrywalnego przy użyciu metod PCR < 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	  UWAGA H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P272: Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wynosić poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Masa reakcyjna: 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolino-3-on [WE nr 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazolo-3-on [WE nr 220-239-6] (3:1).

* Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

** Substancja niebezpieczna.

Odczynniki cobas omni do przygotowywania próbek

Tabela 4 Odczynniki **cobas omni** do przygotowywania próbek*

Odczynniki	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Przechowywać w 2–8°C (P/N 06997546190)	Szklane cząstki magnetyczne, bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesanu, < 0,1% azydru sodu	480 testów	Nie dotyczy
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Przechowywać w 2–8°C (P/N 06997511190)	Bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesanu, < 0,1% azydru sodu	4 × 875 ml	Nie dotyczy
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Przechowywać w 2–8°C (P/N 06997538190)	43% (udział wagowy) tiocyjanian guanidyny***, 5% (udział wagowo-obj.) polidokanol***, 2% (udział wagowo-obj.) ditiotreitoli, dwuwodny cytrynian sodu	4 × 875 ml	 NIEBEZPIECZEŃSTWO H302 + H332: Działa szkodliwie po połknięciu i w następstwie wdychania. H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. EUH032: W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P273: Unikać uwolnienia do środowiska. P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. P303 + P361 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): natychmiast zdjąć całą skażoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody. P304 + P340 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P305 + P351 + P338 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. 593-84-0 Tiocyjanian guanidyny 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diol
cobas omni Wash Reagent (WASH) Przechowywać w 15–30°C (P/N 06997503190)	Dwuwodny cytrynian sodu, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesanu	4,2 l	Nie dotyczy

* Te odczynniki nie są dołączone do zestawu testu **cobas® HBV**. Należy zapoznać się z listą wymaganych materiałów dodatkowych (Tabela 9).

** Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

*** Substancja niebezpieczna.

Wymagania dotyczące przechowywania odczynników

Odczynniki należy przechowywać i użytkować zgodnie z informacjami, które prezentuje Tabela 5, Tabla 6 i Tabela 7.

Jeśli odczynniki nie zostały umieszczone w **cobas® 5800/6800/8800**, należy przechowywać je w odpowiedniej temperaturze, zgodnie z informacjami, które zawiera Tabela 5.

Tabela 5 Przechowywanie odczynników (umieszczonych poza systemem)

Odczynnik	Temperatura przechowywania
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

Wymagania dotyczące użytkowania systemu cobas® 5800

Odczynniki umieszczone w systemie **cobas® 5800** przechowywane są w odpowiedniej temperaturze, a ich data przydatności do użycia monitorowana jest przez system. System umożliwia wykorzystanie odczynników tylko w przypadku spełnienia wszystkich warunków, które zawiera Tabela 7. System automatycznie uniemożliwia wykorzystanie przeterminowanych odczynników. Tabla 6 umożliwia użytkownikowi zrozumienie warunków użytkowania odczynników wymuszanych przez system **cobas® 5800**.

Tabla 6 Warunki dotyczące daty ważności odczynników wymuszane przez system **cobas® 5800**

Odczynnik	Data ważności zestawu	Stabilność otwartego zestawu	Liczba przebiegów pracy, do których można wykorzystać zestaw	Stabilność na pokładzie aparatu
cobas® HBV	Nieprzekroczona	90 dni od pierwszego użycia	Maksymalnie 40 przebiegów	Maks. 36 dni*
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy ¹	Nie dotyczy	Maks. 36 dni*
cobas® NHP Negative Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy ¹	Nie dotyczy	Maks. 36 dni*
cobas omni Lysis Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni MGP Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Specimen Diluent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Wash Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy

¹ Odczynniki jednorazowe.

* Czas jest mierzony od umieszczenia po raz pierwszy odczynnika w systemie **cobas® 5800**.

Wymagania dotyczące użytkowania systemów cobas® 6800/8800

Odczynniki umieszczone w systemach cobas® 6800/8800 przechowywane są w odpowiedniej temperaturze, a ich data przydatności do użycia monitorowana jest przez system. Systemy cobas® 6800/8800 umożliwiają wykorzystanie odczynników tylko w przypadku spełnienia wszystkich warunków, które zawiera Tabela 7. System automatycznie uniemożliwia wykorzystanie przeterminowanych odczynników. Tabela 7 umożliwia zrozumienie wymuszonych przez systemy cobas® 6800/8800 warunków użytkowania odczynników.

Tabela 7 Warunki dotyczące daty ważności odczynników wymuszane przez systemy cobas® 6800/8800

Odczynnik	Data ważności zestawu	Stabilność otwartego zestawu	Liczba przebiegów pracy, do których można wykorzystać zestaw	Stabilność na pokładzie urządzenia (łącznie czas w urządzeniu poza chłodziarką)
cobas® HBV	Nieprzekroczona	90 dni od pierwszego użycia	Maksymalnie 40 przebiegów	Maksymalnie 40 godzin
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy ^a	Nie dotyczy	Maksymalnie 8 godzin
cobas® NHP Negative Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy ^a	Nie dotyczy	Maksymalnie 10 godzin
cobas omni Lysis Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni MGP Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Specimen Diluent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Wash Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy

^a Odczynniki jednorazowe.

* Czas jest mierzony od umieszczenia po raz pierwszy odczynnika w systemach cobas® 6800/8800.

Materiały dodatkowe wymagane dla systemu cobas® 5800

Tabela 8 Materiały i materiały zużywalne do użytku z systemem cobas® 5800

Material	P/N
cobas omni Processing Plate 24	08413975001
cobas omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Końcówki CORE TIPS z filtrem, 1 ml	04639642001
Końcówki CORE TIPS z filtrem, 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
Worek na odpady stałe lub Worek na odpady stałe z wkładką	07435967001 lub 08030073001

Materiały dodatkowe wymagane dla systemów cobas® 6800/8800

Tabela 9 Materiały i materiały zużywalne do użytku z systemami 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
Worek na odpady stałe i pojemnik na odpady stałe lub Worek na odpady stałe z wkładką i szuflada na zestawy	07435967001 i 07094361001 lub 08030073001 i 08387281001

Wymagane urządzenia i oprogramowanie

W urządzeniu **cobas® 5800** należy zainstalować oprogramowanie systemu **cobas® 5800** oraz pakiet oprogramowania do analizy **cobas® HBV** dla urządzenia **cobas® 5800**. Z systemem zostanie dostarczone oprogramowanie x800 Data Manager oraz komputer PC dla systemu **cobas® 5800**.

W urządzeniu(-ach) należy zainstalować oprogramowanie **cobas® 6800/8800** oraz pakiet oprogramowania do analizy **cobas® HBV** dla systemów **cobas® 6800/8800**. Z systemem dostarczany jest serwer Instrument Gateway (IG).

Tabela 10 Urządzenia

Wyposażenie	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System (opcja, na ruchomej platformie)	05524245001 i 06379672001
cobas® 6800 System (nieruchomy)	05524245001 i 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Moduł dostarczania próbek	06301037001

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z podręcznikiem użytkownika i/lub instrukcją obsługi systemu **cobas® 5800** lub systemów **cobas® 6800/8800**.

Uwaga: szczegółową listę zamówień na statywy próbkowe, statywy na niedrożne końcówki i tace na statywy akceptowane przez urządzenia można uzyskać po skontaktowaniu się z przedstawicielem serwisu Roche.

Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania

Ostrzeżenia i środki ostrożności

Podobnie jak w przypadku każdej procedury testowej, dla prawidłowego przeprowadzenia badania kluczowe znaczenie ma zachowanie zasad dobrej praktyki laboratoryjnej. Z uwagi na wysoką czułość niniejszego testu podczas użytkowania odczynników oraz mieszanin do amplifikacji należy zachować szczególną ostrożność, aby zapobiec zanieczyszczeniu.

- Do stosowania wyłącznie w diagnostyce *in vitro*.
- Test **cobas®** HBV nie został oceniony pod kątem stosowania jako badanie przesiewowe na obecność wirusa HBV we krwi lub produktach krwiopochodnych ani do stosowania jako test diagnostyczny, potwierdzający zakażenie wirusem HBV.
- Ze wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak jak z materiałem zakaźnym, stosując procedury dobrej praktyki laboratoryjnej, takie jak określone w dokumentach Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories oraz CLSI Document M29-A4.^{19, 20} Procedurę tę powinien wykonywać wyłącznie personel przeszkolony w pracy z materiałami zakaźnymi oraz w stosowaniu testu **cobas®** HBV i systemu **cobas®** 5800 lub systemu **cobas®** 6800/8800.
- Wszystkie materiały pochodzenia ludzkiego należy uważać za potencjalnie zakaźne i postępować z nimi z zastosowaniem ogólnych środków ostrożności. W przypadku rozlania materiału należy natychmiast odkazić świeżo przygotowanym 0,5% roztworem podchlorynu sodu w destylowanej lub dejonizowanej wodzie (wybielacz rozcieńczony w stosunku 1:10) lub postępować zgodnie z procedurami przyjętymi w danym ośrodku.
- **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 Control Kit oraz **cobas®** NHP Negative Control Kit zawierają osocze uzyskane z krwi ludzkiej. Materiał źródłowy był badany z wykorzystaniem licencjonowanych testów z użyciem przeciwciał i nie wykazywał obecności przeciwciał przeciwko wirusom HCV, HIV-1/2, antygenu HBsAg ani przeciwciał przeciwko antygenowi HBc. Badanie prawidłowego osocza ludzkiego z użyciem metod PCR również nie wykazało obecności RNA wirusa HIV-1 (grup M i O), RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV ani DNA wirusa HBV. Żadna ze znanych metod badania nie może zaoferować całkowitej pewności, że produkty otrzymane z ludzkiej krwi nie będą przenosić czynników zakaźnych.
- **Nie zamrażać pełnej krwi ani innych próbek przechowywanych w probówkach pierwotnych.**
- W celu zagwarantowania optymalnego działania testu należy stosować wyłącznie dostarczone lub wymienione potrzebne materiały zużywalne.
- Karty charakterystyki są dostępne na żądanie w lokalnym przedstawicielstwie firmy Roche.
- Ściśle przestrzegać podanych procedur i wytycznych w celu zapewnienia prawidłowego wykonania testu. Wszelkie odchylenia od procedur i wytycznych mogą mieć wpływ na optymalną skuteczność testu.
- Jeżeli w trakcie pracy z próbkami i ich przygotowywania nie stosuje się odpowiedniej kontroli kontaminacji pomiędzy próbkami, może dojść do uzyskania fałszywie dodatnich wyników.
- Należy poinformować lokalny właściwy organ o wszelkich poważnych zdarzeniach, które mogą wystąpić podczas stosowania tego testu.

Użytkowanie odczynników

- Aby uniknąć zanieczyszczenia pomiędzy próbkami lub kontrolami, ze wszystkimi odczynnikami, kontrolami i próbkami należy postępować zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej.
- Przed użyciem należy ocenić wzrokowo każdą kasetę odczynnikową, rozcieńczalnik, odczynnik do lizy i odczynnik płuczający, aby upewnić się, że nie ma jakiegokolwiek wycieku. W razie wystąpienia wycieku nie wolno używać tego materiału do badania.
- **cobas omni** Lysis Reagent zawiera izotiocyanian guanidyny, potencjalnie niebezpieczną substancję chemiczną. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia.

- Zestawy testu **cobas®** HBV, **cobas omni** MGP Reagent oraz **cobas omni** Specimen Diluent zawierają azydek sodu jako substancję konserwującą. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia. Jeżeli dojdzie do rozlania wymienionych odczynników, przed wytarciem należy rozcieńczyć je wodą.
- Nie wolno dopuszczać do kontaktu **cobas omni** Lysis Reagent, zawierającego tiocyjanian guanidyny, z roztworem podchlorynu sodu (wybielaczem). Połączenie to może skutkować wytworzeniem silnie trującego gazu.
- Wszystkie materiały, które przypadkowo weszły w kontakt z próbkami i odczynnikami, należy utylizować zgodnie z przepisami krajowymi i lokalnymi.

Dobra praktyka laboratoryjna

- Nie należy pipetować za pomocą ust.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić tytoniu w obszarach roboczych.
- Podczas pracy z próbkami i odczynnikami należy nosić rękawiczki laboratoryjne, fartuch oraz osłonę oczu. W celu uniknięcia zanieczyszczenia należy zmieniać rękawice pomiędzy obchodzeniem się z próbkami i użytkowaniem zestawów **cobas®** HBV oraz odczynników **cobas omni**. Podczas pracy z próbkami i kontrolami należy unikać zanieczyszczenia rękawiczek.
- Po zakończeniu pracy z próbkami i zestawami odczynnikowymi oraz po zdjęciu rękawiczek należy dokładnie umyć ręce.
- Dokładnie oczyścić i odkazić wszystkie laboratoryjne powierzchnie robocze świeżo przygotowanym roztworem 0,5% podchlorynu sodu w wodzie destylowanej lub dejonizowanej (rozcieńczyć domowy wybielacz w stosunku 1:10). Następnie przetrzeć powierzchnię 70% etanolem.
- Jeśli na powierzchni urządzenia **cobas®** 5800 dojdzie do rozlania płynu, należy postępować zgodnie z instrukcjami zamieszczonymi w podręczniku użytkownika i/lub instrukcji obsługi systemów **cobas®** 5800 w celu prawidłowego wyczyszczenia i odkażenia powierzchni urządzenia (urządzeń).
- Jeśli na powierzchni urządzenia **cobas®** 6800/8800 dojdzie do rozlania płynu, należy postępować zgodnie z instrukcjami zamieszczonymi w podręczniku użytkownika i/lub instrukcji obsługi systemów **cobas®** 6800/8800 w celu prawidłowego wyczyszczenia i odkażenia powierzchni urządzenia (urządzeń).

Pobieranie, transport i przechowywanie próbek

Uwaga: ze wszystkimi próbkami należy obchodzić się jak z materiałem potencjalnie zakaźnym.

Wszystkie próbki należy przechowywać w określonych temperaturach.

Podwyższona temperatura wpływa na stabilność próbek.

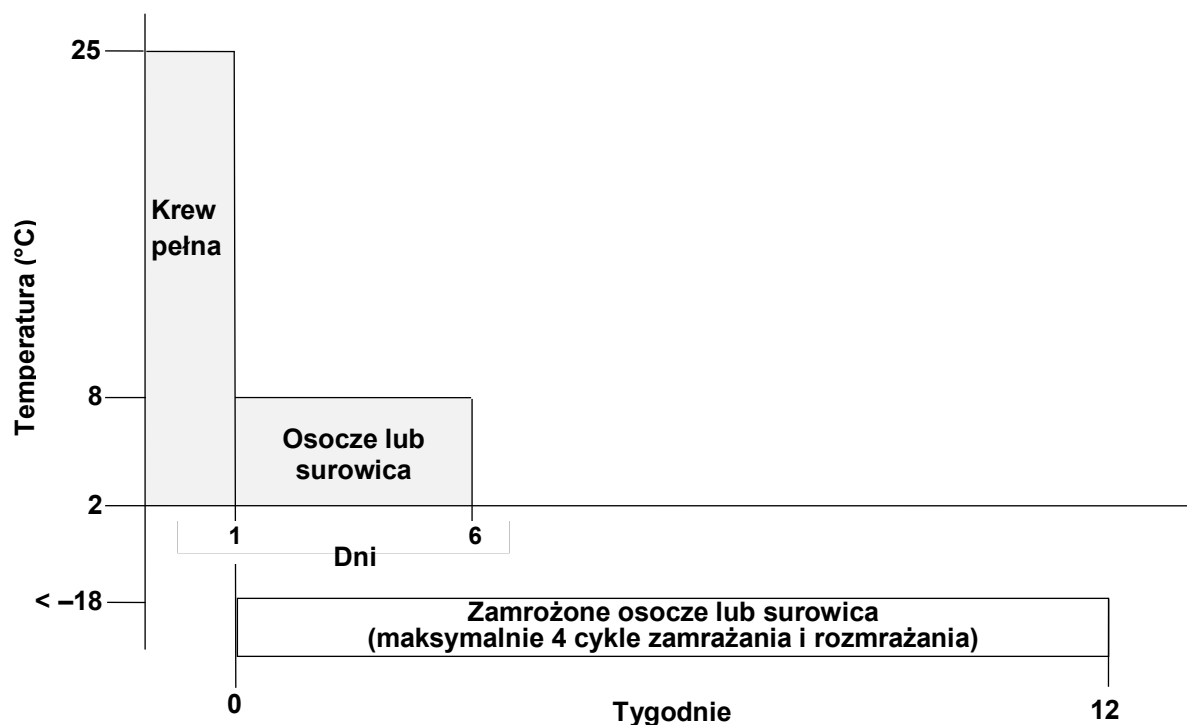
W przypadku używania próbek zamrożonych w probówkach wtórnych, należy umieścić próbki w temperaturze pokojowej (15–30°C) aż do całkowitego ich rozmrożenia, a następnie krótko wymieszać (np. na mieszadle wibracyjnym przez 3–5 sekund) i odwirować w celu zebrania się całej objętości próbki na dnie probówki.

Próbki

- Krew pełną należy pobierać do probówek do rozdziału surowicy SST™, probówek do otrzymywania osocza BD Vacutainer® PPT™, przeznaczonych do metod diagnostyki molekularnej lub sterylnych probówek zawierających EDTA jako antykoagulant. Należy przestrzegać instrukcji producenta probówek do pobierania próbek. Patrz Ryc. 1.
- Krew pełna pobrana do probówek do rozdziału surowicy SST™, probówek przeznaczonych do testów diagnostyki molekularnej BD Vacutainer® PPT™ lub sterylnych probówek zawierających EDTA jako antykoagulant może być przechowywana i/lub transportowana do 24 godzin w temperaturze od 2°C do 25°C przed przygotowaniem osocza lub surowicy. Wirowanie powinno być przeprowadzane zgodnie z instrukcjami producenta.

- Po rozdzieleniu próbki osocza/surowicy można przechowywać w probówkach wtórnych przez maksymalnie 6 dni w temperaturze od 2°C do 8°C lub przez okres do 12 tygodni w temperaturze $\leq -18^{\circ}\text{C}$.
- W celu długoterminowego przechowywania (do 6 miesięcy) zaleca się stosować temperatury $\leq -60^{\circ}\text{C}$.
- Próbkę osocza/surowicy zachowują stabilność przez maksymalnie cztery cykle zamrażania/rozmarzania w przypadku zamrożenia w temperaturze $\leq -18^{\circ}\text{C}$.

Ryc. 1 Warunki przechowywania próbek



- Jeśli próbki mają być przesyłane, należy je opakować i oznaczyć zgodnie z odpowiednimi krajowymi i/lub międzynarodowymi przepisami dotyczącymi transportu próbek i czynników zakaźnych.

Instrukcja użytkowania

Uwagi proceduralne

- Nie należy używać odczynników testu **cobas® HBV**, **cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit**, **cobas® NHP Negative Control Kit** i odczynników **cobas omni** po upływie ich daty ważności.
- Nie wykorzystywać ponownie materiałów zużywalnych. Są one przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku.
- Instrukcje dotyczące prawidłowej konserwacji urządzeń zawiera podręcznik użytkownika i/lub instrukcja obsługi systemu **cobas® 5800** lub systemów **cobas® 6800/8800**.

Wykonanie testu cobas® HBV w systemie cobas® 5800

Test **cobas®** HBV można oznaczać przy użyciu wymaganych objętości próbki 350 µl (procedura dla próbki 200 µl) i 650 µl (procedura dla próbki 500 µl). Procedurę wykonywania testu opisano szczegółowo w Podręczniku użytkownika i/lub instrukcji obsługi systemu **cobas®** 5800. Ryc. 2 podsumowuje tę procedurę.

Ryc. 2 Procedura testu **cobas®** HBV w systemie **cobas®** 5800

1	Zaloguj się do systemu
2	Załaduj próbki do systemu: • Załaduj statywy z próbkami do systemu • System przeprowadzi automatyczne przygotowanie • Zleć testy
3	Po poproszeniu przez system uzupełnij odczynniki i materiały zużywalne przez system: • Załaduj swoistą dla testu kasetę (kasety) na odczynniki • Załaduj mini statywy z kontrolami • Załaduj końcówki do przetwarzania • Załaduj końcówki do elucji • Załaduj płytki do przetwarzania • Załaduj płytki na odpady płynne • Załaduj płytki amplifikacyjne • Załaduj kasetę MGP • Uzupełnij rozcieńczalnik próbki • Uzupełnij odczynnik lizujący • Uzupełnij odczynnik płuczący
4	Rozpocznij przebieg przez wybranie przycisku „Start processing” (Start przetwarzania) w interfejsie użytkownika; wszystkie kolejne przebiegi rozpoczną się automatycznie, o ile nie zostaną ręcznie odłożone
5	Sprawdź i wyeksportuj wyniki
6	W razie potrzeby wyjmij i zamknij probówki z próbkami spełniające wymogi dotyczące minimalnej objętości do użycia w przyszłości Oczyść aparat: • Wyjmij puste mini statywy z kontrolami • Wyładuj pustą swoistą dla testu kasetę (kasety) na odczynniki • Opróżnij szufladę na płytki amplifikacyjne • Usuń odpady płynne • Usuń odpady stałe

Wykonanie testu cobas® HBV w systemach cobas® 6800/8800

Test cobas® HBV można oznaczać przy użyciu dwóch minimalnych objętości próbki 350 µl (procedura dla próbki 200 µl) i 650 µl (procedura dla próbki 500 µl). Procedurę wykonywania testu opisano szczegółowo w Podręczniku użytkownika i/lub instrukcji obsługi systemów cobas® 6800/8800. Ryc. 3 podsumowuje tę procedurę.

Ryc. 3 Procedura testu cobas® HBV w systemach cobas® 6800/8800

1	Zaloguj się do systemu Naciśnij przycisk Start, aby przygotować system Złóż testy
2	Po poproszeniu przez system uzupełnij odczynniki i materiały zużywalne przez system: • Załaduj swoistą dla testu kasetę na odczynniki • Załaduj kasety z kontrolami • Załaduj końcówki pipetujące • Załaduj płytki do przetwarzania • Załaduj odczynnik MGP Reagent • Załaduj płytki amplifikacyjne • Uzupełnij rozcieńczalnik próbki • Uzupełnij odczynnik lizujący • Uzupełnij odczynnik płuczący
3	Załaduj próbki do systemu: • Załaduj ramki na próbki i ramki na niedrożne końcówki do modułu dostarczania próbek • Potwierdź, że próbki zostały przyjęte do modułu transferu
4	Rozpocznij przebieg przez wybranie przycisku Start manualnie w interfejsie użytkownika lub ustaw automatyczne rozpoczęcie przebiegu po 120 minutach bądź po zapełnieniu partii
5	Sprawdź i wyeksportuj wyniki
6	W razie potrzeby wyjmij i zamknij próbki z próbkami spełniające wymogi dotyczące minimalnej objętości do użycia w przyszłości Oczyść aparat: • Wyjmij puste kasety z kontrolami • Opróżnij szufladę na płytki amplifikacyjne • Usuń odpady płynne • Usuń odpady stałe

Wyniki

System **cobas**® 5800 i systemy **cobas**® 6800/8800 automatycznie określają stężenie DNA wirusa HBV w próbkach i kontrolach. Stężenie DNA HBV wyraża się w jednostkach międzynarodowych IU (International Units) na mililitr (IU/ml).

Kontrola jakości i ważność wyników w systemie **cobas**® 5800

- W każdej partii przetwarzana jest jedna ujemna kontrola [(-) C] i dwie kontrole dodatnie, kontrola nisko dodatnia [HBV L(+)C] oraz kontrola wysoko dodatnia [HBV H(+)C] są przetwarzane przynajmniej co 72 godziny lub z każdą nową serią zestawu. Wykonywanie kontroli dodatnich i/lub ujemnych można zaplanować częściej, w zależności od procedury laboratorium i/lub miejscowych przepisów.
- W celu zagwarantowania ważności partii należy sprawdzić w oprogramowaniu systemu **cobas**® 5800 i/lub w raporcie obecność flag oraz powiązane z nimi wyniki.
- Partia jest ważna, jeśli nie zostaną wygenerowane flagi dla wszystkich trzech kontroli (jednej kontroli ujemnej i dwóch kontroli dodatnich): HBV L(+)C, HBV H(+)C. Wynik kontroli ujemnej jest wyświetlany jako (-) C, a kontrola nisko dodatnia i wysoko dodatnia są wyświetlane odpowiednio jako HxV L(+)C i HxV H(+)C.

Wyniki są unieważniane automatycznie przez oprogramowanie **cobas**® 5800 na podstawie uzyskania niepomysłnych wyników kontroli ujemnej lub kontroli dodatniej.

UWAGA: system **cobas**® 5800 zostanie dostarczony ze standardowymi ustawieniami oznaczania zestawu kontroli (dodatnich i ujemnych) z każdym przebiegiem, ale można go skonfigurować do rzadszego wykonywania kontroli, aż do co 72 godzin, w zależności od procedur laboratorium i/lub miejscowych przepisów. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy skontaktować się z inżynierem serwisu firmy Roche i/lub pomocą techniczną firmy Roche.

Wyniki kontroli w systemie **cobas**® 5800

Wyniki kontroli przedstawia aplikacja „Controls” oprogramowania **cobas**® 5800.

- Kontrole oznaczone są „Valid” (Ważne) w kolumnie „Control result” (Wynik kontroli), jeśli wszystkie sekwencje docelowe kontroli zostały zgłoszone jako ważne. Kontrole oznaczone są „Invalid” (Nieważne) w kolumnie „Control result” (Wynik kontroli), jeśli wszystkie sekwencje docelowe kontroli zostały zgłoszone jako nieważne.
- Kontrole oznaczone jako „Invalid” (Nieważne) w kolumnie „Flags” (Flagi) oznaczone są flagą. Więcej informacji na temat powodu zgłoszenia kontroli jako nieważnej, włącznie z informacją o fladze, dostępnych jest w widoku szczegółowym.
- Jeśli nieważna jest jedna z kontroli dodatnich, należy powtórzyć oznaczenie wszystkich kontroli dodatnich i powiązanych z nimi próbek. Jeśli nieważna jest kontrola ujemna, należy powtórzyć oznaczenie wszystkich kontroli i powiązanych z nimi próbek.

Kontrola jakości i ważność wyników w systemach **cobas**® 6800/8800

- W każdej partii przetwarzana jest jedna ujemna kontrola [(-) C] i dwie kontrole dodatnie: kontrola nisko dodatnia [HBV L(+)C] oraz kontrola wysoko dodatnia [HBV H(+)C].
- W celu zagwarantowania ważności partii należy sprawdzić w oprogramowaniu systemów **cobas**® 6800/8800 i/lub w raportach obecność flag oraz powiązane z nimi wyniki.
- Partia jest ważna, jeśli nie zostaną wygenerowane flagi dla wszystkich trzech kontroli (jednej kontroli ujemnej i dwóch kontroli dodatnich): HBV L(+)C, HBV H(+)C. Wynik kontroli ujemnej jest wyświetlany jako (-) C, a kontrola nisko dodatnia i wysoko dodatnia są wyświetlane odpowiednio jako HxV L(+)C i HxV H(+)C.

Wyniki zostaną automatycznie unieważnione przez oprogramowanie **cobas**® 6800/8800 na podstawie uzyskania niepomysłnych wyników kontroli ujemnej i kontroli dodatnich.

Flagi kontroli w systemach cobas® 6800/8800

Tabela 11 Oflagowania kontroli ujemnej i kontroli dodatnich

Kontrola ujemna	Oflagowanie	Wynik	Interpretacja
(-) C	Q02 (Nie powiodła się analiza partii kontrolnej)	Nieważny	Wynik oznaczony jako nieważny lub wynik obliczonego miana kontroli ujemnej nie jest wynikiem ujemnym.
Kontrola dodatnia	Oflagowanie	Wynik	Interpretacja
HxV L(+)C	Q02 (Nie powiodła się analiza partii kontrolnej)	Nieważny	Wynik oznaczony jako nieważny lub obliczone miano dla kontroli nisko dodatniej nie mieści się w określonym zakresie.
HxV H(+)C	Q02 (Nie powiodła się analiza partii kontrolnej)	Nieważny	Wynik oznaczony jako nieważny lub obliczone miano dla kontroli wysoko dodatniej nie mieści się w określonym zakresie.

Jeśli partia zostanie unieważniona, należy powtórzyć badanie całej partii z uwzględnieniem próbek i kontroli.

HxV L(+)C oznacza w oprogramowaniu systemu **cobas® 6800/8800** kontrolę nisko dodatnią **cobas® HBV/HCV/HIV-1** a HxV H(+)C oznacza kontrolę wysoko dodatnią **cobas® HBV/HCV/HIV-1**.

Interpretacja wyników

W przypadku ważnej partii kontroli należy sprawdzić w oprogramowaniu systemu **cobas® 5800** i/lub systemów **cobas® 6800/8800** i/lub raportach poszczególne próbki pod kątem obecności flag. Wyniki należy interpretować w następujący sposób:

- Ważna partia może obejmować zarówno ważne, jak i nieważne wyniki próbek.

Tabela 12 Interpretacja wyników dla poszczególnych targetów

Wyniki	Interpretacja
Target Not Detected	Nie wykryto HBV DNA. Podać wynik jako „Nie wykryto HBV”.
< Titer Min	Obliczone miano jest niższe od dolnej granicy oznaczalności testu (LLoQ). Podać wynik jako „Wykryto HBV, miano poniżej (miano min.)”. Miano min. = 10 IU/ml (500 µl) Miano min. = 25 IU/ml (200 µl)
Titer	Obliczone miano znajduje się w zakresie liniowym testu — jest większe lub równie mianu min. oraz mniejsze lub równe mianu maks. Podać wynik jako „Wykryto (miano) HBV”.
> Titer Max ^a	Obliczone miano jest wyższe od górnej granicy oznaczalności testu (ULoQ). Podać wynik jako „Wykryto HBV, miano powyżej (miano maks.)”. Miano maks. = 1,00E+09 IU/ml (500 µl i 200 µl)

^a Wynik próbki > Titer Max odnosi się do HBV dodatnich próbek z mianami powyżej górnej granicy oznaczalności testu (ULoQ). Jeśli potrzebny jest wynik ilościowy, oryginalną próbkę należy rozcieńczyć HBV-ujemnym ludzkim osoczem pobranym na EDTA lub surowicą, w zależności od typu oryginalnej próbki, a następnie powtórzyć test. Otrzymany wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

Interpretacja wyników w systemie cobas® 5800

Wyniki próbek przedstawia aplikacja „Results” oprogramowania **cobas® 5800**.

W przypadku ważnej partii kontroli należy sprawdzić w oprogramowaniu systemu **cobas® 5800** i/lub raportach poszczególne próbki pod kątem obecności flag. Wyniki należy interpretować w następujący sposób:

- Próbki powiązane z ważną partią kontroli wyświetlane są jako „Valid” (Ważne) w kolumnie „Control result” (Wynik kontroli), jeśli wszystkie wyniki docelowe kontroli zgłaszane są jako ważne. Próbki powiązane z błędną partią kontroli wyświetlane są jako „Invalid” (Nieważne) w kolumnie „Control result” (Wynik kontroli), jeśli wszystkie wyniki docelowe kontroli zgłaszane są jako nieważne.
- Jeśli powiązane kontrole wyniku próbki są nieważne, do wyniku próbki zostanie dodana określona flaga:
 - Q05D: Niepowodzenie weryfikacji wyniku z powodu nieważnej kontroli dodatniej
 - Q06D: Niepowodzenie weryfikacji wyniku z powodu nieważnej kontroli ujemnej
- Wartości w kolumnie „Results” (Wyniki) dla poszczególnych wyników docelowych próbek powinny być interpretowane zgodnie z tym, co przedstawia Tabela 12 powyżej.
- Jeśli przynajmniej jedna wartość docelowa próbki jest oznaczona „Invalid” (Nieważny), oprogramowanie **cobas® 5800** wyświetla flagę w kolumnie „Flags” (Flagi). Więcej informacji na temat powodu zgłoszenia wartości docelowej próbki jako nieważnej, włącznie z informacją o fladze, dostępnych jest w widoku szczegółowym.

Interpretacja wyników w systemach cobas® 6800/8800

W przypadku ważnej partii należy sprawdzić w oprogramowaniu systemów **cobas® 6800/8800** i/lub raportach poszczególne próbki pod kątem obecności flag. Wyniki należy interpretować w następujący sposób:

- Próbki są oznaczane jako „Yes” (Tak) w kolumnie „Valid” (Ważna), jeżeli wszystkie pozyskane wyniki docelowe okazały się wynikami ważnymi. Próbki oznaczone „No” (Nie) w kolumnie „Valid” (Ważna) mogą wymagać dodatkowej interpretacji i działania.
- Wartości dla poszczególnych wyników docelowych próbek powinny być interpretowane zgodnie z tym, co przedstawia Tabela 12 powyżej.

Ograniczenia metody

- Test **cobas® HBV** został oceniony jedynie pod kątem stosowania razem z **cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit**, **cobas® NHP Negative Control Kit**, **cobas omni MGP Reagent**, **cobas omni Lysis Reagent**, **cobas omni Specimen Diluent** oraz **cobas omni Wash Reagent** do użytku w systemach **cobas® 5800/6800/8800**.
- Uzyskanie wiarygodnych wyników zależy od prawidłowych procedur pobierania, przechowywania i dalszego postępowania z próbkami.
- Ten test został zatwierdzony wyłącznie do badania osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA. Badanie innych rodzajów próbek może dawać nieprawidłowe wyniki.
- Oznaczenie ilościowe DNA wirusa HBV zależy od liczby cząstek wirusa obecnych w próbce i mogą na nie mieć wpływ: metoda pobrania próbki, czynniki zależne od pacjenta (tj. wiek, obecność objawów) i/lub stadium zakażenia.
- Mutacje w obrębie wysoko konserwatywnych regionów genomu wirusowego, z którymi wiążą się startery i/lub sondy używane w teście **cobas® HBV** — chociaż rzadkie — mogą wpływać na wiązanie starterów i/lub sond oraz spowodować zaniżenie miana lub niewykrycie wirusa.
- Z uwagi na różnice pomiędzy metodami zaleca się, aby przed zmianą użytkownik przeprowadził w laboratorium badania korelacji stosowanych metod w celu określenia występujących pomiędzy nimi różnic jakościowych. Użytkownicy powinni postępować zgodnie z własnymi określonymi zasadami/procedurami.
- Test **cobas® HBV** nie jest przeznaczony do przesiewowego badania na obecność wirusa HBV we krwi lub produktach krwiopochodnych ani do stosowania jako test diagnostyczny, potwierdzający zakażenie wirusem HBV.

Niekliniczna ocena wiarygodności

Najważniejsze parametry działania wykonywanego w systemach cobas® 6800/8800

Granica wykrywalności (LoD)

Międzynarodowy standard WHO

Granice wykrywalności testu **cobas®** HBV określono na podstawie analizy serii rozcieńczeń międzynarodowego standardu WHO dla DNA wirusa zapalenia wątroby typu B do oznaczeń opartych na technologii amplifikacji kwasów nukleinowych (2nd WHO International Standard), genotyp A, uzyskanego z Krajowego Instytutu ds. Standardów i Kontroli Biologicznych (NIBSC) w HBV-ujemnym ludzkim osoczu z EDTA i surowicy z użyciem objętości przetwarzania wynoszących 500 µl i 200 µl. Panel składający się z ośmiu poziomów stężeń i kontroli ujemnej testowano z użyciem objętości przetwarzania próbki 500 µl oraz dziewięciu poziomów stężenia dla objętości przetwarzania próbki 200 µl w trzech seriach odczynników testu **cobas®** HBV, w wielu seriach i dniach, wykonywanych przez różnych użytkowników i na różnych aparatach.

Wyniki dla osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA z obu objętości zamieszczono w tabelach odpowiednio od Tabela 13 do Tabela 16. Badanie wykazało, że test **cobas®** HBV wykrywał DNA HBV przy stężeniu 3 IU/ml z odsetkiem trafności $\geq 95\%$ w przypadku objętości przetwarzania próbki 500 µl i przy stężeniu 17,5 IU/ml z odsetkiem trafności $\geq 95\%$, w przypadku objętości przetwarzania próbki 200 µl w osoczu krwi pobranej na EDTA. W przypadku surowicy badanie wykazało, że test **cobas®** HBV wykrywał HBV DNA przy stężeniu 3 IU/ml z odsetkiem trafności $\geq 95\%$ w przypadku objętości przetwarzania próbki 500 µl i przy stężeniu 15 IU/ml z odsetkiem trafności $\geq 95\%$ w przypadku objętości przetwarzania próbki 200 µl.

Tabela 13 Granica wykrywalności w osoczu z EDTA (500 µl)

Stężenie wejściowe (DNA HBV IU/ml)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w %
20,0	189	189	100,00
10,0	189	189	100,00
8,0	189	189	100,00
6,0	189	189	100,00
5,0	189	188	99,47
4,0	189	185	97,88
3,0	189	183	96,83
2,0	189	166	87,83
LoD w analizie PROBIT przy 95% trafności	2,7 IU/ml 95% przedział ufności: 2,4–3,1 IU/ml		

Tabela 14 Granica wykrywalności w surowicy (500 µl)

Stężenie wejściowe (DNA HBV IU/ml)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w %
20,0	189	189	100,00
10,0	189	189	100,00
8,0	189	189	100,00
6,0	189	189	100,00
5,0	189	188	99,47
4,0	189	186	98,41
3,0	189	187	98,94
2,0	189	172	91,01
LoD w analizie PROBIT przy 95% trafności	2,4 IU/ml 95% przedział ufności: 2,0–2,7 IU/ml		

Tabela 15 Granica wykrywalności w osoczu z EDTA (200 µl)

Stężenie wejściowe (DNA HBV IU/ml)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w %
50,0	189	189	100,00
30,0	189	189	100,00
25,0	189	188	99,47
20,0	189	189	100,00
17,5	189	182	96,30
15,0	189	179	94,71
12,5	189	170	89,95
10,0	189	142	75,13
5,0	189	87	46,03
LoD w analizie PROBIT przy 95% trafności	15,5 IU/ml 95% przedział ufności: 14,4–16,9 IU/ml		

Tabela 16 Granica wykrywalności w surowicy (200 µl)

Stężenie wejściowe (DNA HBV IU/ml)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w %
50,0	189	189	100,00
30,0	189	189	100,00
25,0	189	189	100,00
20,0	189	187	98,94
17,5	189	189	100,00
15,0	189	184	97,35
12,5	189	174	92,06
10,0	189	170	89,95
5,0	189	107	56,61
LoD w analizie PROBIT przy 95% trafności	12,5 IU/ml 95% przedział ufności: 11,6–13,8 IU/ml		

Zakres liniowości

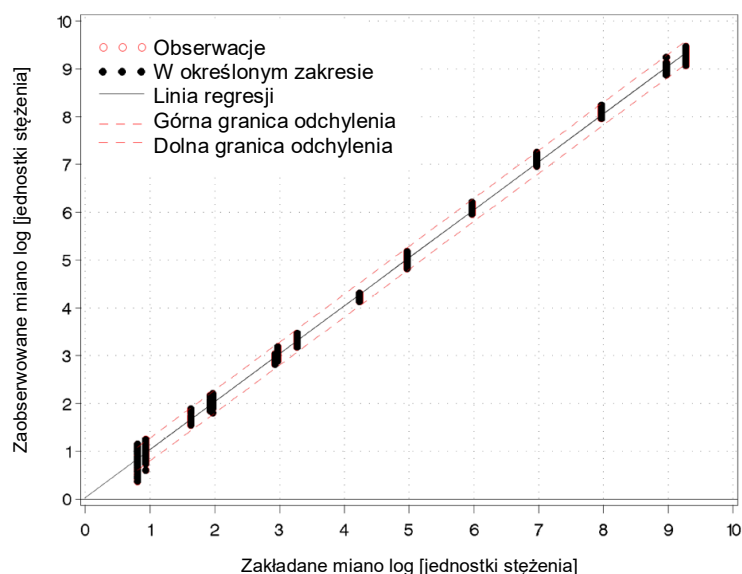
Badanie liniowości testu **cobas**® HBV przeprowadzono z seriami rozcieńczeń obejmującymi 15-elementowy panel obejmujący zamierzony zakres liniowy dominującego genotypu (GT A). Elementy panelu o najwyższym mianie zostały przygotowane z DNA plazmidowego HBV o wysokim mianie dostępnym na rynku, a elementy panelu o niższym mianie zostały przygotowane z próbki klinicznej. Panel liniowości opracowano tak, aby pomiędzy dwoma materiałami próbki występowało zachodzenie miana wynoszące około $2 \log_{10}$. Oczekiwany zakres liniowy testu **cobas**® HBV zawiera się w przedziale od LLoQ (10 IU/ml przy objętości przetwarzania próbki 500 μ l oraz 25 IU/ml przy objętości przetwarzania próbki 200 μ l) do ULoQ (1,00E+09 IU/ml). Panel liniowości opracowano tak, aby rozciągał się od jednego poziomu stężenia poniżej (np. 7,5 IU/ml) do jednego poziomu stężenia nad ULoQ (np. 2,0E+09 IU/ml) oraz by uwzględniał kluczowe punkty decyzji medycznych. Ponadto panel liniowości opracowano, aby częściowo obsługiwał etapy $1,0 \log_{10}$ w obrębie zakresu liniowości. Dla każdego należącego do panelu elementu podano znamionowe stężenie w IU/ml oraz źródło DNA HBV.

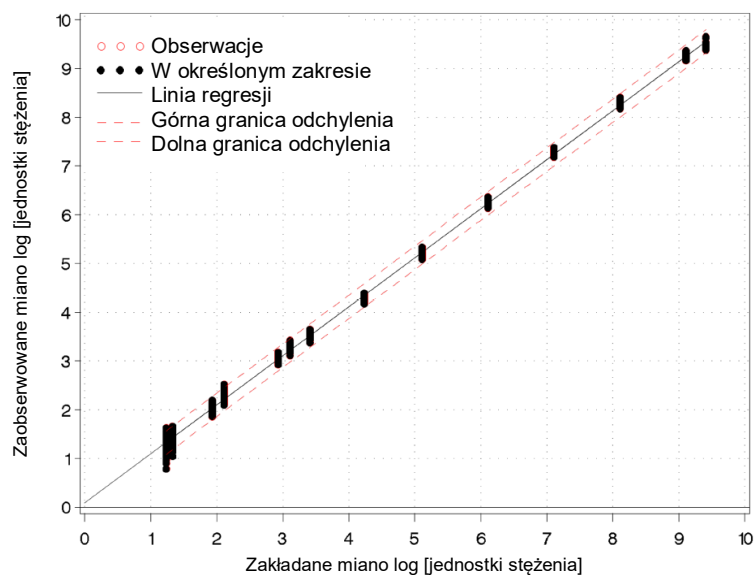
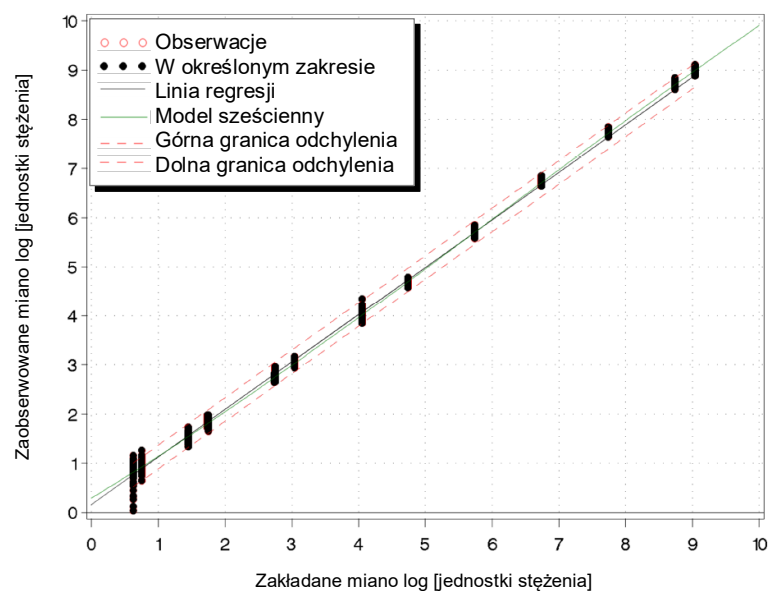
Przy używaniu objętości przetwarzania 500 μ l test **cobas**® HBV ma przebieg liniowy dla osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA od 10 IU/ml do 1,00E+09 IU/ml i wykazuje bezwzględne odchylenie od lepiej dopasowanej regresji nieliniowej poniżej $\pm 0,2 \log_{10}$. W zakresie liniowym dokładność testu mieściła się w granicach $\pm 0,24 \log_{10}$.

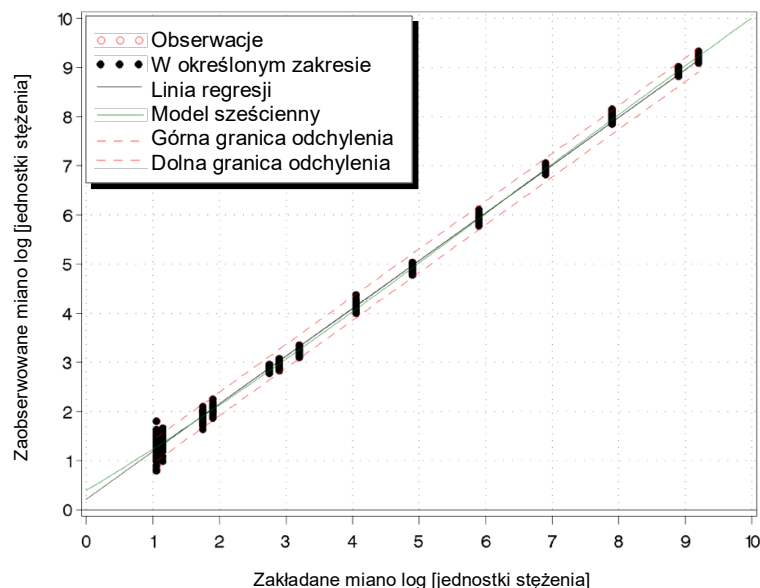
Przy używaniu objętości przetwarzania 200 μ l test **cobas**® HBV ma przebieg liniowy dla osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA od 25 IU/ml do 1,00E+09 IU/ml i wykazuje bezwzględne odchylenie od lepiej dopasowanej regresji nieliniowej poniżej $\pm 0,2 \log_{10}$. W zakresie liniowym dokładność testu mieściła się w granicach $\pm 0,24 \log_{10}$.

Reprezentatywne wyniki zamieszczono na Ryc. 4 do Ryc. 7.

Ryc. 4 Określanie zakresu liniowego w osoczu z EDTA (500 μ l)



Ryc. 5 Określanie zakresu liniowego w osoczu z EDTA (200 µl)**Ryc. 6** Określanie zakresu liniowego w surowicy (500 µl)

Ryc. 7 Określanie zakresu liniowego w surowicy (200 µl)

Precyzja wewnątrz laboratorium

Precyzję testu **cobas®** HBV określono na podstawie analizy rozcieńczeń seryjnych próbek klinicznych (CS) zawierających HBV (genotyp A) lub plazmidowe DNA wirusa HBV w HBV-ujemnym ludzkim osoczu i surowicy krwi pobranej na EDTA. Od dziesięciu do 12 poziomów rozcieńczeń zbadano w 48 powtórzeniach dla każdego poziomu i objętości przetwarzania w trzech partiach odczynników testu **cobas®** HBV przy użyciu trzech urządzeń oraz trzech użytkowników przez 12 dni. Każda próbka przechodziła całą procedurę testu **cobas®** HBV na w pełni zautomatyzowanych systemach **cobas®** 6800/8800. Dlatego podana precyzja odzwierciedla wszystkie aspekty procedury badawczej. Tabela 17 do Tabela 20 przedstawia uzyskane wyniki.

Wykazano wysoką dokładność testu **cobas®** HBV dla trzech partii badanych odczynników w zakresie stężeń od $5,00\text{E}+01$ IU/ml do $1,0\text{E}+09$ IU/ml z objętością przetwarzania 500 µl oraz od $1,00\text{E}+02$ IU/ml do $1,0\text{E}+08$ IU/ml (osocze EDTA) i $1,0\text{E}+09$ IU/ml (surowica) z objętością przetwarzania próbki 200 µl.

Tabela 17 Wewnątrzlaboratoryjna dokładność testu cobas® HBV (próbki osocza z EDTA — objętość przetwarzania wynosząca 500 µl)*

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie założone (IU/ml)	Materiał źródłowy	Osocze krwi pobranej na EDTA			
			Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie partie
			OS	OS	OS	OS pulowane
1,00E+09	9,32E+08	DNA plazmidowe	0,04	0,07	0,09	0,07
1,00E+08	9,32E+07	DNA plazmidowe	0,04	0,08	0,05	0,06
1,00E+07	9,32E+06	DNA plazmidowe	0,06	0,05	0,04	0,05
1,00E+06	9,32E+05	DNA plazmidowe	0,06	0,07	0,04	0,06
1,00E+05	9,32E+04	DNA plazmidowe	0,06	0,06	0,07	0,06
2,00E+04	1,71E+04	Próbka kliniczna	0,05	0,03	0,03	0,04
2,00E+03	1,86E+03	DNA plazmidowe	0,05	0,04	0,07	0,05
1,00E+03	8,54E+02	Próbka kliniczna	0,04	0,05	0,04	0,04
1,00E+03	9,32E+02	DNA plazmidowe	0,06	0,06	0,05	0,06
1,00E+02	8,54E+01	Próbka kliniczna	0,07	0,08	0,07	0,07
1,00E+02	9,32E+01	DNA plazmidowe	0,10	0,08	0,09	0,09
5,00E+01	4,27E+01	Próbka kliniczna	0,09	0,04	0,08	0,08

* Uważa się, iż wartości miana mają charakter rozkładu logarytmiczno-normalnego i są analizowane po zamianie na log₁₀. Kolumny odchylenia standardowego (OS) przedstawiają całkowite przekształcone logarytmicznie miano dla każdej z trzech serii odczynników.

Tabela 18 Wewnątrzlaboratoryjna dokładność testu cobas® HBV (próbki surowicy — objętość przetwarzania wynosząca 500 µl)*

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie założone (IU/ml)	Materiał źródłowy	Surowica			
			Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie partie
			OS	OS	OS	OS pulowane
1,00E+09	5,47E+08	DNA plazmidowe	0,05	0,06	0,03	0,05
1,00E+08	5,47E+07	DNA plazmidowe	0,03	0,04	0,03	0,04
1,00E+07	5,47E+06	DNA plazmidowe	0,05	0,05	0,03	0,05
1,00E+06	5,47E+05	DNA plazmidowe	0,04	0,06	0,06	0,05
1,00E+05	5,47E+04	DNA plazmidowe	0,04	0,03	0,03	0,04
2,00E+04	1,12E+04	Próbka kliniczna	0,10	0,07	0,08	0,08
2,00E+03	1,09E+03	DNA plazmidowe	0,05	0,05	0,03	0,05
1,00E+03	5,62E+02	Próbka kliniczna	0,03	0,14	0,03	0,09
1,00E+03	5,47E+02	DNA plazmidowe	0,04	0,05	0,04	0,04
1,00E+02	5,62E+01	Próbka kliniczna	0,09	0,06	0,07	0,07
1,00E+02	5,47E+01	DNA plazmidowe	0,05	0,07	0,04	0,06
5,00E+01	2,81E+01	Próbka kliniczna	0,07	0,06	0,10	0,08

* Uważa się, iż wartości miana mają charakter rozkładu logarytmiczno-normalnego i są analizowane po zamianie na log₁₀. Kolumny odchylenia standardowego (OS) przedstawiają całkowite przekształcone logarytmicznie miano dla każdej z trzech serii odczynników.

Tabela 19 Wewnątrzlaboratoryjna dokładność testu cobas® HBV (próbki osocza z EDTA — objętość przetwarzania wynosząca 200 µl)*

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie założone (IU/ml)	Materiał źródłowy	Osocze krwi pobranej na EDTA			
			Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie partie
			OS	OS	OS	OS pulowane
1,00E+08	1,28E+08	DNA plazmidowe	0,04	0,05	0,03	0,04
1,00E+07	1,28E+07	DNA plazmidowe	0,06	0,04	0,02	0,04
1,00E+06	1,28E+06	DNA plazmidowe	0,03	0,04	0,04	0,03
1,00E+05	1,28E+05	DNA plazmidowe	0,02	0,06	0,05	0,05
2,00E+04	1,71E+04	Próbka kliniczna	0,03	0,05	0,03	0,04
2,00E+03	2,57E+03	DNA plazmidowe	0,05	0,06	0,05	0,05
1,00E+03	8,54E+02	Próbka kliniczna	0,07	0,05	0,03	0,05
1,00E+03	1,28E+03	DNA plazmidowe	0,06	0,07	0,03	0,05
1,00E+02	8,54E+01	Próbka kliniczna	0,09	0,09	0,07	0,09
1,00E+02	1,28E+02	DNA plazmidowe	0,06	0,09	0,11	0,09

* Uważa się, iż wartości miana mają charakter rozkładu logarytmiczno-normalnego i są analizowane po zamianie na log₁₀. Kolumny odchylenia standardowego (OS) przedstawiają całkowite przekształcone logarytmicznie miano dla każdej z trzech serii odczynników.

Tabela 20 Wewnątrzlaboratoryjna dokładność testu cobas® HBV (próbki surowicy — objętość przetwarzania wynosząca 200 µl)*

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie założone (IU/ml)	Materiał źródłowy	Surowica			
			Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie partie
			OS	OS	OS	OS pulowane
1,00E+09	7,92E+08	DNA plazmidowe	0,04	0,03	0,03	0,04
1,00E+08	7,92E+07	DNA plazmidowe	0,07	0,05	0,06	0,06
1,00E+07	7,92E+06	DNA plazmidowe	0,04	0,03	0,04	0,04
1,00E+06	7,92E+05	DNA plazmidowe	0,03	0,05	0,04	0,04
1,00E+05	7,92E+04	DNA plazmidowe	0,06	0,07	0,03	0,06
2,00E+04	1,12E+04	Próbka kliniczna	0,16	0,08	0,03	0,11
2,00E+03	1,58E+03	DNA plazmidowe	0,05	0,04	0,05	0,05
1,00E+03	5,62E+02	Próbka kliniczna	0,07	0,04	0,04	0,05
1,00E+03	7,92E+02	DNA plazmidowe	0,07	0,05	0,06	0,06
1,00E+02	5,62E+01	Próbka kliniczna	0,09	0,10	0,07	0,09
1,00E+02	7,92E+01	DNA plazmidowe	0,08	0,09	0,09	0,08

* Uważa się, iż wartości miana mają charakter rozkładu logarytmiczno-normalnego i są analizowane po zamianie na log₁₀. Kolumny odchylenia standardowego (OS) przedstawiają całkowite przekształcone logarytmicznie miano dla każdej z trzech serii odczynników.

Określanie i weryfikowanie genotypu

Wiarygodność testu **cobas**® HBV na genotypach HBV oceniano na podstawie:

- Określenie granicy wykrywalności dla genotypów od B do H oraz dominującego mutanta w regionie precore w próbkach osocza EDTA i surowicy z objętością przetwarzania 500 µl
- Weryfikacja granicy wykrywalności dla genotypów od B do H oraz dominującego mutanta w regionie precore w próbkach osocza EDTA i surowicy z objętością przetwarzania 200 µl
- Weryfikacji liniowości dla genotypów od B do H i dominującego mutanta w regionie precore

Granica wykrywalności dla genotypów od B do H i dominującego mutanta w regionie precore

Granice wykrywalności testu **cobas**® HBV, określono na podstawie analizy serii rozcieńczeń siedmiu różnych genotypów (B, C, D, E, F, G, H) oraz dominującego mutanta w regionie precore (G1896A; C1858T) w HBV-ujemnym ludzkim osoczu EDTA i surowicy przy użyciu objętości przetwarzania 500 µl. Panel składający się z ośmiu poziomów stężeń i próby ujemnej był testowany na trzech seriach odczynników testu **cobas**® HBV, w wielu seriach, dniach, przez wielu użytkowników i przy użyciu wielu aparatów.

Wyniki dla osocza pobranego na EDTA i surowicy z objętości przetwarzania 500 µl przedstawia Tabela 21 i Tabela 22. Badanie wykazuje, że test **cobas**® HBV wykrywał wszystkie genotypy HBV testowane przy podobnym LoD, jak w przypadku genotypu A HBV.

Tabela 21 Granica wykrywalności genotypu DNA HBV w osoczu z EDTA (500 µl)

Genotyp	LoD 95% na podstawie analizy PROBIT	95% przedział ufności
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
Mutant w regionie precore	2,38 IU/ml	2,08–2,90 IU/ml

Tabela 22 Granica wykrywalności genotypu DNA HBV w surowicy (500 µl)

Genotyp	LoD 95% na podstawie analizy PROBIT	95% przedział ufności
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
Mutant w regionie precore	1,65 IU/ml	1,43–2,03 IU/ml

Weryfikacja granicy wykrywalności dla genotypów od B do H i dominującego mutantu w regionie precore

Próbki kliniczne DNA HBV wszystkich genotypów (B, C, D, E, F, G, H) i dominującego mutantu w regionie precore (G1896A; C1858T) rozcieńczono do trzech różnych poziomów stężenia w osoczu i surowicy krwi pobranej na EDTA. Określenie odsetka trafności przeprowadzono w 63 powtórzeniach dla każdego poziomu. Badania przeprowadzono z trzema partiami odczynników **cobas®** HBV. Wyniki dla osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA przy użyciu objętości 200 µl przedstawia Tabela 23 i Tabela 24. Wyniki te weryfikują, że test **cobas®** HBV wykrył DNA HBV dla siedmiu różnych genotypów i dominującego mutantu w regionie precore przy stężeniach 12,50 IU/ml z odsetkiem trafności wynoszącym $\geq 93,65\%$ przy górnej granicy jednostronnego 95% przedziału ufności wynoszącej 97,80%.

Tabela 23 Weryfikacja granicy wykrywalności genotypu DNA HBV w osoczu z EDTA (200 µl)

Genotyp	6,25 IU/ml			12,50 IU/ml			18,75 IU/ml		
	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)
B	63	51	80,95 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
C	63	45	71,43 (80,65)	63	62	98,41 (99,92)	62	62	100,00 (100,00)
D	61	49	80,33 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	62	61	98,39 (99,92)
E	63	51	80,95 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
F	63	54	85,71 (92,34)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
G	63	46	73,02 (82,02)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
H	63	33	52,38 (63,26)	63	59	93,65 (97,80)	63	59	93,65 (97,80)
Mutant w regionie precore	63	54	85,71 (92,34)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)

* Górna granica jednostronnego 95% przedziału ufności

Tabela 24 Weryfikacja granicy wykrywalności genotypu DNA HBV w surowicy (200 µl)

Genotyp	6,25 IU/ml			12,50 IU/ml			18,75 IU/ml		
	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)
B	63	51	80,95 (88,63)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
C	63	54	85,71 (92,34)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
D	63	53	84,13 (91,13)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
E	63	54	85,71 (92,34)	62	62	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
F	63	59	93,65 (97,80)	63	63	100,00 (100,00)	62	62	100,00 (100,00)
G	63	59	93,65 (97,80)	62	62	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
H	63	47	74,60 (83,37)	63	61	96,83 (99,43)	63	62	98,41 (99,92)
Mutant w regionie precore	63	60	95,24 (98,66)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)

* Górna granica jednostronnego 95% przedziału ufności

Liniowość dla genotypów od B do H i dominującego mutantu w regionie precore

Serie rozcieńczeń stosowane podczas weryfikacji badania liniowości genotypów testu **cobas®** HBV zawierały 10 elementów panelu rozciągającego się na zamierzony zakres liniowy. Elementy panelu o najwyższym mianie zostały przygotowane z DNA plazmidowego o wysokim mianie dostępnym na rynku, a elementy panelu o niższym mianie zostały przygotowane z próbek klinicznych o wysokim mianie. Panel liniowości opracowano tak, aby pomiędzy dwoma materiałami próbki występowało zachodzenie miana wynoszące około 2 log₁₀. Zakres liniowy testu **cobas®** HBV rozciągał się od poniżej LLoQ (10 IU/ml dla objętości przetwarzania 500 µl; 25 IU/ml dla objętości przetwarzania próbki 200 µl) do ULoQ (1,00E+09 IU/ml) i obejmował co najmniej jeden kluczowy punkt decyzji medycznych. Badaniom poddano dwadzieścia jeden replikatów z użyciem trzech partii odczynników testu **cobas®** HBV dla każdego poziomu w osoczu EDTA i surowicy.

Dla wszystkich siedmiu genotypów (B, C, D, E, F, G, H) i dominującego mutantu precore (G1896A; C1858T) zweryfikowano liniowość w obrębie zakresu liniowego testu **cobas®** HBV. Maksymalne odchylenie pomiędzy regresją liniową oraz lepiej pasującą regresją nieliniową było równe lub mniejsze niż ±0,2 log₁₀.

Swoistość

Swoistość testu **cobas**® HBV określono na podstawie analizy próbek HBV-ujemnego osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA od indywidualnych dawców. Trzysta pojedynczych próbek osocza krwi pobranej na EDTA i 300 pojedynczych próbek surowicy (w sumie 600 wyników) było badanych na dwóch partiach odczynników **cobas**® HBV. Wszystkie badane próbki były ujemne pod względem DNA HBV. W panelu testu swoistość testu **cobas**® HBV wynosiła 100% (jednostronny 95% przedział ufności wynoszący 99,5%).

Swoistość analityczna

Swoistość analityczna testu **cobas**® HBV została oceniona w panelu rozcieńczeń drobnoustrojów w dodatnim pod względem DNA HBV i ujemnym pod względem DNA HBV osoczu krwi pobranej na EDTA. Mikroorganizmy dodawano do ujemnego osocza ludzkiego z krwi pobranej na EDTA i testowano je z i bez DNA HBV. Żaden z patogenów innych niż HBV nie zakłócał wiarygodności testu. W teście **cobas**® HBV wyniki ujemne uzyskano dla wszystkich próbek z mikroorganizmami bez sekwencji docelowej HBV, a wyniki dodatnie uzyskano dla wszystkich próbek z drobnoustrojami z docelową sekwencją HBV. Ponadto średni $\log_{10}$ miana każdej próbki dodatniej pod względem HBV zawierającej potencjalnie reagujący krzyżowo drobnoustroj mieścił się w granicach $\pm 0,3 \log_{10}$ średniego $\log_{10}$ miana odpowiedniej dodanej dodatniej kontroli.

Tabela 25 Drobnoustroje badane pod kątem reaktywności krzyżowej

Wirusy		Bakterie	Drożdżaki
Adenowirus typu 5	Wirus gorączki Zachodniego Nilu	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida albicans</i>
Wirus cytomegalii	Wirus zapalenia mózgu z St. Louis	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Wirus zapalenia wątroby typu A	Wirus gorączki Denga typu 1, 2, 3 i 4	-	-
Wirus zapalenia wątroby typu C	Wirus kleszczowego zapalenia mózgu (szczep HYPR)	-	-
Wirus zapalenia wątroby typu D	Wirus żółtej gorączki	-	-
Ludzki wirus upośledzenia odporności 1	Wirus brodawczaka ludzkiego	-	-
Ludzki wirus T-limfotropowy typu 1 i 2	Wirus ospy wietrznej	-	-
Ludzki wirus opryszczki typu 6	Wirus grypy A	-	-
Wirus opryszczki pospolitej typu 1 i 2	Wirus Zika	-	-

Swoistość analityczna — substancje interferujące

Podwyższone poziomy trójglicerydów (34,5 g/l), bilirubiny związanej (0,25 g/l), bilirubiny niezwiązanej (0,25 g/l), albuminy (58,7 g/l), hemoglobiny (2,9 g/l) i ludzkiego DNA (2 mg/l) w próbkach badano z i bez DNA HBV. Wykazano, że testowane interferencje endogenne nie zakłócały działania testu **cobas® HBV**.

Ponadto badano test w obecności chorób autoimmunologicznych, takich jak toczeń rumieniowaty układowy (SLE), reumatoidalne zapalenie stawów (RA) oraz w obecności przeciwciał przeciwjądrowych (ANA).

Dodatkowo składniki leków wymienione w Tabeli 26 badano w stężeniu 3 razy C_{max} z i bez DNA HBV.

Żadna z potencjalnie interferujących substancji nie wykazywała interferencji z testem. W teście **cobas® HBV** wyniki ujemne uzyskano dla wszystkich próbek bez docelowego HBV, a wyniki dodatnie uzyskano dla wszystkich próbek z docelowym HBV. Ponadto średni $\log_{10}$ miana każdej próbki dodatniej pod względem HBV zawierającej potencjalnie interferujące substancje mieścił się w granicach $\pm 0,5 \log_{10}$ średniego $\log_{10}$ miana odpowiedniej dodanej dodatniej kontroli.

Tabela 26 Składniki leków badane pod kątem interferencji z ilościowym oznaczeniem DNA HBV w teście **cobas® HBV**

Klasa leku	Nazwa własna leku	
Immunomodulator	Peginterferon α -2a	Peginterferon α -2b
	Rybawiryna	-
Inhibitor wejścia HIV	Marawirok	
Inhibitor integrazy HIV	Elwitegrawir/Kobicistat	Raltegrawir
Nienukleozydowe inhibitor odwrotnej transkryptazy HIV	Efawirenz	Newirapina
	Etawiryna	Rilpiwiryna
Inhibitor proteazy HIV	Atazanawir	Lopinawir
	Tipranawir	Nelfinawir
	Darunawir	Ritonawir
	Fosamprenawir	Sakwinawir
Inhibitor proteazy HCV	Boceprewir	Telaprewir
	Simeprewir	-
Inhibitory odwrotnej transkryptazy lub polimerazy DNA	Abakawir	Tenofowir
	Emtrycytabina	Dipiwoksyl adefowiru
	Entekawir	Telbiwudyna
	Foskarnet	Zydowudyna
	Cidofowir	Acyklowir
	Lamiwudyna	Valgancyklowir
	Gancyklowir	Sofosbuwir
	Azytromycyna	Pirazynamid
Preparaty do leczenia zakażeń oportunistycznych	Klarytromycyna	Rifabutyna
	Etambutol	Rifampicyna
	Flukonazol	Sulfametoksazol
	Izoniazyd	Trimetoprim

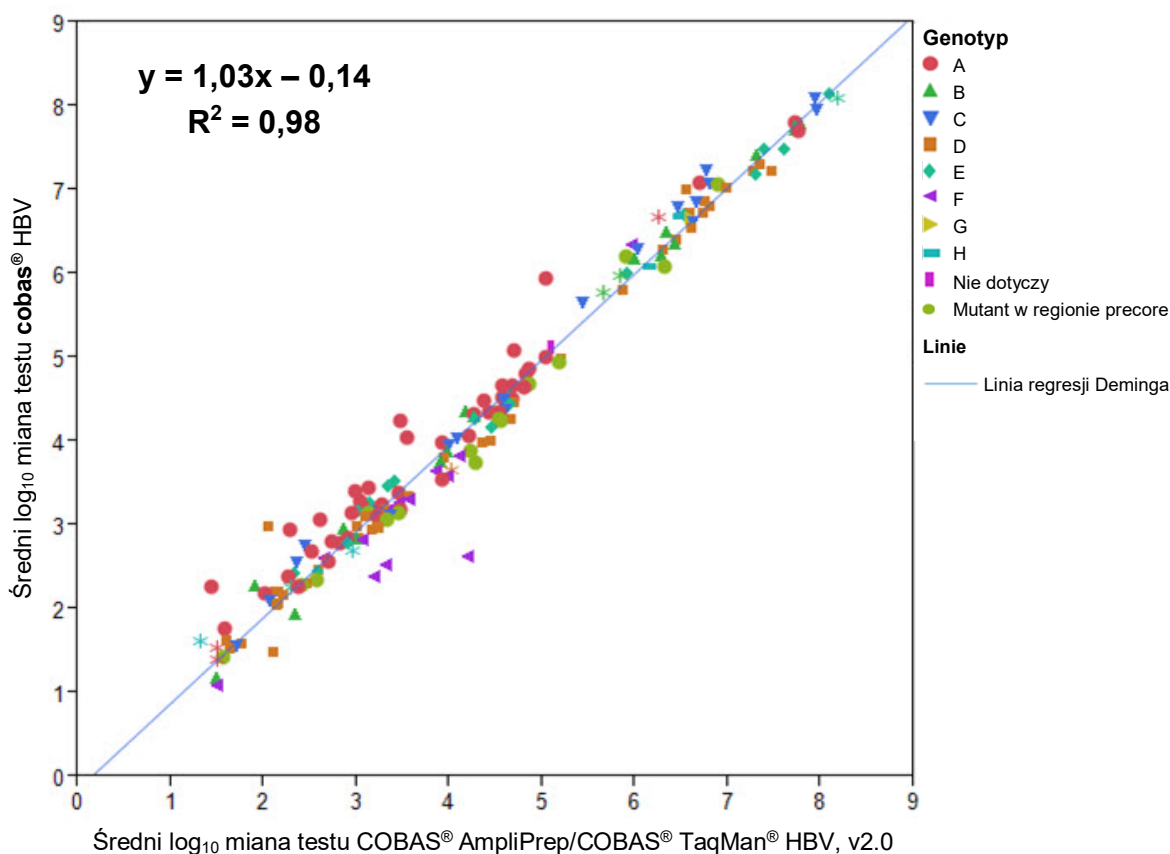
Korelacja metody

Ocena działania testu cobas® HBV w porównaniu z testem COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV Test, v2.0

Działanie testu **cobas® HBV** i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV, v2.0 (TaqMan® HBV, v2.0) porównano poprzez analizę próbek osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA pobranych od pacjentów zakażonych HBV. W sumie 103 próbki osocza pobranego na EDTA i 85 próbek surowicy dla wszystkich genotypów HBV uzyskało wynik ważny w przeprowadzonej podwójnie analizie i znalazło się w zakresie oznaczalności obu testów. Przeprowadzono analizę regresji Deminga. Średnie odchylenie miana próbek badanych dwoma testami wynosiło $-0,03 \log_{10}$.

Ryc. 8 zawiera wyniki regresji Deminga.

Ryc. 8 Analiza regresji dla testów **cobas® HBV** vs TaqMan® HBV Test, v2.0, próbki osocza pobranego na EDTA i surowicy

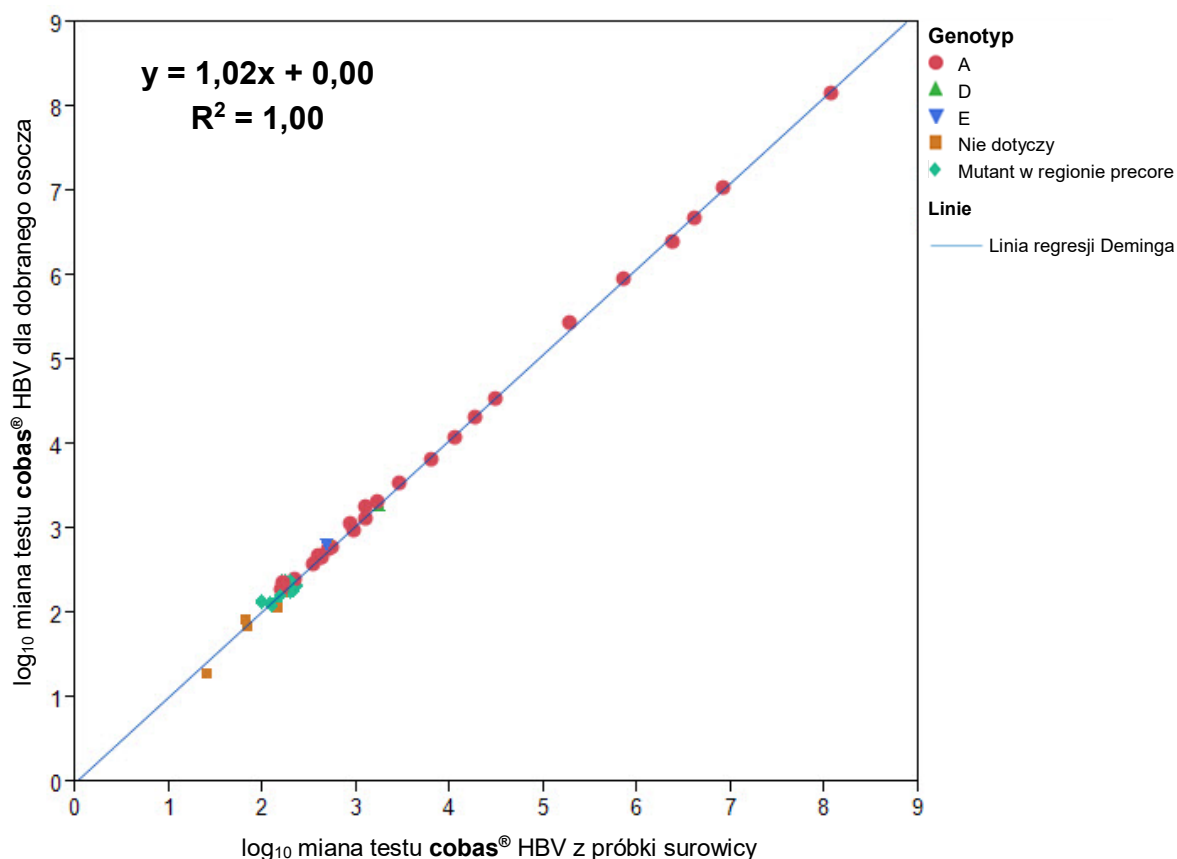


Równoważność materiału próbki — osocze krwi pobranej na EDTA w porównaniu z surowicą

Pięćdziesiąt sparowanych próbek osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA zostało zbadanych pod kątem równoważności materiału próbki. Próbkę HBV-dodatnie obejmowały większość genotypów i miały miana w całym zakresie liniowym.

Dla testowanych próbek wykazano równoważność materiału próbki przy średnim odchyleniu miana 0,05 log₁₀ (Ryc. 9).

Ryc. 9 Równoważność matrycy dotycząca działania z osoczem pobranym na EDTA i surowicą



Błąd całego systemu

Częstotliwość błędu całego systemu dla testu **cobas**® HBV określono, badając 100 powtórzeń osocza krwi pobranej na EDTA i 100 powtórzeń surowicy z dodatnią HBV-dodatnią próbką kliniczną (łącznie 200 powtórzeń). Probki te były testowane przy stężeniu docelowym wynoszącym około $3 \times \text{LoD}$. Badanie przeprowadzono z wykorzystaniem **cobas**® 6800.

Wyniki tego badania wykazały, że we wszystkich powtórzeniach stwierdzono reaktywność względem każdego materiału docelowego, co dało częstość występowania błędu systemowego na poziomie 0%. Dolna granica dwustronnego 95% dokładnego przedziału ufności wyniosła 0%, a górna 3,62% dla górnej granicy każdego materiału próbki [0%: 3,62%].

Kontaminacja między próbkami

Częstość występowania kontaminacji pomiędzy próbkami w teście **cobas**® HBV określono poprzez oznaczenie w 240 powtórzeniach próbki prawidłowego osocza ludzkiego niezawierającego wirusów (HIV, HCV oraz HBV) z krwi pobranej na EDTA oraz w 225 powtórzeniach próbki wirusa HBV o wysokim mianie na poziomie $1,00\text{E}+09$ IU/ml. Łącznie wykonano pięć przebiegów z użyciem próbek dodatnich i ujemnych w układzie naprzemiennym.

Wszystkie 240 powtórzeń dla próbek ujemnych nie wykazało reaktywności, co dało częstość występowania kontaminacji pomiędzy próbkami na poziomie 0%. Dolna granica dwustronnego 95% dokładnego przedziału ufności wyniosła 0%, a górna 1,53% [0%: 1,53%].

Ocena klinicznej wiarygodności testu

Badanie odtwarzalności

Odtwarzalność i zmienność między seriami testu **cobas®** HBV oceniono w osoczu pobranym na EDTA w systemie **cobas®** 6800 z użyciem modelu mieszanego do oceny zmienności całkowitej.

Zestawienie wyników oceny, patrz od Tabela 27 do Tabela 30 poniżej.

Zmienność między seriami

Badania zmienności między seriami wykonano dla genotypów A i C w jednym ośrodku badawczym z użyciem trzech serii odczynnika. Dwóch użytkowników w ośrodku testowało każdą serię przez sześć dni. Każdego dnia wykonywano dwa przebiegi.

Tabela 27 poniżej prezentuje możliwe do przypisania udziały procentowe zmienności całkowitej, odchylenia standardowe (SD) precyzji całkowitej i logarytmiczno-normalne współczynniki zmienności (CV) dla poszczególnych genotypów i oczekiwanego $\log_{10}$ stężenia DNA HBV dla systemu **cobas®** 6800.

Tabela 27 Udział procentowy atrybutu w zmienności całkowitej, odchyleniu standardowym precyzji całkowitej i CV (%) rozkładu logarytmiczno-normalnego stężenia DNA HBV ($\log_{10}$ IU/ml) wg. genotypu i dodatknych elementów panelu (między seriami) w systemie **cobas®** 6800 (odtwarzalność)

Genotyp	Stężenie DNA wirusa HBV ($\log_{10}$ IU/ml)		Liczba testów ^b	Procentowy udział w zmienności całkowitej (logarytmiczno-normalny CV (%))					Precyzja całkowita	
	Oczekiwane	Stwierdzona średnia ^a		Seria	Operator	Dzień	Przebieg	W obrębie przebiegu	OS ^c	Logarytmiczno-normalny 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

Genotyp	Stężenie DNA wirusa HBV (log ₁₀ IU/ml)		Liczba testów ^b	Procentowy udział w zmienności całkowitej (logarytmiczno-normalny CV (%))					Precyzja całkowita	
	Oczekiwane	Stwierdzona średnia ^a		Seria	Operator	Dzień	Przebieg	W obrębie przebiegu	OS ^c	Logarytmiczno- normalny 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

Uwaga: w tabeli uwzględniono wyniki z wykrywalną wiremią; w zakresie oznaczenia mieszczą się wyniki od 1,0E+01 IU/ml do 1,0E+09 IU/ml.

^a Obliczono z użyciem procedury SAS MIXED.

^b Liczba ważnych testów z wykrywalną wiremią.

^c Obliczono z użyciem całkowitej zmienności procedury SAS MIXED.

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

CV (%) = procentowy współczynnik zmienności; DNA = kwas dezoksyrybonukleinowy; HBV = wirus zapalenia wątroby typu B; SD = odchylenie standardowe; sqrt = pierwiastek kwadratowy.

Tabela 28 poniżej: zgodność procentowa wyników ujemnych (NPA) dla systemu **cobas® 6800** z użyciem ujemnych elementów panelu testów wyniosła 100%.

Tabela 28 Zgodność procentowa wyników ujemnych z użyciem ujemnych elementów panelu (między seriami)

Oczekiwane stężenie DNA HBV	Liczba prawidłowych testów	Wyniki dodatnie	Wyniki ujemne	Zgodność procentowa wyników ujemnych ^a	95% CI ^b
Ujemny	106	0	106	100,00	(96,58, 100,00)

^a NPA = (liczba wyników ujemnych ÷ łączna liczba ważnych testów w ujemnym elemencie panelu) × 100.

^b Obliczono dokładną metodą dwumianową przedziału ufności Cloppera-Pearsona.

CI = przedział ufności; DNA = kwas dezoksyrybonukleinowy; HBV = wirus zapalenia wątroby typu B; NPA = procentowa zgodność wyników ujemnych.

Odtwarzalność

Badanie odtwarzalności przeprowadzono w trzech ośrodkach dla genotypów A i C z użyciem jednej serii odczynnika. W każdym ośrodku dwóch użytkowników prowadziło testy przez 6 dni. Każdego dnia wykonywano dwa przebiegi.

Tabela 29 poniżej prezentuje możliwe do przypisania udziały procentowe zmienności całkowitej, odchylenia standardowe (SD) precyzji całkowitej i logarytmiczno-normalne współczynniki zmienności (CV) dla poszczególnych genotypów i oczekiwanego $\log_{10}$ stężenia DNA HBV w systemie **cobas**® 6800.

Tabela 29 Udział procentowy atrybutu w zmienności całkowitej, odchyleniu standardowym precyzji całkowitej i CV(%) rozkładu logarytmiczno-normalnego stężenia DNA HBV ($\log_{10}$ IU/ml) wg. genotypu i dodatnich elementów panelu (odtwarzalność)

Genotyp	Stężenie DNA wirusa HBV ($\log_{10}$ IU/ml)		Liczba testów ^b	Procentowy udział w zmienności całkowitej (logarytmiczno-normalny CV (%))					Precyzja całkowita	
	Oczekiwane	Stwierdzona średnia ^a		Ośrodek	Operator	Dzień	Przebieg	W obrębie przebiegu	OS ^c	Logarytmiczno-normalny 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

Stężenie DNA wirusa HBV (log ₁₀ IU/ml)			Procentowy udział w zmienności całkowitej (logarytmiczno-normalny CV (%))						Precyzja całkowita	
Genotyp	Oczekiwane	Stwierdzona średnia ^a	Liczba testów ^b	Ośrodek	Operator	Dzień	Przebieg	W obrębie przebiegu	OS ^c	Logarytmiczno- normalny 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

Uwaga: w tabeli uwzględniono wyniki z wykrywalną wiremią; w zakresie oznaczenia mieszczą się wyniki od 1,0E+01 IU/ml do 1,0E+09 IU/ml.

^a Obliczono z użyciem procedury SAS MIXED.

^b Liczba ważnych testów z wykrywalną wiremią.

^c Obliczono z użyciem całkowitej zmienności procedury SAS MIXED.

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

CV (%) = procentowy współczynnik zmienności; HBV = wirus zapalenia wątroby typu B; DNA = kwas dezoksyrybonukleinowy;

SD = odchylenie standardowe; sqrt = pierwiastek kwadratowy.

Wartość NPA wyniosła 100% (106/106; 95% CI: 96,58–100%) z użyciem testów ujemnych elementów panelu w systemie **cobas® 6800**, jak przedstawia Tabela 30 poniżej.

Tabela 30 Zgodność procentowa wyników ujemnych z użyciem ujemnych elementów panelu (odtwarzalność) w systemie **cobas® 6800**

Oczekiwane stężenie DNA HBV	Liczba testów	Wyniki dodatnie	Wyniki ujemne	Zgodność procentowa wyników ujemnych ^a	95% CI ^b
Ujemny	106	0	106	100,00	(96,58, 100,00)

^a NPA = (liczba wyników ujemnych ÷ łączna liczba ważnych testów w ujemnym elemencie panelu) × 100.

^b Obliczono dokładną metodą dwumianową przedziału ufności Cloppera-Pearsona.

CI = przedział ufności; DNA = kwas dezoksyrybonukleinowy; HBV = wirus zapalenia wątroby typu B; NPA = procentowa zgodność wyników ujemnych.

Przydatność kliniczna

Badanie zaprojektowano w celu oceny zdolności oznaczenia do przewidywania wyniku klinicznego.

Badano pozostałości próbek pochodzących od około 300 pacjentów zrandomizowanych do otrzymywania przez 100 tygodni leczenia w postaci entekawiru w skojarzeniu z tenofowirem lub entekawiru w monoterapii w farmaceutycznym badaniu klinicznym. Dodatkowo przetestowano próbki pochodzące od około 70 HBeAg (-) pacjentów z przewlekłym zakażeniem wirusem HBV z praktyki klinicznej, leczonych tenofowirem w monoterapii (Tabela 31).

Tabela 31 Grupy leczenia

Badanie kliniczne	Status HBeAg	Leczenie	Grupa leczenia
Farmaceutyczne badanie kliniczne ²¹	HBeAg (+)	Entekawir w monoterapii	Grupa I
		Entekawir + tenofowir	Grupa II
	HBeAg (-)	Entekawir w monoterapii	Grupa III (obejmuje do 17 uczestników z praktyki klinicznej)
		Entekawir + tenofowir	Grupa IV
Praktyka kliniczna	HBeAg (-)	Tenofowir w monoterapii	Grupa V

HBeAg = antygen e wirusowego zapalenia wątroby typu B.

Badania testem **cobas**® HBV wykonano w trzech ośrodkach. Każdy ośrodek dysponował systemem **cobas**® 6800. W badaniu użyto trzech serii odczynników, a każda próbka była testowana jedną serią odczynnika. Tabela 32 poniżej przedstawia dane demograficzne i charakterystykę wyjściową uczestników, których próbki badano w systemie **cobas**® 6800; do badania włączono uczestników zarówno HBeAg (+), jak i HBeAg (-), a dane z tych populacji analizowano osobno.

Tabela 32 Dane demograficzne i charakterystyka wyjściowa uczestników

Charakterystyka	Statystyki
Całkowita liczba, N	396
Kategoria wiekowa (lata), n (%)	
< 40	186 (47,0%)
≥ 40	210 (53,0%)
Wiek (lata)	
Średnia ± OS	42 ± 15,2
Mediana	42
Zakres	17–81
Płeć, n (%)	
Mężczyzna	276 (69,7%)
Kobieta	120 (30,3%)
Rasa, n (%)	
Azjatycka	204 (51,5%)
Czarna/afroamerykańska	14 (3,5%)
Rasa biała/kaukaskie	169 (42,7%)
Inne	9 (2,3%)

Genotyp, n (%)	
A	64 (16,2%)
A i G	1 (0,3%)
B	62 (15,7%)
C	74 (18,7%)
D	105 (26,5%)
E	4 (1,0%)
F	10 (2,5%)
Mieszany	1 (0,3%)
Nieznany	75 (18,9%)
Prawidłowa wyjściowa ALT, n (%)	
Tak	23 (5,8%)
Nie	361 (91,2%)
Nieznany	12 (3,0%)
Wyjściowa ALT (IU/l)	
Średnia ± OS	140 ± 169,9
Mediana	96
Zakres	14–1583
Wyjściowe DNA HBV (log₁₀ IU/ml)	
Średnia ± OS	6,6 ± 2,38
Mediana	7,4
Zakres	-0,0–10,1
Kategoria DNA HBV, n (%)	
< 2,0 × 10 ³ IU/ml	41 (10,4%)
od 2,0 × 10 ³ do 2,0 × 10 ⁴ IU/ml	13 (3,3%)
> 2,0 × 10 ⁴ IU/ml	330 (83,3%)
Nieznany	12 (3,0%)

ALT = aminotransferaza alaninowa; HBV = wirus zapalenia wątroby typu B; DNA = kwas dezoksyrybonukleinowy; SD = odchylenie standardowe.

Przewidywanie odpowiedzi na leczenie antywirusowe

Definicje:

- Odpowiedź wirusologiczna (*Virologic Response*, VR) w tygodniu 12 = spadek DNA HBV o 2 log₁₀ względem wartości wyjściowej
- VR w tygodniu 24 = HBV DNA < 2000 IU/ml (HBeAg (+)) lub < 50 IU/ml (HBeAg (-))
- VR w tygodniu 48 = HBV DNA < 2000 IU/ml (HBeAg (+)) lub < 50 IU/ml (HBeAg (-))
- VR w tygodniu 96 = HBV DNA < 50 IU/ml (punkt końcowy VR)
- Punkt końcowy nie VR = DNA HBV > 50 IU/ml w tygodniu 96
- Odpowiedź biochemiczna (*Biochemical Response*, BR) = normalizacja ALT w porównaniu do wartości wyjściowej; dla mężczyzn ALT < 30 IU/l, dla kobiet ALT < 19 IU/l
- Utrata HBeAg = uzyskana podczas leczenia zmiana statusu z HBeAg (+) na HBeAg (-)

Przewidywanie odpowiedzi wirusologicznej w tygodniu 96

W badaniu tym wyjściowe stężenie DNA HBV oraz wartości VR w tygodniach 12, 24 i 48 leczenia użyto do oceny zdolności przewidywania wyniku (VR, BR lub utraty HBeAg) w tygodniu 96 leczenia. VR96 (HBV DNA < 50 IU/ml) oceniano na podstawie wyników DNA HBV z zatwierdzonego testu.

Gdy do pomiaru DNA HBV używano testu **cobas® HBV**, wykazano, że stężenie DNA HBV wynoszące < 10⁸ IU/ml i VR w tygodniach 12, 24 oraz 48 mają wysoką wartość predykcijną VR96 dla wszystkich grup leczenia w tym badaniu (PPV od 79,6% do 100%) (Tabela 33 i Tabela 34 poniżej).

Tabela 33 Prawdopodobieństwo uzyskania odpowiedzi wirusologicznej w tygodniu 96 przy wyjściowym stężeniu DNA HBV < 10⁸ IU/ml dla grup leczenia

Wizyta w ramach leczenia	Grupa leczenia	Uczestnicy kwalifikujący się do oceny	PPV (%)		NPV (%)		LUB
			Wartość szacunkowa (95% CI)	n/N	Wartość szacunkowa (95% CI)	n/N	Wartość szacunkowa (95% CI)
Wyjściowa	Grupa I	103	93,5 (82,5, 97,8)	43/46	31,6 (21,0, 44,5)	18/57	6,62 (1,81, 24,20)
	Grupa II	102	96,2 (87,0, 98,9)	50/52	4,0 (1,1, 13,5)	2/50	1,04 (0,14, 7,69)
	Grupa III	49	100,0 (92,1, 100,0)	45/45	25,0 (4,6, 69,9)	1/4	30,00 (0,83, 1087,42)
	Grupa IV	48	97,9 (88,9, 99,6)	46/47	100,0 (20,7, 100,0)	1/1	92,00 (1,81, 4686,43)
	Grupa V	30	90,0 (74,4, 96,5)	27/30	NC	0	9,00 (0,15, 541,69)

Uwagi: dodatnia wartość predykcijną (PPV) = $TP \div (TP + FP)$ lub prawdopodobieństwo statusu VR96, jeśli uczestnik wykazał odpowiedź wirusologiczną przy określonej wizycie.

Ujemna wartość predykcijną (NPV) = $TN \div (FN + TN)$ lub prawdopodobieństwo braku statusu VR96, jeśli uczestnik nie wykazał odpowiedzi wirusologicznej przy określonej wizycie.

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

95% CI dla PPV i NPV wyliczono na podstawie CI metody Wilsona.

Przed obliczeniem OR i odpowiadających im 95% CI do pustych komórek wstawiono wartość 0,5 (TP, TN, lub FN = 0).

VR w tygodniu 96 = HBV DNA < 50 IU/ml (punkt końcowy VR) na podstawie testu COBAS® Ampliprep/COBAS® Taqman® HBV Test, wersja 2. Wyjściowe stężenie DNA HBV < 1E8 IU/ml na podstawie oznaczenia w systemie **cobas® 6800**.

Grupa I: entekawir w monoterapii (HBeAg (+)).

Grupa II: entekawir + tenofowir (HBeAg (+)).

Grupa III: entekawir w monoterapii (HBeAg (-)).

Grupa IV: entekawir + tenofowir (HBeAg (-)).

Grupa V: tenofowir w monoterapii (HBeAg (-)).

CI = przedział ufności; DNA = kwas dezoksyrybonukleinowy; FN = wynik fałszywie ujemny; FP = wynik fałszywie dodatni; HBeAg = antygen e wirusowego zapalenia wątroby typu B; HBV = wirus zapalenia wątroby typu B; NC = niewyliczalne (ponieważ dla danej wizyty nie było pacjentów z brakiem odpowiedzi wirusologicznej); TN = wynik prawdziwie ujemny; TP = wynik prawdziwie dodatni; VR = odpowiedź wirusologiczna; VR96 = odpowiedź wirusologiczna w tygodniu 96.

Tabela 34 Prawdopodobieństwo uzyskania odpowiedzi wirusologicznej w tygodniu 96 przy odpowiedzi wirusologicznej podczas określonej wizyty w ramach leczenia dla grup leczenia

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

Uwagi: dodatnia wartość predykcja (PPV) = $TP \div (TP + FP)$ lub prawdopodobieństwo statusu VR96, jeśli uczestnik wykazał odpowiedź wirusologiczną przy określonej wizycie.

Ujemna wartość predykcja (NPV) = $TN \div (FN + TN)$ lub prawdopodobieństwo braku statusu VR96, jeśli uczestnik nie wykazał odpowiedzi wirusologicznej przy określonej wizycie.

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

95% CI dla PPV i NPV wyliczono na podstawie CI metody Wilsona.

Przed obliczeniem OR i odpowiadających im 95% CI do pustych komórek wstawiono wartość 0,5 (TP, TN, lub FN = 0).

VR96 osiągnięto, jeśli DNA HBV uczestnika < 50 IU/ml w teście COBAS® TaqMan® HBV Test do stosowania z systemem High Pure System w tygodniu 96.

VR w tygodniu 12 = spadek DNA HBV > 2 log₁₀ względem wartości wyjściowej; VR w tygodniu 24 = DNA HBV < 2000 IU/ml (HBeAg (+)) lub < 50 IU/ml (HBeAg (-)); VR w tygodniu 48 = DNA HBV < 2000 IU/ml (HBeAg (+)) lub < 50 IU/ml (HBeAg (-)).

Grupa I: entekawir w monoterapii (HBeAg (+)).

Grupa II: entekawir + tenofowir (HBeAg (+)).

Grupa III: entekawir w monoterapii (HBeAg (-)).

Grupa IV: entekawir + tenofowir (HBeAg (-)).

Grupa V: tenofowir w monoterapii (HBeAg (-)).

CI = przedział ufności; DNA = kwas dezoksyrybonukleinowy; FN = wynik fałszywie ujemny; FP = wynik fałszywie dodatni; HBeAg = antygen e wirusowego zapalenia wątroby typu B; HBV = wirus zapalenia wątroby typu B; NC = niewyliczalne (ponieważ dla danej wizyty nie było pacjentów z brakiem odpowiedzi wirusologicznej); TN = wynik prawdziwie ujemny; TP = wynik prawdziwie dodatni; VR = odpowiedź wirusologiczna;

VR96 = odpowiedź wirusologiczna w tygodniu 96.

Przewidywanie odpowiedzi biochemicznej w tygodniu 96

Prawdopodobieństwo uzyskania odpowiedzi biochemicznej w tygodniu 96 przy osiągnięciu VR w tygodniu 12, 24 lub 48 podsumowuje Tabela 35.

Wartość VR w tygodniu 12, 24 lub 48 jako czynnika predykcyjnego BR96 zmieniała się w zależności od tygodnia VR i grupy leczenia.

Tabela 35 Prawdopodobieństwo uzyskania odpowiedzi biochemicznej w tygodniu 96 przy odpowiedzi wirusologicznej podczas określonej wizyty w ramach leczenia dla grup leczenia

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

Uwagi: dodatnia wartość predykcyjna (PPV) = $TP \div (TP + FP)$ lub prawdopodobieństwo statusu BR96, jeśli uczestnik wykazał odpowiedź wirusologiczną przy określonej wizycie.

Ujemna wartość predykcyjna (NPV) = $TN \div (FN + TN)$ lub prawdopodobieństwo braku statusu BR96, jeśli uczestnik nie wykazał odpowiedzi wirusologicznej przy określonej wizycie.

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

95% CI dla PPV i NPV wyliczono na podstawie CI metody Wilsona.

Przed obliczeniem OR i odpowiadających im 95% CI do pustych komórek wstawiono wartość 0,5 (TP, TN, lub FN = 0).

Grupa I: entekawir w monoterapii (HBeAg (+)).

Grupa II: entekawir + tenofovir (HBeAg (+)).

Grupa III: entekawir w monoterapii (HBeAg (-)).

Grupa IV: entekawir + tenofovir (HBeAg (-)).

Grupa V: tenofovir w monoterapii (HBeAg (-)).

Odpowiedź biochemiczną definiuje się jako normalizację ALT (dla mężczyzn ALT < 30 IU/l, dla kobiet ALT < 19 IU/l) w tygodniu 96 w porównaniu z wartością wyjściową dla uczestników o podwyższonej wyjściowej wartości ALT.

VR w tygodniu 12 = spadek DNA HBV o > 2 log₁₀ względem wartości wyjściowej. VR w tygodniu 24 = HBV DNA < 2000 IU/ml (HBeAg (+)) lub < 50 IU/ml (HBeAg (-)). VR w tygodniu 48 = HBV DNA < 2000 IU/ml (HBeAg (+)) lub < 50 IU/ml (HBeAg (-)).

ALT = aminotransferaza alaninowa; CI = przedział ufności; DNA = kwas dezoksyrybonukleinowy; FN = wynik fałszywie ujemny; FP = wynik fałszywie dodatni; HBeAg = antygen e wirusowego zapalenia wątroby typu B; HBV = wirus zapalenia wątroby typu B; NC = niewyliczalne (ponieważ dla danej wizyty nie było pacjentów z brakiem odpowiedzi wirusologicznej); TN = wynik prawdziwie ujemny; TP = wynik prawdziwie dodatni; VR = odpowiedź wirusologiczna; BR96 = odpowiedź biochemiczna w tygodniu 96.

Przewidywanie utraty HBeAg

Utratę HBeAg można było ocenić wyłącznie u uczestników o statusie HBeAg (+) w punkcie wyjściowym.

Brak VR w tygodniu 24 był silnym czynnikiem predykcijnym obecności HBeAg (NPV wynosiły $\geq 80,0\%$ dla grup leczenia I i II), a brak VR w tygodniu 48 był również czynnikiem predykcijnym obecności HBeAg w grupie I (NPV równe 100% ; Tabela 36). Ponieważ wszyscy uczestnicy otrzymujący leczenie skojarzone (grupa II) osiągnęli VR do tygodnia 48, nie było możliwe obliczenie NPV w tym punkcie czasowym dla tej grupy.

Tabela 36 Prawdopodobieństwo utraty HBeAg w tygodniu 96 przy odpowiedzi wirusologicznej podczas określonej wizyty w ramach leczenia dla grup leczenia

Wizyta w ramach leczenia	Grupa leczenia	Kwalifikujący się uczestnicy	PPV (%)		NPV (%)		LUB
			Wartość szacunkowa (95% CI)	n/N	Wartość szacunkowa (95% CI)	n/N	Wartość szacunkowa (95% CI)
Tydzień 12	Grupa I	102	46,1 (36,7, 55,7)	47 / 102	NC	0	0,85 (0,02, 43,91)
	Grupa II	101	41,6 (32,5, 51,3)	42 / 101	NC	0	0,71 (0,01, 36,60)
Tydzień 24	Grupa I	103	52,6 (41,6, 63,3)	41 / 78	80,0 (60,9, 91,1)	20 / 25	4,43 (1,51, 13,00)
	Grupa II	104	44,1 (34,4, 54,2)	41 / 93	81,8 (52,3, 94,9)	9 / 11	3,55 (0,73, 17,33)
Tydzień 48	Grupa I	101	51,1 (41,0, 61,2)	46 / 90	100,0 (74,1, 100,0)	11 / 11	23,00 (1,31, 403,28)
	Grupa II	98	40,8 (31,6, 50,7)	40 / 98	NC	0	0,69 (0,01, 35,48)

Uwaga: dodatnia wartość predykcyjna (PPV) = $TP \div (TP + FP)$ lub prawdopodobieństwo utraty HBeAg w tygodniu 96, jeśli uczestnik wykazał odpowiedź wirusologiczną przy określonej wizycie.

Ujemna wartość predykcyjna (NPV) = $TN \div (FN + TN)$ lub prawdopodobieństwo braku utraty HBeAg w tygodniu 96, jeśli uczestnik nie wykazał odpowiedzi wirusologicznej przy określonej wizycie.

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

95% CI dla PPV i NPV wyliczono na podstawie CI metody Wilsona.

Przed obliczeniem OR i odpowiadających im 95% CI do pustych komórek wstawiono wartość 0,5 (TP, TN, lub FN = 0).

Grupa I: entekawir w monoterapii (HBeAg (+)).

Grupa II: entekawir + tenofowir (HBeAg (+)).

Utratę HBeAg osiąga się w przypadku utraty HBeAg podczas leczenia.

VR w tygodniu 12 = spadek DNA HBV $> 2 \log_{10}$ względem wartości wyjściowej; VR w tygodniu 24 = DNA HBV < 2000 IU/ml (HBeAg (+));

VR w tygodniu 48 = DNA HBV < 2000 IU/ml (HBeAg (+)).

CI = przedział ufności; DNA = kwas dezoksyrybonukleinowy; FN = wynik fałszywie ujemny; FP = wynik fałszywie dodatni; HBeAg = antygen e wirusowego zapalenia wątroby typu B; HBV = wirus zapalenia wątroby typu B; NC = niewyliczalne (ponieważ dla danej wizyty nie było pacjentów z brakiem odpowiedzi wirusologicznej); TN = wynik prawdziwie ujemny; TP = wynik prawdziwie dodatni; VR = odpowiedź wirusologiczna;

BR96 = odpowiedź biochemiczna w tygodniu 96.

Wyniki wykazały, że test **cobas®** HBV jest przydatny do monitorowania wirerii u pacjentów z przewlekłym zakażeniem HBV na początku i w trakcie leczenia antywirusowego. Badanie wykazało, że pomiar stężenia DNA HBV w punkcie wyjściowym i spadek stężenia DNA HBV w tygodniu 12 lub stężenie DNA HBV poniżej określonych wartości progowych w tygodniach 24 i 48 podczas leczenia przewidywał odpowiedź na leczenie; badanie zidentyfikowało pacjentów, którzy uzyskali odpowiedź wirusologiczną, odpowiedź biochemiczną lub utratę HBeAg w 96 tygodniu leczenia.

Wnioski

Test **cobas**® HBV może oznaczyć ilościowo poziom DNA HBV w celu monitorowania i przewidywania odpowiedzi na leczenie antywirusowe. Wyniki tego badania wykazały przydatność kliniczną tego testu do określania na wczesnym etapie terapii odpowiedzi na leczenie w postępowaniu z pacjentami z przewlekłym zakażeniem HBV.

Równoważność/porównanie systemu

Równoważność systemów **cobas**® 5800, **cobas**® 6800 i **cobas**® 8800 wykazano przez badanie skuteczności.

Wyniki przedstawione w instrukcji użytkowania potwierdzają równoważne działanie wszystkich systemów.

Dodatkowe informacje

Najważniejsze cechy testu

Rodzaj próbki	Próbki osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA		
Wymagana ilość próbki	650 µl lub 350 µl		
Objętość przetwarzania próbki	500 µl lub 200 µl		
Czułość analityczna		<u>500 µl</u>	<u>200 µl</u>
	Osocze krwi pobranej na EDTA	2,7 IU/ml	15,5 IU/ml
	Surowica	2,4 IU/ml	12,5 IU/ml
Zakres liniowości	500 µl: 10 IU/ml – 1,0E+09 IU/ml		
	200 µl: 25 IU/ml – 1,0E+09 IU/ml		
Swoistość	100% (jednostronny 95% przedział ufności: 99,5%)		
Wykrywane genotypy	HBV genotyp A–H i dominujący mutant w regionie precore		

Oznaczenia

Na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR stosuje się następujące oznaczenia.

Tabela 37 Oznaczenia stosowane na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR

Age/DOB Wiek lub data urodzenia	 Wyrób nieprzeznaczony do testów przy pacjencie	QS IU/PCR IU QS na reakcję PCR, użyć jednostek międzynarodowych (IU) QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.
 Oprogramowanie pomocnicze	 Wyrób nieprzeznaczony do samodzielnego testowania	SN Numer seryjny
Assigned Range [copies/mL] Przypisany zakres (kopie/ml)	 Dystrybutor (Uwaga: pod symbolem może być wskazany właściwy kraj/region.)	Site Ośrodek
Assigned Range [IU/mL] Przypisany zakres (IU/ml)	 Nie używać powtórnie	Procedure Standard Procedura standardowa
EC REP Autoryzowany Przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej	 Kobieta	STERILE EO Produkt sterylizowany tlenkiem etylenu
BARCODE Arkusz kodów kreskowych	 Wyłącznie do oceny działania w badaniach IVD	 Przechowywać z dala od światła
LOT Kod partii	GTIN Numer globalny jednostki handlowej	 Przestrzegać zakresu temperatury
 Zagrożenie biologiczne	 Importer	 Plik definicji testów
REF Numer katalogowy	IVD Wyrób do diagnostyki <i>in vitro</i>	 Tą stroną do góry
 Oznaczenie zgodności CE – wyrób ten jest zgodny z obowiązującymi wymogami dotyczącymi oznaczenia CE dla wyrobu medycznego do diagnostyki <i>in vitro</i>	LLR Dolna granica przypisanego zakresu	Procedure UltraSensitive Procedura ultraczuła
Collect Date Data pobrania	 Mężczyzna	UDI Niepowtarzalny kod identyfikacyjny wyrobu
 Sprawdź w instrukcji użytkowania	 Wytwórca	ULR Górna granica przypisanego zakresu
 Zawartość wystarczająca na <n> testów	CONTROL - Kontrola ujemna	Urine Fill Line Linia napełniania moczem
CONTENT Zawartość zestawu	 Wyrób niejadalny	Rx Only Tylko Stany Zjednoczone: prawo federalne zezwala na sprzedaż tego wyrobu wyłącznie lekarzowi lub na zamówienie takiego lekarza.
CONTROL Próba kontrolna	 Nazwisko pacjenta	 Termin przydatności
 Data produkcji	 Numer pacjenta	
 Wyrób do testów przy pacjencie	 Rozerwać tutaj	
 Wyrób do samodzielnego testowania	CONTROL + Kontrola dodatnia	
	QS copies / PCR Kopie QS na reakcję PCR, użyć kopii QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.	

Pomoc techniczna

W celu uzyskania wsparcia (pomocy) technicznego należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Wytwórca i importer

Tabela 38 Wytwórca i importer



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

Made in USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Znaki towarowe i patenty

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

Prawo autorskie

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Písmiennictwo

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.

Wersja dokumentu

Informacje dotyczące wersji dokumentu	
Doc Rev. 3.0 9/2022	Zaktualizowano pierwszą stronę, tabelę 2 i tabelę 3 o dodatkowe numery P/N zestawów kontrolnych. Zaktualizowano sekcję Znaki towarowe i patenty oraz link. W razie jakichkolwiek pytań prosimy o kontakt z lokalnym przedstawicielem firmy Roche.