

cobas[®] **HBV**

Quantitativer Nukleinsäuretest zur Verwendung auf den cobas[®] 5800/6800/8800 Systems

In-vitro-Diagnostikum

cobas[®] **HBV**

P/N: 09040820190

cobas[®] **HBV/HCV/HIV-1 Control Kit**

P/N: 09040773190

cobas[®] **NHP Negative Control Kit**

P/N: 09051554190

Inhaltsverzeichnis

Verwendungszweck	4
Zusammenfassung und Erklärung des Tests	4
Reagenzien und Materialien	7
cobas® HBV-Reagenzien und Kontrollen	7
cobas omni-Reagenzien für die Probenvorbereitung	10
Lagerungsbedingungen für Reagenzien	11
Zusätzlich benötigte Materialien für das cobas® 5800 System	12
Zusätzlich benötigte Materialien für die cobas® 6800/8800 Systems	13
Benötigte Geräte und Software.....	13
Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung	14
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	14
Umgang mit Reagenzien	15
Gute Laborpraxis.....	15
Entnahme, Transport und Lagerung von Proben	16
Proben.....	16
Gebrauchsanweisung	17
Hinweise zum Verfahren	17
Durchführung des cobas® HBV-Tests auf dem cobas® 5800 System	18
Durchführung des cobas® HBV-Tests auf den cobas® 6800/8800 Systems	19
Ergebnisse	20
Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse auf dem cobas® 5800 System.....	20
Kontrollergebnisse auf dem cobas® 5800 System.....	20
Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse auf den cobas® 6800/8800 Systems.....	20
Kontroll-Flags auf den cobas® 6800/8800 Systems.....	21
Interpretation der Ergebnisse.....	21
Interpretation der Ergebnisse auf dem cobas® 5800 System.....	22
Interpretation der Ergebnisse auf den cobas® 6800/8800 Systems	22
Verfahrenseinschränkungen.....	23

Nichtklinische Leistungsmerkmale.....	24
Wichtige Leistungsmerkmale zu den cobas® 6800/8800 Systems.....	24
Nachweisgrenze (LoD).....	24
Linearer Bereich.....	26
Laborinterne Präzision.....	28
Bestimmung und Verifizierung des Genotyps.....	31
Spezifität.....	34
Analytische Spezifität.....	34
Analytische Spezifität – Störsubstanzen.....	35
Korrelation der Methoden.....	36
Äquivalenzerhebung: EDTA-Plasma gegen Serum.....	37
Gesamtsystemausfall.....	37
Kreuzkontamination.....	38
Klinische Leistungsmerkmale.....	39
Untersuchung der Reproduzierbarkeit.....	39
Charge-zu-Charge-Variabilität.....	39
Reproduzierbarkeit.....	41
Klinischer Nutzen.....	43
Vorhersage des Ansprechens auf die antivirale Therapie.....	44
Schlussfolgerung.....	49
Systemäquivalenz und -vergleich.....	49
Weitere Informationen.....	50
Wichtigste Leistungsmerkmale des Tests.....	50
Symbole.....	51
Technischer Support.....	52
Herstellung und Import.....	52
Marken und Patente.....	52
Copyright.....	52
Literatur.....	53
Dokumentversion.....	55

Verwendungszweck

Der **cobas**® HBV-Test ist ein *in-vitro*-Nukleinsäure-Amplifikationstest zur quantitativen Bestimmung von Hepatitis-B-Virus (HBV)-DNA in EDTA-Humanplasma oder Humanserum von HBV-infizierten Personen.

Dieser Test ist als Hilfsmittel bei der Versorgung von Patienten mit chronischer HBV-Infektion vorgesehen, bei denen eine antivirale Therapie angewendet wird. Mit diesem Test werden HBV-DNA-Konzentrationen vor und während der Behandlung gemessen, anhand derer die Therapieantwort beurteilt werden kann. Die Ergebnisse des **cobas**® HBV-Tests müssen im Kontext aller relevanten klinischen Befunde und Laborwerte interpretiert werden.

Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Hintergrund

HBV ist eines von mehreren Viren, die bekanntermaßen virale Hepatitis verursachen. Weltweit sind über 2 Milliarden Menschen mit HBV in Kontakt gekommen und bei über 350 Millionen handelt es sich um chronisch infizierte Träger.¹ In den USA ist HBV trotz einer abnehmenden Inzidenz akuter Infektionen infolge von Impfungen und allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen beim Gebrauch von Nadeln eine der häufigsten Ursachen für Lebererkrankungen.² Die Gesamtprävalenz von HBV-Infektionen liegt in den USA zwischen 0,3 % und 0,5 %, wobei 47 % bis 70 % der Fälle auf Menschen zurückgehen, die außerhalb der USA geboren wurden.² In zielgerichteten Screening-Programmen wurden jedoch in bestimmten Hochrisikogruppen von Immigranten Prävalenzraten von über 15 % nachgewiesen.³ Bei Patienten mit chronischer HBV-Infektion besteht ein hohes Risiko von Langzeitkomplikationen, wie z. B. chronische Hepatitis, Zirrhose und Leberzellkarzinom.⁴⁻⁷ Als diagnostische und/oder prognostische Indikatoren einer akuten oder chronischen HBV-Infektion werden häufig serologische Marker verwendet.⁸ Die US-amerikanischen Zentren für Krankheitskontrolle und Prävention (CDC) haben ihre Empfehlungen für das Routine-Screening von Hochrisikopersonen auf Populationen erweitert, bei denen die Prävalenz des HBV-Oberflächenantigens (HBsAg) über 2 % beträgt. Dazu gehören Menschen aus endemischen Regionen der Welt (z. B. Asien und Afrika), homosexuelle Männer und Konsumenten von injizierbaren Drogen.²

Der am häufigsten eingesetzte Marker einer HBV-Infektion ist die Anwesenheit von HBsAg.⁸ Obgleich einige Träger HBsAg eliminieren und Antikörper gegen HBsAg entwickeln, scheint dennoch ein Risiko für die Spätentwicklung ernsthafter Leberschäden vorzuliegen.^{9,10} Als sekundärer Marker für eine mit aktiver HBV-Replikation einhergehende, fortschreitende Lebererkrankung wird im Allgemeinen das HBe-Antigen (HBeAg) herangezogen. Wenn das HBeAg nicht eliminiert wird, erhöht sich anscheinend das Risiko einer terminalen Leberinsuffizienz.^{9,10} Variante Stämme von HBV-Pre-Core-Mutanten können selbst beim Vorliegen einer aktiven Infektion ihre Fähigkeit verlieren, HBeAg zu bilden, weshalb dieser Marker zur Überwachung des Krankheitsverlaufs nur bedingt einsetzbar ist.⁷

Nutzen von HBV-Tests

Die HBV-DNA im EDTA-Plasma und Serum lässt sich mit Nukleinsäure-Amplifikationsverfahren, z. B. der PCR, quantitativ bestimmen.¹¹⁻¹⁴ Verschiedene bedeutende Leitlinien empfehlen für die quantitative Bestimmung von HBV-DNA den Einsatz der Echtzeit-PCR, insbesondere wegen der höheren Sensitivität und des breiteren linearen Bereichs.^{15,16}

Erklärung des Tests

Der **cobas**® HBV-Test ist ein quantitativer Test, der auf dem **cobas**® 5800 System, dem **cobas**® 6800 System oder dem **cobas**® 8800 durchgeführt wird. Der **cobas**® HBV-Test ermöglicht den Nachweis und die quantitative Bestimmung von HBV-DNA in EDTA-Plasma oder Serum von infizierten Patienten und ist für die Anwendung in Labors zur Unterstützung klinischer Studien und in der klinischen Routinepraxis zur Versorgung von HBV-Patienten geeignet. Anhand einer einzelnen Sonde werden die Genotypen A bis H nachgewiesen und quantifiziert, nicht jedoch differenziert. Zur quantitativen Bestimmung der Viruslast dient ein nicht aus HBV stammender DNA-Quantifizierungsstandard (DNA-QS), der bei der Probenvorbereitung zugegeben wird. Der DNA-QS dient zudem zur Überwachung des gesamten Prozesses der Probenvorbereitung und PCR-Amplifikation. Zusätzlich kommen bei dem Test drei externe Kontrollen zum Einsatz: eine Positivkontrolle mit hohem Titer, eine Positivkontrolle mit niedrigem Titer und eine Negativkontrolle. Die hoch positiven und niedrig positiven externen Kontrollen werden durch Verdünnung einer Stammlösung mit einem Titer hergestellt, der auf den internationalen WHO-Standard für HBV rückführbar ist. Jede Charge des Amplifikations-/Detektions-Kits ist so kalibriert, dass sie auf den internationalen WHO-Standard für HBV rückführbar ist.

Testprinzipien

Der **cobas**® HBV-Test beruht auf einer vollautomatisierten Probenvorbereitung (Extraktion und Aufreinigung der Nukleinsäuren) gefolgt von PCR-Amplifikation und Detektion. Das **cobas**® 5800 System ist als ein integriertes Gerät ausgelegt. Die **cobas**® 6800/8800 Systems bestehen aus einem Probenzufuhrmodul, einem Transfermodul, einem Aufarbeitungsmodul und einem Analysenmodul. Die automatisierte Datenverwaltung erfolgt über die Software des **cobas**® 5800 Systems oder der **cobas**® 6800/8800 Systems, die die Ergebnisse aller Tests als „nicht nachgewiesen“, „unter unterer Quantifizierungsgrenze“, „über oberer Quantifizierungsgrenze“ oder „HBV-DNA nachgewiesen“ einstuft. Im letzteren Fall liegt das Ergebnis im linearen Bereich von „untere Quantifizierungsgrenze < x < obere Quantifizierungsgrenze“. Die Ergebnisse können direkt am Bildschirm des Systems eingesehen, exportiert oder als Bericht ausgedruckt werden.

In der Patientenprobe enthaltene Nukleinsäure, externe Kontrollen und hinzugegebene Lambda-DNA (DNA-QS) werden gleichzeitig extrahiert.

Die virale Nukleinsäure wird durch Zugabe von Proteinase und Lysereagenz zur Probe freigesetzt. Die freigesetzte Nukleinsäure bindet an die Silica-Oberfläche der hinzugefügten magnetischen Glaspartikel. Nicht gebundene Substanzen und Verunreinigungen, beispielsweise denaturiertes Protein, Zelltrümmer und potenzielle PCR-Inhibitoren werden durch anschließende Waschreagenzschritte entfernt. Die aufgereinigte Nukleinsäure wird danach mit einem Elutionspuffer bei erhöhter Temperatur von den magnetischen Glaspartikeln gelöst.

Zur selektiven Amplifikation der Zielnukleinsäure aus der Probe werden viruspezifische Forward- und Reverse-Primer eingesetzt, die aus hochkonservierten Regionen des HBV-Genoms ausgewählt wurden. Zur selektiven Amplifikation des DNA-QS werden speziell ausgewählte, sequenzspezifische Forward- und Reverse-Primer eingesetzt, die keine Homologie mit dem HBV-Genom aufweisen. Für die Amplifikation wird ein thermostabiles DNA-Polymeraseenzym eingesetzt. Der Master-Mix enthält anstelle von Desoxythymidintriphosphat (dTTP) Desoxyuridintriphosphat (dUTP), das in die neu synthetisierte DNA (Amplifikat) eingebaut wird.^{14, 17, 18} Etwaige Verunreinigungen durch Amplifikat aus vorherigen PCR-Läufen werden im ersten thermostabilen Schritt durch das im PCR-Gemisch enthaltene Enzym AmpErase eliminiert. Neu gebildete Amplifikate dagegen werden nicht eliminiert, da das AmpErase-Enzym durch Temperaturen über 55 °C inaktiviert wird.

Der **cobas**® HBV-Master-Mix enthält Detektionssonden, die jeweils für die HBV-Zielsequenzen und die QS-Nukleinsäure spezifisch sind. Die spezifischen HBV- und DNA-QS-Detektionssonden sind alle mit einem von zwei fluoreszierenden Reporterfarbstoffen markiert. Zudem ist jede Sonde mit einem zweiten Farbstoff versehen, der als Quencher dient. Da die zwei spezifischen Reporterfarbstoffe bei definierten Wellenlängen gemessen werden, ist die gleichzeitige Detektion und Unterscheidung der amplifizierten HBV-Zielsequenz sowie des DNA-QS möglich.^{12,13} Das Fluoreszenzsignal der intakten, nicht an die Zielsequenz gebundenen Sonde wird durch einen Quencher-Farbstoff unterdrückt. Während des PCR-Amplifikationsschritts hybridisieren die Sonden an die betreffenden einsträngigen DNA-Templates und werden durch die 5'-3'-Exonukleaseaktivität der DNA-Polymerase gespalten. Dadurch kommt es zur Trennung der Reporter- und Quencher-Farbstoffe, und es entsteht ein Fluoreszenzsignal. Mit jedem PCR-Zyklus werden zunehmende Mengen gespaltenen Sonden erzeugt, und das kumulative Signal des Reporter-Farbstoffs steigt entsprechend an. Da die zwei spezifischen Reporterfarbstoffe bei definierten Wellenlängen gemessen werden, ist die gleichzeitige Detektion und Unterscheidung der amplifizierten HBV-Zielsequenz sowie des DNA-QS möglich.

Reagenzien und Materialien

cobas® HBV-Reagenzien und Kontrollen

Sämtliche ungeöffnete Reagenzien und Kontrollen sollten wie in Tabelle 1 bis Tabelle 4 empfohlen gelagert werden.

Tabelle 1 cobas® HBV

cobas® HBV Bei 2–8 °C lagern. Kassette mit 192 Tests (P/N 09040820190)		
Kitkomponenten	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit 192 Tests
Proteinase-Lösung (PASE)	Tris-Puffer, < 0,05 % EDTA, Calciumchlorid, Calciumacetat, 8 % Proteinase EUH210: Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. EUH208: Kann allergische Reaktionen hervorrufen. Enthält: Subtilisin, 9014-01-1	22,3 ml
DNA-Quantifizierungsstandard (DNA-QS)	Tris-Puffer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % Nicht-HBV-DNA-Konstrukt mit einer Nicht-HBV-Primer- und einer eindeutigen Sonden-Bindungsregion (nicht-infektiöse DNA), 0,002 % Poly-rA-RNA (synthetisch), < 0,1 % Natriumazid	21,2 ml
Elutionspuffer (EB)	Tris-Puffer, 0,2 % Methyl-4-Hydroxybenzoat	21,2 ml
Master-Mix-Reagenz 1 (MMX-R1)	Manganacetat, Kaliumhydroxid, < 0,1 % Natriumazid	7,5 ml
HBV-Master-Mix-Reagenz 2 (HBV MMX-R2)	Tricin-Puffer, Kaliumacetat, 18 % Dimethylsulfoxid, Glycerin, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01 % Upstream- und Downstream-HBV-Primer, < 0,01 % Quantifizierungsstandard-Forward- und -Reverse-Primer, < 0,01 % fluoreszenzmarkierte, für HBV bzw. den HBV-Quantifizierungsstandard spezifische Oligonukleotidsonden, < 0,01 % Oligonukleotid-Aptamer, < 0,01 % Z05D-DNA-Polymerase, < 0,10 % AmpErase-Enzym (Uracil-N-Glykosylase, mikrobiell), < 0,1 % Natriumazid	9,7 ml

* Die Sicherheitskennzeichnung der Produkte erfolgt in erster Linie gemäß GHS-Verordnung der EU.

** Gefährliche Substanz

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

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit Bei 2–8 °C lagern. (P/N 09040773190)			
Kitkomponenten	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -hinweise*
Niedrig positive HBV/HCV/HIV-1-Kontrolle (HBV/HCV/HIV-1 L(+))C)	< 0,001 % in Bakteriophagen-Hüllprotein MS2 verkapselte Armored-RNA der HIV-1 Gruppe M, < 0,001 % in Lambda-Bakteriophagen-Hüllprotein verkapselte synthetische (Plasmid-)HBV-DNA, < 0,001 % in MS2-Bakteriophagen-Hüllprotein verkapselte synthetische (Armored) HCV-RNA; Humanplasma, das in zugelassenen Tests nicht reaktiv auf HCV-Antikörper, HIV-1/2-Antikörper, HBsAg oder HBe-Antikörper war und in dem mittels PCR-Methoden keine HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA und HBV-DNA nachgewiesen werden konnte 0,1 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  ACHTUNG H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen. H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P280: Schutzhandschuhe tragen. P333 + P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen. P362 + P364: Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. P501: Inhalt/Behälter einer zugelassenen Abfallbeseitigungsanlage zuführen. 55965-84-9 Reaktionsmasse von: 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-on [EG-Nr. 247-500-7] und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on [EG-Nr. 220-239-6] (3:1).
Hoch positive HBV/HCV/HIV-1-Kontrolle (HBV/HCV/HIV-1 H(+))C)	< 0,001 % in Bakteriophagen-Hüllprotein MS2 verkapselte synthetische (Armored) RNA der HIV-1-Gruppe M mit hohem Titer, < 0,001 % in Lambda-Bakteriophagen-Hüllprotein verkapselte synthetische (Plasmid-)HBV-DNA, < 0,001 % in MS2-Bakteriophagen-Hüllprotein verkapselte synthetische (Armored) HCV-RNA; Humanplasma, das in zugelassenen Tests nicht reaktiv auf HCV-Antikörper, HIV-1/2-Antikörper, HBsAg oder HBe-Antikörper war und in dem mittels PCR-Methoden keine HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA und HBV-DNA nachgewiesen werden konnte 0,1 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  ACHTUNG H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen. P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. P272: Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. P280: Schutzhandschuhe tragen. P333 + P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen. P362 + P364: Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. P501: Inhalt/Behälter einer zugelassenen Abfallbeseitigungsanlage zuführen. 55965-84-9 Reaktionsmasse von: 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-on [EG-Nr. 247-500-7] und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on [EG-Nr. 220-239-6] (3:1).

* Die Sicherheitskennzeichnung der Produkte erfolgt in erster Linie gemäß GHS-Verordnung der EU.

** Gefährliche Substanz

Tabelle 3 cobas® NHP Negative Control Kit

cobas® NHP Negative Control Kit Bei 2–8 °C lagern. (P/N 09051554190)			
Kitkomponenten	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -hinweise*
Normal-Humanplasma-Negativkontrolle (NHP-NC)	Humanplasma, das in zugelassenen Tests nicht reaktiv auf HCV-Antikörper, HIV-1/2-Antikörper, HBsAg oder HBc-Antikörper war und in dem mittels PCR-Methoden keine HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA und HBV-DNA nachgewiesen werden konnte < 0,1 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel**	16 ml (16 × 1 ml)	 <p>ACHTUNG</p> <p>H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen.</p> <p>P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.</p> <p>P272: Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen.</p> <p>P280: Schutzhandschuhe tragen.</p> <p>P333 + P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.</p> <p>P362 + P364: Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.</p> <p>P501: Inhalt/Behälter einer zugelassenen Abfallbeseitigungsanlage zuführen.</p> <p>55965-84-9 Reaktionsmasse von: 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-on [EG-Nr. 247-500-7] und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on [EG-Nr. 220-239-6] (3:1).</p>

* Die Sicherheitskennzeichnung der Produkte erfolgt in erster Linie gemäß GHS-Verordnung der EU.

** Gefährliche Substanz

cobas omni-Reagenzien für die Probenvorbereitung

Tabelle 4 cobas omni Reagenzien für die Probenvorbereitung*

Reagenzien	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -hinweise**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Bei 2–8 °C lagern. (P/N 06997546190)	Magnetische Glaspartikel, Tris-Puffer, 0,1 % Methyl-4 Hydroxybenzoat, < 0,1 % Natriumazid	480 Tests	Keine Angabe
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Bei 2–8 °C lagern. (P/N 06997511190)	Tris-Puffer, 0,1 % Methyl-4 Hydroxybenzoat, < 0,1 % Natriumazid	4 × 875 ml	Keine Angabe
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Bei 2–8 °C lagern. (P/N 06997538190)	43 % (Gew.-%) Guanidin-thiocyanat***, 5 % (Massenvol.-%) Polidocanol***, 2 % (Massenvol.-%) Dithiothreitol, Dihydro-Natriumcitrat	4 × 875 ml	 <p>GEFAHR</p> <p>H302 + H332: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Einatmen.</p> <p>H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.</p> <p>H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.</p> <p>EUH032: Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.</p> <p>P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.</p> <p>P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden.</p> <p>P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.</p> <p>P303 + P361 + P353: BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen.</p> <p>P304 + P340 + P310: BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen.</p> <p>593-84-0 Guanidinthiocyanat 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-Dimercaptobutan-2,3-diol</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Bei 15–30 °C lagern. (P/N 06997503190)	Natriumcitratdihydrat, 0,1 % Methyl-4-Hydroxybenzoat	4,2 l	Keine Angabe

* Diese Reagenzien sind nicht Bestandteil des cobas® HBV-Testkits. Siehe Liste der zusätzlich benötigten Materialien (Tabelle 9).

** Die Sicherheitskennzeichnung der Produkte erfolgt in erster Linie gemäß GHS-Verordnung der EU.

*** Gefährliche Substanz

Lagerungsbedingungen für Reagenzien

Reagenzien müssen wie in Tabelle 5, Tabelle 6 und Tabelle 7 angegeben gelagert und gehandhabt werden.

Reagenzien, die sich nicht in den cobas® 5800/6800/8800 Systems befinden, bei der in Tabelle 5 angegebenen Temperatur lagern.

Tabelle 5 Reagenzlagerung (wenn sich das Reagenz nicht im System befindet)

Reagenz	Lagertemperatur
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

Handhabung der Reagenzien für das cobas® 5800 System

Reagenzien im cobas® 5800 System werden bei angemessenen Temperaturen aufbewahrt und ihr Verfallsdatum wird vom System überwacht. Das System lässt die Verwendung der Reagenzien nur zu, wenn alle in Tabelle 7 angegebenen Bedingungen erfüllt sind. Das System verhindert automatisch die Verwendung von abgelaufenen Reagenzien. Tabelle 6 enthält die Bedingungen für die Reagenzhandhabung, die vom cobas® 5800 System geprüft werden.

Tabelle 6 Bedingungen für die Haltbarkeit der Reagenzien, die vom cobas® 5800 System geprüft werden

Reagenz	Verfallsdatum des Kits	Haltbarkeit nach dem Öffnen des Kits	Anzahl der Läufe, für die dieses Kit verwendet werden kann	Haltbarkeit im Gerät
cobas® HBV	Datum nicht überschritten	90 Tage ab erstem Gebrauch	Max. 40 Läufe	Max. 36 Tage*
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Datum nicht überschritten	Keine Angabe ¹	Keine Angabe	Max. 36 Tage*
cobas® NHP Negative Control Kit	Datum nicht überschritten	Keine Angabe ¹	Keine Angabe	Max. 36 Tage*
cobas omni Lysis Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden*	Keine Angabe	Keine Angabe
cobas omni MGP Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden*	Keine Angabe	Keine Angabe
cobas omni Specimen Diluent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden*	Keine Angabe	Keine Angabe
cobas omni Wash Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden*	Keine Angabe	Keine Angabe

¹ Reagenzien für den Einmalgebrauch

* Zeit ab dem erstmaligen Laden des Reagenzes in das cobas® 5800 System.

Handhabung der Reagenzien für die cobas® 6800/8800 Systems

Reagenzien in den cobas® 6800/8800 Systems werden bei angemessenen Temperaturen aufbewahrt und ihr Verfallsdatum wird vom System überwacht. Die cobas® 6800/8800 Systems lassen die Verwendung der Reagenzien nur zu, wenn alle in Tabelle 7 angegebenen Bedingungen erfüllt sind. Das System verhindert automatisch die Verwendung von abgelaufenen Reagenzien. Tabelle 7 enthält die Bedingungen für die Reagenzhandhabung, die von den cobas® 6800/8800 Systems geprüft werden.

Tabelle 7 Bedingungen für die Haltbarkeit der Reagenzien, die von den cobas® 6800/8800 Systems geprüft werden

Reagenz	Verfallsdatum des Kits	Haltbarkeit nach dem Öffnen des Kits	Anzahl der Läufe, für die dieses Kit verwendet werden kann	Haltbarkeit im Gerät (kumulative Zeit im Gerät außerhalb der Kühlung)
cobas® HBV	Datum nicht überschritten	90 Tage ab erstem Gebrauch	Max. 40 Läufe	Max. 40 Stunden
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Datum nicht überschritten	Keine Angabe ^a	Keine Angabe	Max. 8 Stunden
cobas® NHP Negative Control Kit	Datum nicht überschritten	Keine Angabe ^a	Keine Angabe	Max. 10 Stunden
cobas omni Lysis Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden*	Keine Angabe	Keine Angabe
cobas omni MGP Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden*	Keine Angabe	Keine Angabe
cobas omni Specimen Diluent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden*	Keine Angabe	Keine Angabe
cobas omni Wash Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden*	Keine Angabe	Keine Angabe

^a Reagenzien für den Einmalgebrauch

* Zeit ab dem erstmaligen Laden des Reagenzes in die cobas® 6800/8800 Systems.

Zusätzlich benötigte Materialien für das cobas® 5800 System

Tabelle 8 Material und Verbrauchsmaterialien zur Verwendung auf dem cobas® 5800 System

Material	P/N
cobas omni Processing Plate 24	08413975001
cobas omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Pipettenspitzen CORE TIPS mit Filter, 1 ml	04639642001
Pipettenspitzen CORE TIPS mit Filter, 300 µl	07345607001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Beutel für Festabfälle oder Beutel für Festabfälle mit Einsatz	07435967001 oder 08030073001

Zusätzlich benötigte Materialien für die cobas® 6800/8800 Systems

Tabelle 9 Materialien und Verbrauchsmaterialien zur Verwendung auf den cobas® 6800/8800 Systems

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
Beutel für Festabfälle und Festabfallbehälter oder Beutel für Festabfälle mit Einsatz und Kit-Schublade	07435967001 und 07094361001 oder 08030073001 und 08387281001

Benötigte Geräte und Software

Die **cobas**® 5800 Systemsoftware und das **cobas**® HBV-Analysepaket für das **cobas**® 5800 System müssen auf dem **cobas**® 5800 Gerät installiert werden. Die x800 Data Manager-Software und der PC für das **cobas**® 5800 System werden mit dem System bereitgestellt.

Die Software der **cobas**® 6800/8800 Systems und das **cobas**® HBV-Analysepaket für die **cobas**® 6800/8800 Systems müssen auf dem/den Gerät(en) installiert werden. Der IG-Server (Instrument Gateway) ist Bestandteil des Systems.

Tabelle 10 Geräte

Ausstattung	P/N
cobas ® 5800 System	08707464001
cobas ® 6800 System (mit beweglicher Plattform)	05524245001 und 06379672001
cobas ® 6800 System (feststehend)	05524245001 und 06379664001
cobas ® 8800 System	05412722001
Probenzufuhrmodul	06301037001

Zusätzliche Informationen finden Sie in der Benutzerunterstützung und/oder dem Benutzerhandbuch des **cobas**® 5800 Systems bzw. der **cobas**® 6800/8800 Systems.

Hinweis: Eine ausführliche Bestellliste für Probenracks, Racks für gestopfte Spitzen und Racktrays, die auf den Geräten verwendet werden können, ist bei der zuständigen Roche-Vertretung erhältlich.

Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Wie bei allen Testverfahren ist gute Laborpraxis eine unerlässliche Voraussetzung für die uneingeschränkte Leistung dieses Tests. Aufgrund der hohen Sensitivität dieses Tests ist besonders darauf zu achten, dass die Reagenzien und Amplifikationsgemische nicht kontaminiert werden.

- Nur zur Verwendung als *in vitro*-Diagnostikum bestimmt.
- Der **cobas**® HBV-Test wurde nicht als HBV-Screeningtest für Blut oder Blutprodukte oder als diagnostischer Test zur Bestätigung einer HBV-Infektion evaluiert.
- Alle Patientenproben sind als potenziell infektiös und gemäß den Vorschriften für sicheres Arbeiten im Labor wie in „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“ und dem CLSI-Dokument M29-A4 beschrieben zu behandeln.^{19,20} Dieses Verfahren darf nur von Personal angewandt werden, das mit dem **cobas**® HBV-Test und dem **cobas**® 5800 System bzw. den **cobas**® 6800/8800 Systems vertraut und in der Handhabung infektiöser Materialien geschult ist.
- Alle von Menschen gewonnenen Materialien sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen unter Anwendung genereller Vorsichtsmaßnahmen gehandhabt werden. Wenn Material verschüttet wurde, betroffenes Areal unverzüglich mit einer frisch zubereiteten Lösung aus 0,5%igem Natriumhypochlorit in destilliertem oder entionisiertem Wasser (Haushaltsbleiche im Verhältnis 1:10 verdünnen) desinfizieren oder die jeweiligen Laborverfahren beachten.
- Das **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit und das **cobas**® NHP Negative Control Kit enthalten aus Humanblut gewonnenes Plasma. Das Ausgangsmaterial wurde mit zugelassenen Antikörpertests geprüft und erwies sich als nicht-reaktiv auf HCV-Antikörper, HIV-1/2-Antikörper, HBsAg und HBc-Antikörper. Bei der Untersuchung dieses normalen Humanplasmas konnte mit PCR-Methoden keine HIV-1-RNA (Gruppen M und O), HIV-2-RNA, HCV-RNA oder HBV-DNA nachgewiesen werden. Mit keiner der bekannten Testmethoden kann jedoch eine Übertragung von Infektionserregern durch humane Blutprodukte ausgeschlossen werden.
- **Vollblut und andere Proben in Primärröhrchen nicht einfrieren.**
- Nur die mitgelieferten oder die als erforderlich angegeben Verbrauchsmaterialien verwenden, um eine optimale Leistung des Tests zu gewährleisten.
- Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) sind auf Anfrage bei der zuständigen Roche-Vertretung erhältlich.
- Alle Verfahren und Vorschriften sind sorgfältig einzuhalten, um eine korrekte Durchführung des Tests sicherzustellen. Jede Abweichung von den Verfahren und Vorschriften kann sich auf die optimale Leistung des Tests auswirken.
- Es kann zu falsch-positiven Ergebnissen kommen, wenn während der Handhabung und Bearbeitung der Proben eine Probenverschleppung nicht vermieden wird.
- Schwerwiegende Vorkommnisse, die bei Verwendung dieses Tests auftreten, müssen den zuständigen Behörden gemeldet werden.

Umgang mit Reagenzien

- Alle Reagenzien, Kontrollen und Proben sind gemäß der guten Laborpraxis zu handhaben, um eine Verschleppung der Proben und Kontrollen zu vermeiden.
- Alle Reagenzkassetten, Verdünnungslösungen, Lysereagenzien und Waschreagenzien vor der Verwendung visuell auf auslaufende Flüssigkeit überprüfen. Liegen Anzeichen für undichte Stellen vor, das betreffende Material nicht für den Test verwenden.
- **cobas omni** Lysis Reagent enthält die potenziell gefährliche Chemikalie Guanidinthiocyanat. Haut, Augen und Schleimhäute vor Kontakt mit Reagenzien schützen. Bei Kontakt sofort mit reichlich Wasser abspülen, um Verätzungen zu vermeiden.
- **cobas**® HBV-Testkit, **cobas omni** MGP Reagent und **cobas omni** Specimen Diluent enthalten Natriumazid als Konservierungsstoff. Haut, Augen und Schleimhäute vor Kontakt mit Reagenzien schützen. Bei Kontakt sofort mit reichlich Wasser abspülen, um Verätzungen zu vermeiden. Verschüttete Reagenzien vor dem Aufwischen zunächst mit Wasser verdünnen.
- **cobas omni** Lysis Reagent enthält Guanidinthiocyanat und darf nicht in Kontakt mit Natriumhypochloritlösung (Haushaltsbleiche) gebracht werden. Dieses Gemisch kann ein hochgiftiges Gas erzeugen.
- Sämtliche Materialien, die mit Proben und Reagenzien in Berührung gekommen sind, gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

Gute Laborpraxis

- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- In den Arbeitsbereichen des Labors nicht essen, trinken oder rauchen.
- Beim Umgang mit Proben und Reagenzien sind Laborhandschuhe, Laborkittel und Schutzbrille zu tragen. Um Kontamination zu vermeiden, müssen die Handschuhe zwischen der Handhabung von Proben und **cobas**® HBV-Kits sowie **cobas omni** Reagenzien jeweils gewechselt werden. Darauf achten, dass die Handschuhe beim Umgang mit den Proben und Kontrollen nicht kontaminiert werden.
- Nach Gebrauch der Proben und Kitreagenzien sowie nach dem Ausziehen der Handschuhe gründlich die Hände waschen.
- Alle Arbeitsflächen im Labor gründlich mit einer frisch hergestellten Lösung aus 0,5%igem Natriumhypochlorit in destilliertem oder entionisiertem Wasser reinigen und desinfizieren (Haushaltsbleiche im Verhältnis 1:10 verdünnen). Anschließend die Arbeitsflächen mit 70%igem Ethanol abwischen.
- Wenn Flüssigkeiten auf dem **cobas**® 5800 System verschüttet wurden, die Oberflächen gemäß den Anweisungen in der Benutzerunterstützung und/oder im Benutzerhandbuch des **cobas**® 5800 Systems reinigen und dekontaminieren.
- Wenn Flüssigkeiten auf den **cobas**® 6800/8800 Systems verschüttet wurden, die Oberflächen gemäß den Anweisungen in der Benutzerunterstützung und/oder im Benutzerhandbuch der **cobas**® 6800/8800 Systems reinigen und dekontaminieren.

Entnahme, Transport und Lagerung von Proben

Hinweis: Alle Proben und Kontrollen sind wie potenzielle Überträger von Infektionserregern zu behandeln.

Alle Proben bei den angegebenen Temperaturen lagern.

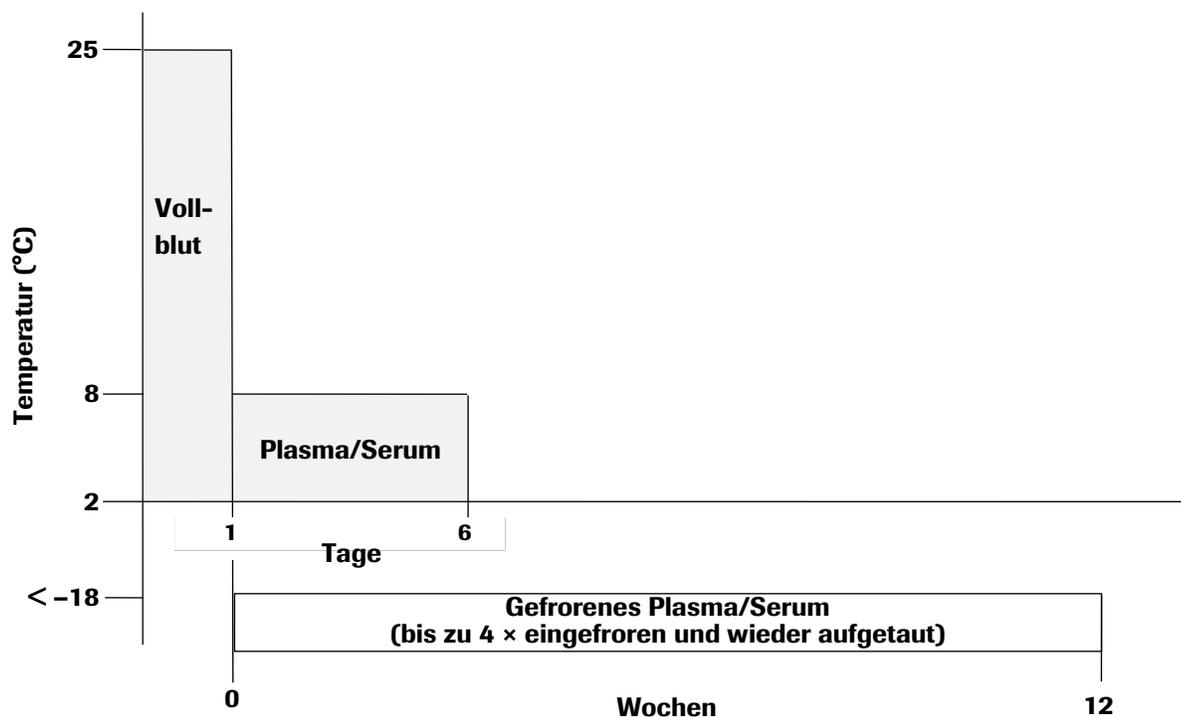
Erhöhte Umgebungstemperaturen wirken sich auf die Probenstabilität aus.

Bei Verwendung gefrorener Proben in Sekundärröhrchen die Proben bei Zimmertemperatur (15–30 °C) vollständig auftauen lassen, kurz mischen (z. B. 3 bis 5 Sekunden im Vortexer) und anschließend zentrifugieren, um das gesamte Probenvolumen am Röhrchenboden zu sammeln.

Proben

- Das Vollblut ist in SST™ Serumtrennröhrchen, BD Vacutainer® PPT™ Plasmavorbereitungsröhrchen für molekulare diagnostische Tests oder in sterilen Röhrchen mit EDTA als Antikoagulans zu sammeln. Die Anweisungen des Probenröhrchen-Herstellers beachten. Siehe Abbildung 1.
- Vollblut, das in SST™ Serumtrennröhrchen, BD Vacutainer® PPT™ Plasmavorbereitungsröhrchen für molekulardiagnostische Tests oder in sterilen Röhrchen mit EDTA als Antikoagulans gesammelt wurde, kann vor der Vorbereitung des Plasmas bzw. Serums bei 2 °C bis 25 °C maximal 24 Stunden lang gelagert und transportiert werden. Beim Zentrifugieren die Anweisungen des Geräteherstellers beachten.
- Nach der Abtrennung können Plasma-/Serumproben in Sekundärröhrchen bei 2 °C bis 8 °C maximal 6 Tage oder bei ≤ -18 °C maximal 12 Wochen gelagert werden.
- Zur Langzeitlagerung bis zu 6 Monate werden Temperaturen von ≤ -60 °C empfohlen.
- Plasma- und Serumproben dürfen viermal bei ≤ -18 °C eingefroren und wieder aufgetaut werden.

Abbildung 1 Lagerbedingungen für Proben



- Wenn Proben versandt werden sollen, sind sie gemäß den geltenden nationalen und internationalen Vorschriften für den Transport von Proben und Krankheitserregern zu verpacken und zu beschriften.

Gebrauchsanweisung

Hinweise zum Verfahren

- Die **cobas**® HBV-Testreagenzien, das **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, das **cobas**® NHP Negative Control Kit und die **cobas** **omni** Reagenzien nach dem Verfallsdatum nicht mehr verwenden.
- Verbrauchsmaterialien nicht wiederverwenden. Sie sind ausschließlich zum Einmalgebrauch vorgesehen.
- Informationen zur ordnungsgemäßen Wartung der Geräte finden Sie in der Benutzerunterstützung und/oder dem Benutzerhandbuch des **cobas**® 5800 Systems bzw. der **cobas**® 6800/8800 Systems.

Durchführung des cobas® HBV-Tests auf dem cobas® 5800 System

Zur Durchführung des cobas® HBV-Tests ist ein Probenvolumen von 350 µl (beim Arbeitsablauf mit 200 µl Probe) bzw. 650 µl (beim Arbeitsablauf mit 500 µl Probe) erforderlich. Der Testablauf ist in der Benutzerunterstützung und/oder im Benutzerhandbuch des cobas® 5800 Systems ausführlich beschrieben. In Abbildung 2 ist der Ablauf zusammenfassend dargestellt.

Abbildung 2 cobas® HBV-Testablauf auf dem cobas® 5800 System

1	Beim System anmelden.
2	Proben in das System laden: <ul style="list-style-type: none">• Probenracks in das System laden.• Vorbereitung erfolgt automatisch durch das System.• Tests auswählen.
3	Reagenzien und Verbrauchsmaterialien auf Anforderung des Systems nachfüllen: <ul style="list-style-type: none">• Testspezifische Reagenzkassette(n) laden.• Kontroll-Miniracks laden.• Probenaufarbeitungsspitzen laden.• Elutionsspitzen laden.• Probenaufarbeitungsplatten laden.• Platten für Flüssigabfall laden.• Amplifikationsplatten laden.• MGP-Kassette laden.• Probenverdünnungslösung nachfüllen.• Lyse-reagenz nachfüllen.• Waschreagenz nachfüllen.
4	Starten Sie den Lauf, indem Sie in der Benutzeroberfläche die Schaltfläche für den Bearbeitungsstart auswählen; alle nachfolgenden Läufe starten automatisch, sofern sie nicht manuell verschoben werden.
5	Ergebnisse prüfen und exportieren.
6	Probenröhrchen, die die Anforderungen an das Mindestvolumen erfüllen, bei Bedarf für den zukünftigen Gebrauch entnehmen und verschließen. Das Gerät reinigen: <ul style="list-style-type: none">• Leere Kontroll-Miniracks entnehmen.• Leere testspezifische Reagenzkassette(n) entnehmen.• Die Amplifikationsplattenschublade leeren.• Flüssigabfall entsorgen.• Festabfall entsorgen.

Durchführung des cobas® HBV-Tests auf den cobas® 6800/8800 Systems

Zur Durchführung des cobas® HBV-Tests ist ein Probenvolumen von mindestens 350 µl (beim Arbeitsablauf mit 200 µl Probe) bzw. 650 µl (beim Arbeitsablauf mit 500 µl Probe) erforderlich. Der Testablauf ist in der Benutzerunterstützung und/oder im Benutzerhandbuch der cobas® 6800/8800 Systems ausführlich beschrieben. In Abbildung 3 ist der Ablauf zusammenfassend dargestellt.

Abbildung 3 cobas® HBV-Testablauf auf den cobas® 6800/8800 Systems

1	Beim System anmelden. Zum Vorbereiten des Systems „Start“ drücken. Tests auswählen.
2	Reagenzien und Verbrauchsmaterialien auf Anforderung des Systems nachfüllen: <ul style="list-style-type: none">• Testspezifische Reagenzkassette laden.• Kontrollkassetten laden.• Pipettierspitzen laden.• Probenaufarbeitungsplatten laden.• MGP-Reagenz laden.• Amplifikationsplatten laden.• Probenverdünnungslösung nachfüllen.• Lysereagenz nachfüllen.• Waschreagenz nachfüllen.
3	Proben in das System laden: <ul style="list-style-type: none">• Probenracks und Racks für gestopfte Spitzen in das Probenzufuhrmodul laden.• Sicherstellen, dass die Proben im Transfermodul aufgenommen wurden.
4	Lauf mit der Schaltfläche „Manuell starten“ in der Benutzeroberfläche starten oder den automatischen Start des Laufs nach 120 Minuten (oder wenn der Batch vollständig ist) programmieren.
5	Ergebnisse prüfen und exportieren.
6	Probenröhrchen, die die Anforderungen an das Mindestvolumen erfüllen, bei Bedarf für den zukünftigen Gebrauch entnehmen und verschließen. Das Gerät reinigen: <ul style="list-style-type: none">• Leere Kontrollkassetten entnehmen.• Die Amplifikationsplattenschublade leeren.• Flüssigabfall entsorgen.• Festabfall entsorgen.

Ergebnisse

Das **cobas**® 5800 System und die **cobas**® 6800/8800 Systems dienen zur automatischen Bestimmung der HBV-DNA-Konzentration in Proben und Kontrollen. Die HBV-DNA-Konzentration wird in internationalen Einheiten pro Milliliter (IE/ml) angegeben.

Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse auf dem **cobas**® 5800 System

- Mindestens alle 72 Stunden oder mit jeder neuen Kitcharge werden eine Negativkontrolle [(-) C] sowie zwei Positivkontrollen, eine niedrig positive [HBV L(+)C] und eine hoch positive [HBV H(+)C] mitgeführt. Positiv- bzw. Negativkontrollen können, wenn dies aufgrund der Laborverfahren und/oder der geltenden Vorschriften erforderlich ist, auch häufiger angesetzt werden.
- Die **cobas**® 5800 Systemsoftware und/oder den Bericht auf Flags und entsprechende Ergebnisse kontrollieren, um die Gültigkeit des Batches zu überprüfen.
- Der Batch ist gültig, wenn für keine der drei Kontrollen Flags ausgegeben wurden, d. h. weder für die Negativkontrolle noch für die beiden Positivkontrollen HBV L(+)C und HBV H(+)C. In der Ergebnisübersicht werden die Negativkontrolle als (-) C und die schwach und hoch positiven Kontrollen als HxV L(+)C bzw. HxV H(+)C dargestellt.

Die **cobas**® 5800 Software markiert Ergebnisse bei ausgefallenen Negativ- oder Positivkontrollen automatisch als ungültig.

HINWEIS: Das **cobas**® 5800 System wird mit der Standardeinstellung ausgeliefert, bei der mit jedem Lauf ein Satz Kontrollen (Positiv- und Negativkontrollen) analysiert wird; es kann aber je nach Laborverfahren und geltenden Vorschriften auch so konfiguriert werden, dass das Intervall bis zu 72 Stunden beträgt. Für weitere Informationen wenden Sie sich an Ihren Roche Servicetechniker und/oder den technischen Kundendienst von Roche.

Kontrollergebnisse auf dem **cobas**® 5800 System

Die Ergebnisse der Kontrollen werden in der **cobas**® 5800 Software in der Anwendung „Kontrollen“ angezeigt.

- Kontrollen werden in der Spalte „Kontrollergebnis“ mit „Gültig“ gekennzeichnet, wenn alle Zielsequenzen der Kontrolle als gültig ausgegeben werden. Kontrollen werden in der Spalte „Kontrollergebnis“ mit „Ungültig“ gekennzeichnet, wenn alle oder mindestens eine Zielsequenz der Kontrolle als ungültig ausgegeben werden.
- Bei mit „Ungültig“ gekennzeichneten Kontrollen erscheint in der Spalte „Flags“ ein Hinweis. In der Detailansicht werden weitere Informationen dazu angezeigt, warum die Kontrolle als ungültig ausgegeben wurde und was der Flag bedeutet.
- Ist eine der Positivkontrollen ungültig, testen Sie alle Positivkontrollen und alle zugehörigen Proben erneut. Ist die Negativkontrolle ungültig, testen Sie alle Kontrollen und alle zugehörigen Proben erneut.

Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse auf den **cobas**® 6800/8800 Systems

- Mit jedem Batch werden eine Negativkontrolle [(-) C] sowie zwei Positivkontrollen, eine niedrig positive [HBV L(+)C] und eine hoch positive [HBV H(+)C] mitgeführt.
- Die jeweilige **cobas**® 6800/8800 Systemsoftware und/oder die Berichte auf Flags und entsprechende Ergebnisse kontrollieren, um die Gültigkeit des Batches zu überprüfen.

- Der Batch ist gültig, wenn für keine der drei Kontrollen Flags ausgegeben wurden, d. h. weder für die Negativkontrolle noch für die beiden Positivkontrollen HBV L(+)C und HBV H(+)C. In der Ergebnisübersicht werden die Negativkontrolle als (-) C und die schwach und hoch positiven Kontrollen als HxV L(+)C bzw. HxV H(+)C dargestellt.

Die cobas® 6800/8800 Software markiert Ergebnisse bei ausgefallenen Negativ- und Positivkontrollen automatisch als ungültig.

Kontroll-Flags auf den cobas® 6800/8800 Systems

Tabelle 11 Kontroll-Flags für Negativ- und Positivkontrollen

Negativkontrolle	Flag	Ergebnis	Interpretation
(-) C	Q02 (Kontrollbatch fehlerhaft)	Ungültig	Ungültiges Ergebnis oder der errechnete Titer für die Negativkontrolle ist nicht negativ.
Positivkontrolle	Flag	Ergebnis	Interpretation
HxV L(+)C	Q02 (Kontrollbatch fehlerhaft)	Ungültig	Ungültiges Ergebnis oder der errechnete Titerwert für die niedrig positive Kontrolle liegt nicht im Sollbereich.
HxV H(+)C	Q02 (Kontrollbatch fehlerhaft)	Ungültig	Ungültiges Ergebnis oder der errechnete Titerwert für die hoch positive Kontrolle liegt nicht im Sollbereich.

Wenn der Batch ungültig ist, muss der Test des gesamten Batch einschließlich der Proben und Kontrollen wiederholt werden.

In der cobas® 6800/8800 Software steht HxV L(+)C für die cobas® HBV/HCV/HIV-1 niedrig positive Kontrolle und HxV H(+)C für die cobas® HBV/HCV/HIV-1 hoch positive Kontrolle.

Interpretation der Ergebnisse

Bei gültigen Kontroll-Batches die einzelnen Proben in der Software des cobas® 5800 Systems und der cobas® 6800/8800 Systems und/oder in den Berichten auf Flags kontrollieren. Die Ergebnisse sind wie folgt zu interpretieren:

- Ein gültiger Batch kann sowohl gültige als auch ungültige Probenergebnisse enthalten.

Tabelle 12 Interpretation der Ergebnisse für die einzelnen Zielsequenzen

Ergebnisse	Interpretation
Target Not Detected	HBV-DNA nicht nachgewiesen. Ergebnisse als „HBV nicht nachgewiesen“ angeben.
< Titer Min	Der errechnete Titer liegt unterhalb der unteren Quantifizierungsgrenze des Tests. Ergebnisse als „HBV nachgewiesen, unter (Titer min)“ angeben. Titer min = 10 IE/ml (500 µl) Titer min = 25 IE/ml (200 µl)
Titer	Der errechnete Titer liegt innerhalb des linearen Bereichs des Tests, d. h. er ist größer oder gleich Titer Min und kleiner oder gleich Titer Max. Ergebnisse als „(Titer) von HBV nachgewiesen“ angeben.
> Titer Max ^a	Der errechnete Titer liegt über der oberen Quantifizierungsgrenze des Tests. Ergebnisse als „HBV nachgewiesen, über (Titer max)“ angeben. Titer max = 1,00E+09 IE/ml (500 µl und 200 µl)

^a Das Probenergebnis „> Titer Max“ bezieht sich auf HBV-positive Proben, bei denen HBV mit einem Titer über der oberen Quantifizierungsgrenze nachgewiesen wurde. Wenn quantitative Ergebnisse gewünscht werden, die ursprüngliche Probe je nach Probenart mit HBV-negativem EDTA-Plasma oder Serum verdünnen und den Test wiederholen. Das dabei ermittelte Ergebnis mit dem Verdünnungsfaktor multiplizieren.

Interpretation der Ergebnisse auf dem cobas® 5800 System

Die Ergebnisse der Proben werden in der cobas® 5800 Software in der Anwendung „Ergebnisse“ angezeigt.

Bei gültigen Kontroll-Batches die einzelnen Proben in der cobas® 5800 Software und/oder im Bericht auf Flags kontrollieren. Die Ergebnisse sind wie folgt zu interpretieren:

- Einem gültigen Kontroll-Batch zugehörige Proben werden in der Spalte „Kontrollergebnis“ als „Gültig“ angezeigt, wenn für alle Kontrollzielsequenzen das Ergebnis „Gültig“ ausgegeben wurde. Einem fehlgeschlagenen Kontroll-Batch zugehörige Proben werden in der Spalte „Kontrollergebnis“ als „Ungültig“ angezeigt, wenn für alle Kontrollzielsequenzen das Ergebnis „Ungültig“ ausgegeben wurde.
- Wenn die zu einer Probe gehörigen Kontrollen ungültig sind, wird das Probenergebnis mit einem der folgenden Flags versehen:
 - Q05D: Fehler bei der Ergebnisvalidierung infolge einer ungültigen Positivkontrolle
 - Q06D: Fehler bei der Ergebnisvalidierung infolge einer ungültigen Negativkontrolle
- Die Ergebniswerte in der Spalte „Ergebnisse“ zu den einzelnen Zielsequenzen einer Probe sind wie in Tabelle 12 oben dargestellt zu interpretieren.
- Wenn mindestens eine Zielsequenz einer Probe als „Ungültig“ gekennzeichnet wurde, zeigt die cobas® 5800 Software einen Hinweis in der Spalte „Flags“ an. In der Detailansicht werden weitere Informationen dazu angezeigt, warum die Zielsequenz(en) der Probe als ungültig ausgegeben wurde(n) und was der Flag bedeutet.

Interpretation der Ergebnisse auf den cobas® 6800/8800 Systems

Bei gültigen Batches die einzelnen Proben in der cobas® 6800/8800 Software und/oder im Bericht auf Flags kontrollieren.

Die Ergebnisse sind wie folgt zu interpretieren:

- Die Proben werden in der Spalte „Gültig“ mit „Ja“ gekennzeichnet, wenn für alle angeforderten Zielregionen gültige Ergebnisse erhalten wurden. Die Proben werden in der Spalte „Gültig“ mit „Nein“ gekennzeichnet, wenn ggf. zusätzliche Interpretationen und Maßnahmen erforderlich sind.
- Die Ergebniswerte zu den einzelnen Zielsequenzen einer Probe sind wie in Tabelle 12 oben dargestellt zu interpretieren.

Verfahrenseinschränkungen

- Der **cobas**® HBV-Test ist ausschließlich für den Gebrauch mit dem **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, **cobas**® NHP Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent und **cobas omni** Wash Reagent auf **cobas**® 5800/6800/8800 Systems validiert.
- Zuverlässige Ergebnisse hängen von der sachgemäßen Gewinnung, Lagerung und Bearbeitung der Proben ab.
- Dieser Test wurde ausschließlich für die Verwendung mit EDTA-Plasma und Serum validiert. Wenn andere Probenmaterialien getestet werden, können falsche Ergebnisse erzielt werden.
- Die HBV-DNA-Quantifizierung hängt von der Anzahl der in der Probe enthaltenen Viruspartikel ab und kann durch das Probenentnahmeverfahren, patientenbezogene Faktoren (d. h. Alter, Vorhandensein von Symptomen) und/oder das Infektionsstadium beeinflusst werden.
- Mutationen in den hochkonservierten Regionen des viralen Genoms, das durch den **cobas**® HBV-Test abgedeckt wird, treten zwar selten auf, können jedoch die Primer- und/oder Sondenbindung beeinträchtigen und dadurch zur Unterquantifizierung oder Nichterkennung des Virus führen.
- Bevor Benutzer zwischen verschiedenen Verfahren wechseln, sollten sie aufgrund der inhärenten Unterschiede zwischen den Verfahren in ihrem Labor Studien zur Korrelation der Methoden durchführen, um die Unterschiede der Verfahren zu ermitteln. Außerdem sollten Benutzer stets die eigenen Richtlinien und Verfahren beachten.
- Der **cobas**® HBV-Test ist nicht als HBV-Screeningtest für Blut oder Blutprodukte oder als diagnostischer Test zur Bestätigung einer HBV-Infektion vorgesehen.

Nichtklinische Leistungsmerkmale

Wichtige Leistungsmerkmale zu den cobas® 6800/8800 Systems

Nachweisgrenze (LoD)

Internationaler WHO-Standard

Die Nachweisgrenze des cobas® HBV-Tests wurde durch Analyse von Reihenverdünnungen des internationalen WHO-Standards für HBV-DNA für auf Nukleinsäure-Amplifikationstechniken basierende Tests (2nd WHO International Standard) des Genotyps A (vom NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control) bereitgestellt) in HBV-negativem humanem EDTA-Plasma und Serum mit Probenverarbeitungsvolumen von 500 µl und 200 µl bestimmt. Panels mit acht Konzentrationen plus Negativprobe für das Probenverarbeitungsvolumen von 500 µl und neun Konzentrationen für das Probenverarbeitungsvolumen von 200 µl wurden mit drei Chargen von cobas® HBV-Testreagenzien an mehreren Tagen mit mehreren Läufen, Anwendern und Geräten getestet.

Die Ergebnisse für EDTA-Plasma und Serum aus beiden Probenverarbeitungsvolumen sind in Tabelle 13 bis Tabelle 16 dargestellt. Für EDTA-Plasma ergaben die Messungen, dass der cobas® HBV-Test bei einem Probenverarbeitungsvolumen von 500 µl HBV-DNA in einer Konzentration von 3 IE/ml mit einer Trefferquote von $\geq 95\%$ und bei einem Probenverarbeitungsvolumen von 200 µl HBV-DNA in einer Konzentration von 17,5 IE/ml mit einer Trefferquote von $\geq 95\%$ nachweisen kann. Für Serum ergaben die Messungen, dass der cobas® HBV-Test bei einem Probenverarbeitungsvolumen von 500 µl HBV-DNA in einer Konzentration von 3 IE/ml mit einer Trefferquote von $\geq 95\%$ und bei einem Probenverarbeitungsvolumen von 200 µl HBV-DNA in einer Konzentration von 15 IE/ml mit einer Trefferquote von $\geq 95\%$ nachweisen kann.

Tabelle 13 Nachweisgrenze in EDTA-Plasma (500 µl)

Ausgangstiterkonzentration (HBV-DNA, IE/ml)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in %
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 gemäß PROBIT bei 95 % Trefferquote	2,7 IE/ml 95 %-Konfidenzintervall: 2,4–3,1 IE/ml		

Tabelle 14 Nachweisgrenze in Serum (500 µl)

Ausgangstiterkonzentration (HBV-DNA, IE/ml)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in %
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 gemäß PROBIT bei 95 % Trefferquote	2,4 IE/ml 95 %-Konfidenzintervall: 2,0–2,7 IE/ml		

Tabelle 15 Nachweisgrenze in EDTA-Plasma (200 µl)

Ausgangstiterkonzentration (HBV-DNA, IE/ml)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in %
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 gemäß PROBIT bei 95 % Trefferquote	15,5 IE/ml 95 %-Konfidenzintervall: 14,4–16,9 IE/ml		

Tabelle 16 Nachweisgrenze in Serum (200 µl)

Ausgangstiterkonzentration (HBV-DNA, IE/ml)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in %
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 gemäß PROBIT bei 95 % Trefferquote	12,5 IE/ml 95 %-Konfidenzintervall: 11,6–13,8 IE/ml		

Linearer Bereich

Die Linearitätsstudie zum **cobas**® HBV-Test wurde mit einer Verdünnungsreihe durchgeführt, deren 15 Panelproben den vorgesehenen linearen Bereich für den vorherrschenden Genotyp (GT A) abdecken. Panelproben mit hohem Titer wurden aus einer HBV-DNA-Stammlösung mit hohem Titer hergestellt, während die Panelproben mit niedrigem Titer aus einer klinischen Probe hergestellt wurden. Das Linearitäts-Panel war auf eine Titerüberlappung von ca. $2 \log_{10}$ zwischen den beiden Materialquellen ausgelegt. Der erwartete lineare Bereich des **cobas**® HBV-Tests reicht von der unteren Quantifizierungsgrenze (10 IE/ml bei 500 µl Probenverarbeitungsvolumen und 25 IE/ml bei 200 µl Probenverarbeitungsvolumen) bis zur oberen Quantifizierungsgrenze (1,00E+09 IE/ml). Das Linearitäts-Panel war auf eine Spanne von 1 Konzentrationsstufe unter der unteren Quantifizierungsgrenze (z. B. 7,5 IE/ml) bis 1 Konzentrationsstufe über der oberen Quantifizierungsgrenze (z. B. 2,0E+09 IE/ml) und die Abdeckung medizinischer Entscheidungspunkte ausgelegt. Darüber hinaus war das Panel darauf ausgelegt, Schritte von $1,0 \log_{10}$ über den gesamten linearen Bereich teilweise zu unterstützen. Für jede Panelprobe wurde die Nennkonzentration in IE/ml sowie die Quelle der HBV-DNA angegeben.

Bei einem Verarbeitungsvolumen von 500 µl ist der **cobas**® HBV-Test für EDTA-Plasma und Serum im Bereich von 10 IE/ml bis 1,00E+09 IE/ml linear und zeigt eine absolute Abweichung von der nichtlinearen Regression von weniger als $\pm 0,2 \log_{10}$. Im gesamten linearen Bereich liegt die Genauigkeit des Tests innerhalb von $\pm 0,24 \log_{10}$.

Bei einem Verarbeitungsvolumen von 200 µl ist der **cobas**® HBV-Test für EDTA-Plasma und Serum im Bereich von 25 IE/ml bis 1,00E+09 IE/ml linear und zeigt eine absolute Abweichung von der nichtlinearen Regression von weniger als $\pm 0,2 \log_{10}$. Im gesamten linearen Bereich liegt die Genauigkeit des Tests innerhalb von $\pm 0,24 \log_{10}$.

Repräsentative Ergebnisse siehe Abbildung 4 bis Abbildung 7.

Abbildung 4 Bestimmung des linearen Bereichs in EDTA-Plasma (500 µl)

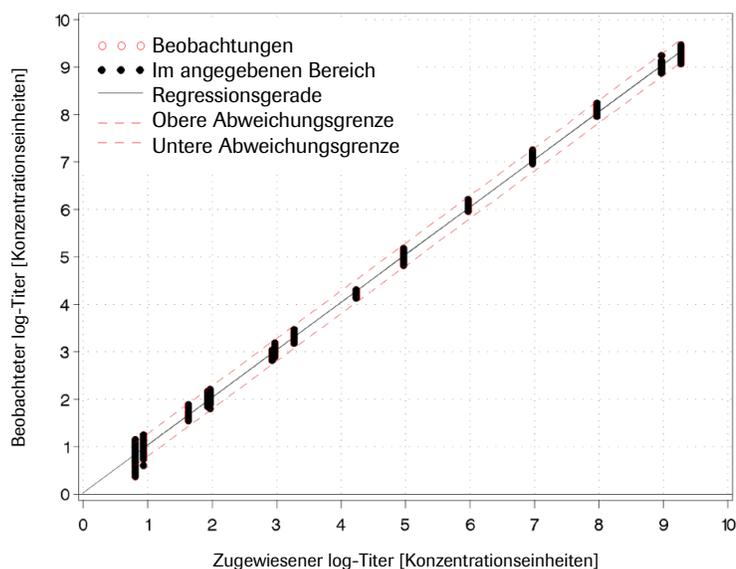


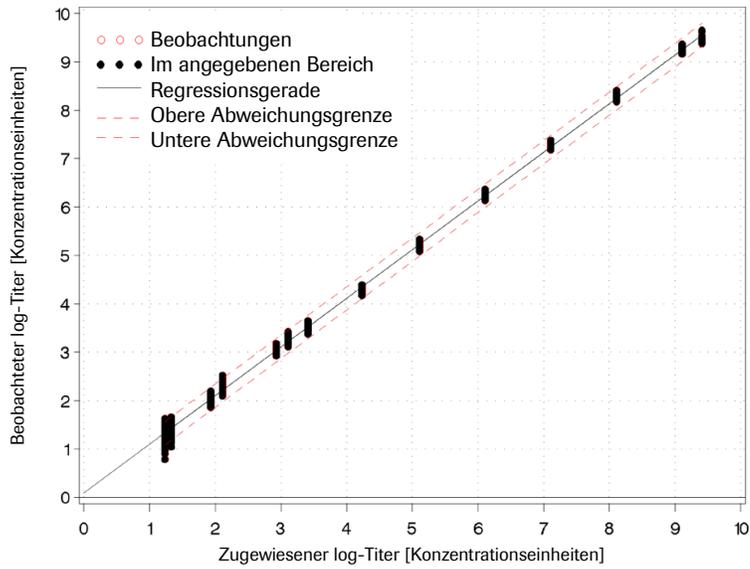
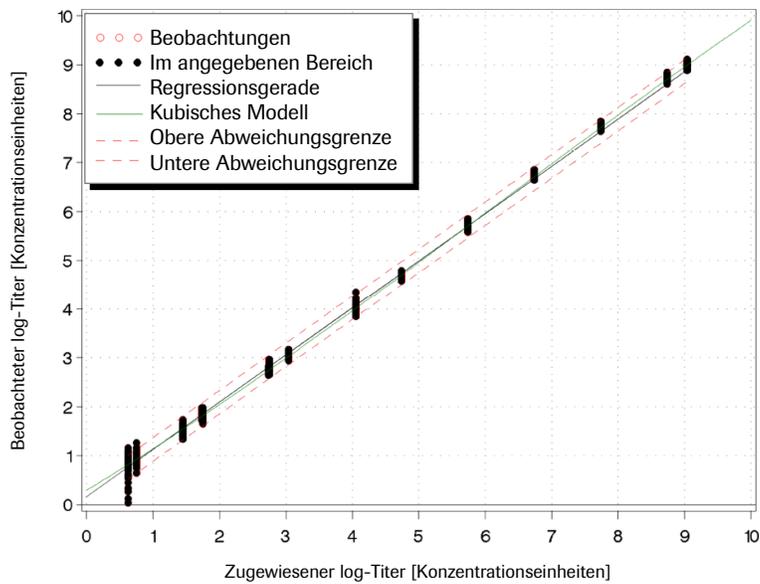
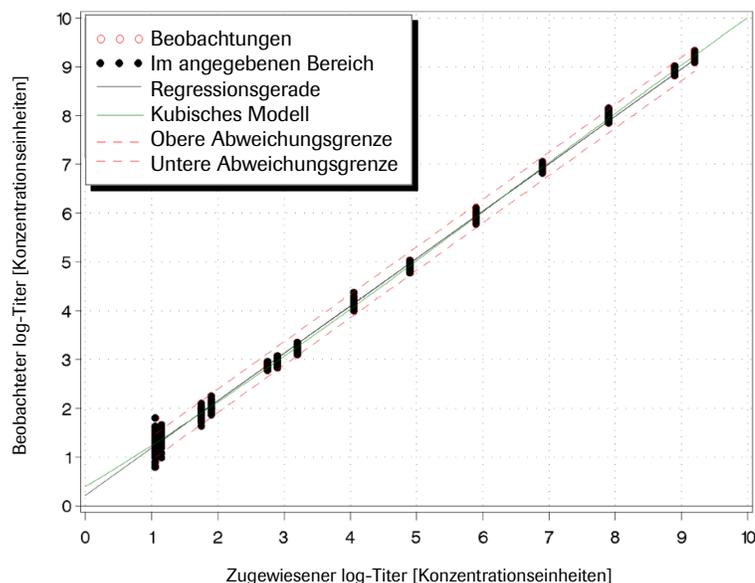
Abbildung 5 Bestimmung des linearen Bereichs in EDTA-Plasma (200 µl)**Abbildung 6** Bestimmung des linearen Bereichs in Serum (500 µl)

Abbildung 7 Bestimmung des linearen Bereichs in Serum (200 µl)

Laborinterne Präzision

Zur Bestimmung der Präzision des **cobas**® HBV-Tests wurde eine Verdünnungsreihe von klinischen HBV-Proben (KP) des Genotyps A oder HBV-Plasmid-DNA in HBV-negativem EDTA-Plasma oder Serum analysiert. Dabei wurden an 12 Tagen unter Verwendung von drei Geräten und drei Anwendern 10 bis 12 Verdünnungsstufen mit 48 Replikaten für jede Verdünnung und jedes Verarbeitungsvolumen über drei Chargen von **cobas**® HBV-Testreagenzien getestet. Alle Proben durchliefen das gesamte **cobas**® HBV-Testverfahren auf vollautomatisierten **cobas**® 6800/8800 Systems. Die hier angegebene Präzision spiegelt daher alle Aspekte des Testverfahrens wider. Die Ergebnisse sind in Tabelle 17 bis Tabelle 20 zusammengefasst.

Der **cobas**® HBV-Test zeigte eine hohe Präzision für drei getestete Reagenzchargen über einen Konzentrationsbereich von $5,00E+01$ IE/ml bis $1,0E+09$ IE/ml bei einem Probenverarbeitungsvolumen von 500 µl und über einen Bereich von $1,00E+02$ IE/ml bis $1,0E+08$ IE/ml (EDTA-Plasma) und $1,0E+09$ IE/ml (Serum) bei einem Probenverarbeitungsvolumen von 200 µl.

Tabelle 17 Laborinterne Präzision des cobas® HBV-Tests (EDTA-Plasmaproben – 500 µl Probenverarbeitungsvolumen)*

Nennkonzentration (IE/ml)	Zugewiesene Konzentration (IE/ml)	Ausgangsmaterial	EDTA-Plasma			
			Charge 1	Charge 2	Charge 3	Alle Chargen
			SD	SD	SD	SD gepoolt
1,00E+09	9,32E+08	Plasmid-DNA	0,04	0,07	0,09	0,07
1,00E+08	9,32E+07	Plasmid-DNA	0,04	0,08	0,05	0,06
1,00E+07	9,32E+06	Plasmid-DNA	0,06	0,05	0,04	0,05
1,00E+06	9,32E+05	Plasmid-DNA	0,06	0,07	0,04	0,06
1,00E+05	9,32E+04	Plasmid-DNA	0,06	0,06	0,07	0,06
2,00E+04	1,71E+04	Klinische Probe	0,05	0,03	0,03	0,04
2,00E+03	1,86E+03	Plasmid-DNA	0,05	0,04	0,07	0,05
1,00E+03	8,54E+02	Klinische Probe	0,04	0,05	0,04	0,04
1,00E+03	9,32E+02	Plasmid-DNA	0,06	0,06	0,05	0,06
1,00E+02	8,54E+01	Klinische Probe	0,07	0,08	0,07	0,07
1,00E+02	9,32E+01	Plasmid-DNA	0,10	0,08	0,09	0,09
5,00E+01	4,27E+01	Klinische Probe	0,09	0,04	0,08	0,08

* Titerdaten werden als log-normalverteilt betrachtet und nach der log₁₀-Transformation analysiert. In den Spalten zur Standardabweichung (SD) sind die log-transformierten Gesamttiter für die drei Reagenzchargen angegeben.

Tabelle 18 Laborinterne Präzision des cobas® HBV-Tests (Serumproben – 500 µl Probenverarbeitungsvolumen)*

Nennkonzentration (IE/ml)	Zugewiesene Konzentration (IE/ml)	Ausgangsmaterial	Serum			
			Charge 1	Charge 2	Charge 3	Alle Chargen
			SD	SD	SD	SD gepoolt
1,00E+09	5,47E+08	Plasmid-DNA	0,05	0,06	0,03	0,05
1,00E+08	5,47E+07	Plasmid-DNA	0,03	0,04	0,03	0,04
1,00E+07	5,47E+06	Plasmid-DNA	0,05	0,05	0,03	0,05
1,00E+06	5,47E+05	Plasmid-DNA	0,04	0,06	0,06	0,05
1,00E+05	5,47E+04	Plasmid-DNA	0,04	0,03	0,03	0,04
2,00E+04	1,12E+04	Klinische Probe	0,10	0,07	0,08	0,08
2,00E+03	1,09E+03	Plasmid-DNA	0,05	0,05	0,03	0,05
1,00E+03	5,62E+02	Klinische Probe	0,03	0,14	0,03	0,09
1,00E+03	5,47E+02	Plasmid-DNA	0,04	0,05	0,04	0,04
1,00E+02	5,62E+01	Klinische Probe	0,09	0,06	0,07	0,07
1,00E+02	5,47E+01	Plasmid-DNA	0,05	0,07	0,04	0,06
5,00E+01	2,81E+01	Klinische Probe	0,07	0,06	0,10	0,08

* Titerdaten werden als log-normalverteilt betrachtet und nach der log₁₀-Transformation analysiert. In den Spalten zur Standardabweichung (SD) sind die log-transformierten Gesamttiter für die drei Reagenzchargen angegeben.

Tabelle 19 Laborinterne Präzision des cobas® HBV-Tests (EDTA-Plasmaproben – 200 µl Probenverarbeitungsvolumen)*

Nennkonzentration (IE/ml)	Zugewiesene Konzentration (IE/ml)	Ausgangsmaterial	EDTA-Plasma			
			Charge 1	Charge 2	Charge 3	Alle Chargen
			SD	SD	SD	SD gepoolt
1,00E+08	1,28E+08	Plasmid-DNA	0,04	0,05	0,03	0,04
1,00E+07	1,28E+07	Plasmid-DNA	0,06	0,04	0,02	0,04
1,00E+06	1,28E+06	Plasmid-DNA	0,03	0,04	0,04	0,03
1,00E+05	1,28E+05	Plasmid-DNA	0,02	0,06	0,05	0,05
2,00E+04	1,71E+04	Klinische Probe	0,03	0,05	0,03	0,04
2,00E+03	2,57E+03	Plasmid-DNA	0,05	0,06	0,05	0,05
1,00E+03	8,54E+02	Klinische Probe	0,07	0,05	0,03	0,05
1,00E+03	1,28E+03	Plasmid-DNA	0,06	0,07	0,03	0,05
1,00E+02	8,54E+01	Klinische Probe	0,09	0,09	0,07	0,09
1,00E+02	1,28E+02	Plasmid-DNA	0,06	0,09	0,11	0,09

* Titerdaten werden als log-normalverteilt betrachtet und nach der log₁₀-Transformation analysiert. In den Spalten zur Standardabweichung (SD) sind die log-transformierten Gesamttiter für die drei Reagenzchargen angegeben.

Tabelle 20 Laborinterne Präzision des cobas® HBV-Tests (Serumproben – 200 µl Probenverarbeitungsvolumen)*

Nennkonzentration (IE/ml)	Zugewiesene Konzentration (IE/ml)	Ausgangsmaterial	Serum			
			Charge 1	Charge 2	Charge 3	Alle Chargen
			SD	SD	SD	SD gepoolt
1,00E+09	7,92E+08	Plasmid-DNA	0,04	0,03	0,03	0,04
1,00E+08	7,92E+07	Plasmid-DNA	0,07	0,05	0,06	0,06
1,00E+07	7,92E+06	Plasmid-DNA	0,04	0,03	0,04	0,04
1,00E+06	7,92E+05	Plasmid-DNA	0,03	0,05	0,04	0,04
1,00E+05	7,92E+04	Plasmid-DNA	0,06	0,07	0,03	0,06
2,00E+04	1,12E+04	Klinische Probe	0,16	0,08	0,03	0,11
2,00E+03	1,58E+03	Plasmid-DNA	0,05	0,04	0,05	0,05
1,00E+03	5,62E+02	Klinische Probe	0,07	0,04	0,04	0,05
1,00E+03	7,92E+02	Plasmid-DNA	0,07	0,05	0,06	0,06
1,00E+02	5,62E+01	Klinische Probe	0,09	0,10	0,07	0,09
1,00E+02	7,92E+01	Plasmid-DNA	0,08	0,09	0,09	0,08

* Titerdaten werden als log-normalverteilt betrachtet und nach der log₁₀-Transformation analysiert. In den Spalten zur Standardabweichung (SD) sind die log-transformierten Gesamttiter für die drei Reagenzchargen angegeben.

Bestimmung und Verifizierung des Genotyps

Die Leistung des **cobas**® HBV-Tests für die verschiedenen HBV-Genotypen wurde wie folgt evaluiert:

- Bestimmung der Nachweisgrenze für die Genotypen B bis H und die vorherrschende Pre-Core-Mutante mit EDTA-Plasma und Serum für ein Verarbeitungsvolumen von 500 µl
- Verifizierung der Nachweisgrenze für die Genotypen B bis H und die vorherrschende Pre-Core-Mutante mit EDTA-Plasma und Serum für ein Verarbeitungsvolumen von 200 µl
- Verifizierung der Linearität für die Genotypen B bis H und die vorherrschende Pre-Core-Mutante

Nachweisgrenze für die Genotypen B bis H und die vorherrschende Pre-Core-Mutante

Die Nachweisgrenze des **cobas**® HBV-Tests wurde bestimmt, indem für sieben verschiedene Genotypen (B, C, D, E, F, G, H) und die vorherrschende Pre-Core-Mutante (G1896A, C1858T) Verdünnungsreihen in HBV-negativem, humanem EDTA-Plasma und Serum mit einem Probenverarbeitungsvolumen von 500 µl analysiert wurden. Panels mit acht Konzentrationen plus Negativprobe wurden mit drei Chargen von **cobas**® HBV-Testreagenzien an mehreren Tagen mit mehreren Läufen, Anwendern und Geräten getestet.

Die Ergebnisse für EDTA-Plasma und Serum bei einem Probenverarbeitungsvolumen von 500 µl sind in Tabelle 21 und Tabelle 22 dargestellt. Die Untersuchung ergab, dass der **cobas**® HBV-Test alle HBV-Genotypen mit einer ähnlichen Nachweisgrenze wie derjenigen des HBV-Genotyps A nachweist.

Tabelle 21 Nachweisgrenze für HBV-DNA-Genotypen in EDTA-Plasma (500 µl)

Genotyp	LoD von 95 % durch PROBIT-Analyse	95 %-Konfidenzintervall
GT B	3,45 IE/ml	2,95 IE/ml – 4,32 IE/ml
GT C	4,13 IE/ml	3,32 IE/ml – 5,82 IE/ml
GT D	4,52 IE/ml	3,59 IE/ml – 6,49 IE/ml
GT E	3,21 IE/ml	2,76 IE/ml – 3,98 IE/ml
GT F	1,87 IE/ml	1,66 IE/ml – 2,24 IE/ml
GT G	2,49 IE/ml	2,17 IE/ml – 3,02 IE/ml
GT H	6,55 IE/ml	5,33 IE/ml – 8,77 IE/ml
Pre-Core-Mutante	2,38 IE/ml	2,08 IE/ml – 2,90 IE/ml

Tabelle 22 Nachweisgrenze für HBV-DNA-Genotypen in Serum (500 µl)

Genotyp	LoD von 95 % durch PROBIT-Analyse	95 %-Konfidenzintervall
GT B	3,30 IE/ml	2,76 IE/ml – 4,30 IE/ml
GT C	3,34 IE/ml	2,83 IE/ml – 4,23 IE/ml
GT D	2,59 IE/ml	2,17 IE/ml – 3,42 IE/ml
GT E	2,67 IE/ml	2,25 IE/ml – 3,49 IE/ml
GT F	1,98 IE/ml	1,72 IE/ml – 2,45 IE/ml
GT G	2,07 IE/ml	1,75 IE/ml – 2,66 IE/ml
GT H	3,48 IE/ml	2,89 IE/ml – 4,60 IE/ml
Pre-Core-Mutante	1,65 IE/ml	1,43 IE/ml – 2,03 IE/ml

Verifizierung der Nachweisgrenze für die Genotypen B bis H und die vorherrschende Pre-Core-Mutante

Klinische HBV-DNA-Proben aller Genotypen (B, C, D, E, F, G, H) und die vorherrschende Pre-Core-Mutante (G1896A, C1858T) wurden in EDTA-Plasma und Serum auf drei verschiedene Konzentrationen verdünnt. Die Trefferquote wurde mit 63 Replikaten je Konzentration bestimmt. Die Tests wurden mit drei Chargen von cobas® HBV-Reagenzien durchgeführt. Die Ergebnisse für 200 µl EDTA-Plasma und Serum sind in Tabelle 23 und Tabelle 24 dargestellt. Diese Ergebnisse belegen, dass der cobas® HBV-Test HBV-DNA der sieben verschiedenen Genotypen und der vorherrschenden Pre-Core-Mutante in Konzentrationen von 12,50 IE/ml mit einer Trefferquote von $\geq 93,65\%$ nachweist, wobei das obere einseitige 95%-Konfidenzintervall bei 97,80 % liegt.

Tabelle 23 Verifizierung der Nachweisgrenze für HBV-DNA-Genotypen in EDTA-Plasma (200 µl)

Genotyp	6,25 IE/ml			12,50 IE/ml			18,75 IE/ml		
	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in % (95 % KI*)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in % (95 % KI*)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in % (95 % KI*)
B	63	51	80,95 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
C	63	45	71,43 (80,65)	63	62	98,41 (99,92)	62	62	100,00 (100,00)
D	61	49	80,33 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	62	61	98,39 (99,92)
E	63	51	80,95 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
F	63	54	85,71 (92,34)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
G	63	46	73,02 (82,02)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
H	63	33	52,38 (63,26)	63	59	93,65 (97,80)	63	59	93,65 (97,80)
Pre-Core-Mutante	63	54	85,71 (92,34)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)

* Oberes einseitiges 95%-Konfidenzintervall

Tabelle 24 Verifizierung der Nachweisgrenze für HBV-DNA-Genotypen in Serum (200 µl)

Genotyp	6,25 IE/ml			12,50 IE/ml			18,75 IE/ml		
	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in % (95 % KI*)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in % (95 % KI*)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in % (95 % KI*)
B	63	51	80,95 (88,63)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
C	63	54	85,71 (92,34)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
D	63	53	84,13 (91,13)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
E	63	54	85,71 (92,34)	62	62	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
F	63	59	93,65 (97,80)	63	63	100,00 (100,00)	62	62	100,00 (100,00)
G	63	59	93,65 (97,80)	62	62	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
H	63	47	74,60 (83,37)	63	61	96,83 (99,43)	63	62	98,41 (99,92)
Pre-Core-Mutante	63	60	95,24 (98,66)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)

* Oberes einseitiges 95%-Konfidenzintervall

Linearität für die Genotypen B bis H und die vorherrschende Pre-Core-Mutante

Die zur Verifizierung der Genotypenlinearität des **cobas**® HBV-Tests verwendete Verdünnungsreihe umfasste 10 Panelproben, die den vorhergesehenen linearen Bereich abdeckten. Panelproben mit hohem Titer wurden aus einer Plasmid-DNA-Stammlösung mit hohem Titer hergestellt, während Panelproben mit niedrigem Titer aus klinischen Proben mit hohem Titer hergestellt wurden. Das Linearitäts-Panel war auf eine Titerüberlappung von ca. 2 log₁₀ zwischen den beiden Materialquellen ausgelegt. Der lineare Bereich des **cobas**® HBV-Tests reicht von der unteren Quantifizierungsgrenze (10 IE/ml bei einem Probenverarbeitungsvolumen von 500 µl und 25 IE/ml bei einem Probenverarbeitungsvolumen von 200 µl) bis zur oberen Quantifizierungsgrenze (1,00E+09 IE/ml) und umfasst mindestens einen medizinischen Entscheidungspunkt. Es wurden für jede Konzentration 21 Replikate über drei Chargen des **cobas**® HBV-Reagenzes in EDTA-Plasma und Serum getestet.

Die Linearität des **cobas**® HBV-Tests wurde für alle sieben Genotypen (B, C, D, E, F, G, H) und die vorherrschende Pre-Core-Mutante (G1896A, C1858T) über den gesamten linearen Bereich verifiziert. Die maximale Abweichung zwischen der linearen Regression und der nichtlinearen Regression war kleiner oder gleich ±0,2 log₁₀.

Spezifität

Die Spezifität des **cobas**® HBV-Tests wurde durch Analyse von HBV-negativen EDTA-Plasmaproben und Serumproben von Einzelspendern bestimmt. 300 einzelne EDTA-Plasmaproben und 300 einzelne Serumproben (insgesamt 600 Ergebnisse) wurden mit zwei Chargen von **cobas**® HBV-Reagenzien getestet. Alle Proben wurden negativ auf HBV-DNA getestet. Die Spezifität des **cobas**® HBV-Tests betrug im Test-Panel 100 % (mit einem einseitigen 95%-Konfidenzintervall von 99,5 %).

Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität des **cobas**® HBV-Tests wurde durch Verdünnung eines Panels von Mikroorganismen mit HBV-DNA-positivem und HBV-DNA-negativem EDTA-Plasma evaluiert. Die Mikroorganismen wurden negativem EDTA-Humanplasma zugegeben und mit und ohne HBV-DNA getestet. Keines der Nicht-HBV-Pathogene beeinträchtigte die Testleistung. Der **cobas**® HBV-Test lieferte bei allen Mikroorganismenproben ohne HBV-Zielsequenz negative Ergebnisse und bei allen Mikroorganismenproben mit HBV-Zielsequenz positive Ergebnisse. Darüber hinaus lag der mittlere \log_{10} -Titer bei allen HBV-positiven Proben, die potenziell zu Kreuzreaktivität führende Organismen enthielten, innerhalb von $\pm 0,3 \log_{10}$ Abstand zum mittleren \log_{10} -Titer der entsprechenden zugesetzten Positivkontrolle.

Tabelle 25 Zur Bestimmung der Kreuzreaktivität getestete Mikroorganismen

Viren		Bakterien	Hefen
Adenovirus Typ 5	West-Nil-Virus	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalievirus	St.-Louis-Encephalitis-Virus	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Hepatitis-A-Virus	Dengue-Virus Typ 1, 2, 3 und 4	-	-
Hepatitis-C-Virus	FSME-Virus (Stamm HYPR)	-	-
Hepatitis-D-Virus	Gelbfiebervirus	-	-
Humanes Immundefizienz-Virus Typ 1	Humanes Papillomavirus	-	-
Humanes T-Zell-lymphotropes Virus Typ 1 und 2	Varicella-Zoster-Virus	-	-
Humanes Herpesvirus Typ 6	Influenza A	-	-
Herpes-Simplex-Virus Typ 1 und 2	Zika-Virus	-	-

Analytische Spezifität – Störsubstanzen

Es wurden Proben mit erhöhten Werten von Triglyzeriden (34,5 g/l), konjugiertem Bilirubin (0,25 g/l), unkonjugiertem Bilirubin (0,25 g/l), Albumin (58,7 g/l), Hämoglobin (2,9 g/l) und erhöhten Human-DNA-Werten (2 mg/l) mit und ohne HBV-DNA getestet. Die getesteten endogenen potenziellen Störsubstanzen haben nachweislich keinen störenden Einfluss auf die Leistung des cobas® HBV-Tests.

Darüber hinaus wurden Proben mit Autoimmunerkrankungen wie systemischem Lupus erythematosus (SLE), rheumatoider Arthritis (RA) und antinukleären Antikörpern (ANA) getestet.

Zusätzlich wurden die in Tabelle 26 aufgeführten Wirkstoffe in 3facher C_{max} -Konzentration mit und ohne HBV-DNA getestet.

Keine der potenziellen Störsubstanzen führte zu einer Störung der Testleistung. Der cobas® HBV-Test lieferte bei allen Proben ohne HBV-Zielsequenz negative Ergebnisse und bei allen Proben mit HBV-Zielsequenz positive Ergebnisse. Darüber hinaus lag der mittlere \log_{10} -Titer bei allen HBV-positiven Proben, die potenzielle Störsubstanzen enthielten, innerhalb von $\pm 0,5 \log_{10}$ Abstand zum mittleren \log_{10} -Titer der entsprechenden zugesetzten Positivkontrolle.

Tabelle 26 Wirkstoffe, die auf eine mögliche Störung der quantitativen Bestimmung von HBV-DNA mit dem cobas® HBV-Test getestet wurden

Wirkstoffklasse	Freiname	
Immunmodulator	Peginterferon α -2a	Peginterferon α -2b
	Ribavirin	-
HIV-Entry-Inhibitor	Maraviroc	
HIV-Integrase-Inhibitor	Elvitegravir/Cobicistat	Raltegravir
Nicht-Nukleosid-HIV-Reverse-Transkriptase-Inhibitor	Efavirenz	Nevirapin
	Etravirin	Rilpivirin
HIV-Protease-Inhibitor	Atazanavir	Lopinavir
	Tipranavir	Nelfinavir
	Darunavir	Ritonavir
	Fosamprenavir	Saquinavir
HCV-Protease-Inhibitor	Boceprevir	Telaprevir
	Simeprevir	-
Reverse-Transkriptase- und DNA-Polymerase-Inhibitoren	Abacavir	Tenofovir
	Emtricitabin	Adefovir dipivoxil
	Entecavir	Telbivudin
	Foscarnet	Zidovudin
	Cidofovir	Aciclovir
	Lamivudin	Valganciclovir
	Ganciclovir	Sofosbuvir
Substanzen zur Behandlung von opportunistischen Infektionen	Azithromycin	Pyrazinamid
	Clarithromycin	Rifabutin
	Ethambutol	Rifampicin
	Fluconazol	Sulfamethoxazol
	Isoniazid	Trimethoprim

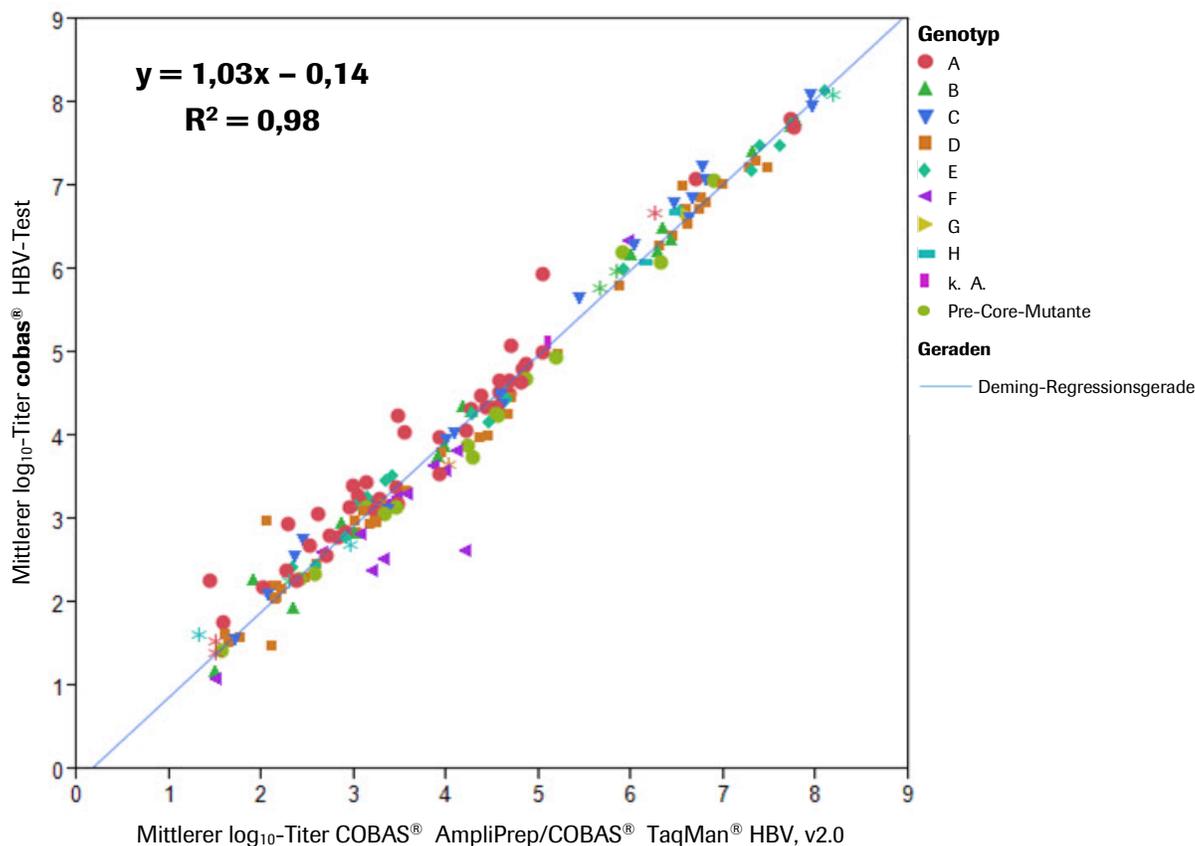
Korrelation der Methoden

Leistungsbewertung des cobas® HBV-Tests im Vergleich zum COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV-Test, v2.0

Zum Vergleich der Leistungsmerkmale des cobas® HBV-Tests und des COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV-Tests, v2.0 (TaqMan® HBV-Test, v2.0) wurden Serum- und EDTA-Plasmaproben von HBV-infizierten Patienten analysiert. Die Ergebnisse von insgesamt 103 EDTA-Plasma- und 85 Serumproben aller HBV-Genotypen (in Doppelbestimmung analysiert) waren gültig und lagen bei beiden Tests innerhalb des Quantifizierungsbereichs. Es wurde eine Deming-Regressionsanalyse durchgeführt. Die mittlere Titerabweichung der mit den beiden Tests getesteten Proben betrug $-0,03 \log_{10}$.

Die Ergebnisse der Deming-Regression sind in Abbildung 8 dargestellt.

Abbildung 8 Regressionsanalyse des cobas® HBV-Tests im Vergleich zum TaqMan® HBV-Test, v2.0; EDTA-Plasma- und Serumproben

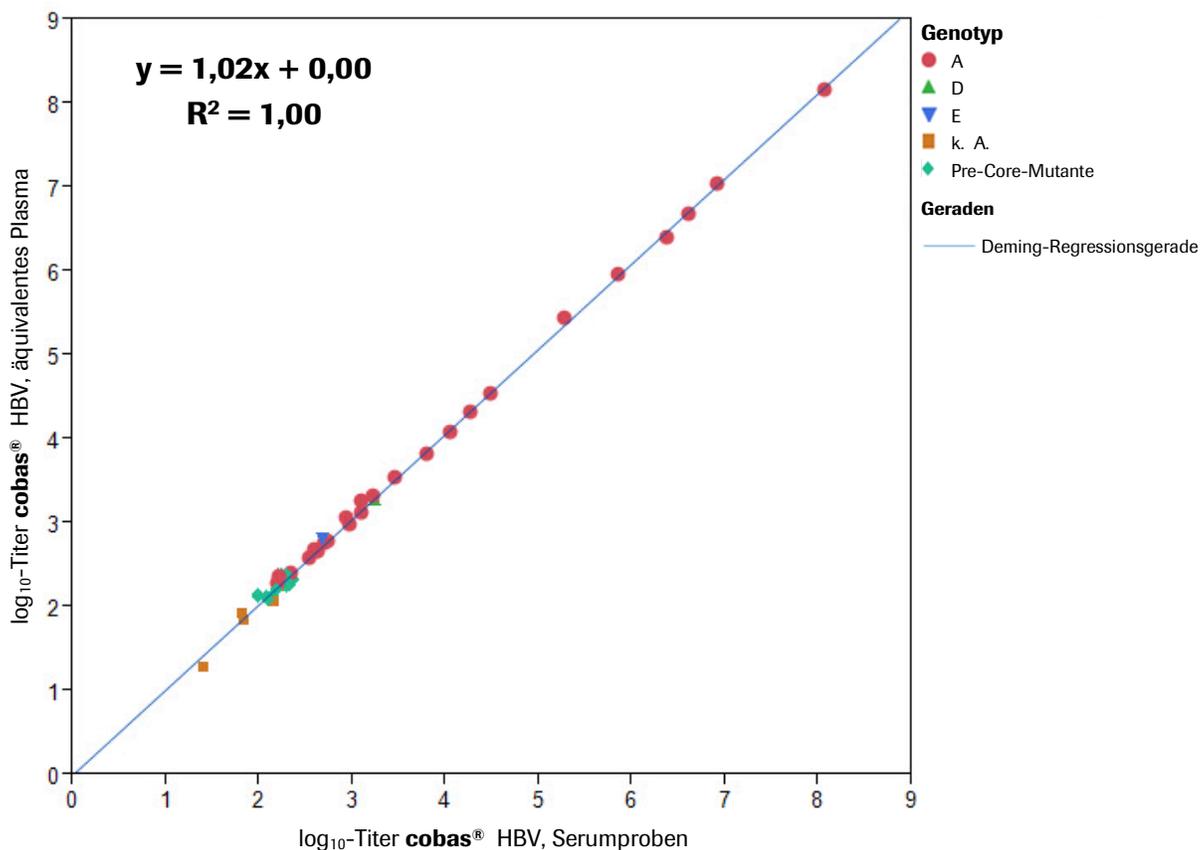


Äquivalenzerhebung: EDTA-Plasma gegen Serum

Es wurden 50 gepaarte EDTA-Plasma- und Serumproben in Bezug auf deren Gleichwertigkeit als Ausgangsmaterial hin untersucht. Die HBV-positiven Proben deckten die meisten Genotypen ab und hatten Titer über den gesamten linearen Bereich.

Die Matrixgleichwertigkeit konnte in den getesteten Proben mit einer mittleren Titerabweichung von 0,05 \log_{10} bestätigt werden (Abbildung 9).

Abbildung 9 Matrixgleichwertigkeit von EDTA-Plasma und Serum



Gesamtsystemausfall

Zur Ermittlung der Gesamtsystemausfall-Rate für den cobas® HBV-Test wurden jeweils 100 Replikate von EDTA-Plasma und Serum getestet, das mit HBV versetzt wurde (insgesamt 200 Replikate). Diese Proben wurden mit einer Zielsequenzkonzentration der ca. 3fachen Nachweisgrenze getestet. Die Studie wurde auf dem cobas® 6800 System durchgeführt.

Die Studie ergab, dass alle Replikate reaktiv auf die einzelnen Zielsequenzen waren, was einer Gesamtsystemausfall-Rate von 0 % entspricht. Das exakte zweiseitige 95%-Konfidenzintervall betrug bei beiden Matrizen 0 % für die Untergrenze und 3,62 % für die Obergrenze [0 %: 3,62 %].

Kreuzkontamination

Zur Ermittlung der Kreuzkontaminationsrate des cobas® HBV-Tests wurden 240 Replikate einer normalen virusnegativen (HIV, HCV und HBV) EDTA-Humanplasmaprobe sowie 225 Replikate einer Probe mit hohem HBV-Titer von $1,0E+09$ IE/ml getestet. Es wurden insgesamt fünf Läufe mit Positiv- und Negativproben in Schachbrettkonfiguration durchgeführt.

Alle 240 Replikate der negativen Probe waren nicht-reaktiv, was einer Kreuzkontaminationsrate von 0 % entspricht. Das exakte zweiseitige 95%-Konfidenzintervall betrug 0 % für die Untergrenze und 1,53 % für die Obergrenze [0 %: 1,53 %].

Klinische Leistungsmerkmale

Untersuchung der Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit und die Charge-zu-Charge-Variabilität des **cobas**® HBV-Tests wurden in EDTA-Plasma mittels Mixed-Model-Analyse auf dem **cobas**® 6800 System evaluiert, um die Gesamtvarianz zu ermitteln.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in den folgenden Tabellen (Tabelle 27 bis Tabelle 30) zusammengefasst.

Charge-zu-Charge-Variabilität

Die Charge-zu-Charge-Variabilität für die Genotypen A und C wurde mit drei Reagenzchargen an einem Standort ermittelt. Zwei Anwender an diesem Standort testeten jede Charge über einen Zeitraum von sechs Tagen. Pro Tag wurden zwei Läufe durchgeführt.

Die zuordenbaren Prozentsätze der Gesamtvarianz, die Standardabweichungen (SD) der Gesamtpräzision und die lognormalen Variationskoeffizienten (VK) sind in Tabelle 27 nach Genotyp und erwarteter \log_{10} HBV-DNA-Konzentration für das **cobas**® 6800 System aufgeführt.

Tabelle 27 Zuordenbarer Prozentsatz der Gesamtvarianz, Standardabweichung der Gesamtpräzision und lognormaler VK (%) der HBV-DNA-Konzentration (\log_{10} IE/ml) nach Genotyp und positiver Panelprobe (Charge-zu-Charge) auf dem **cobas**® 6800 System (Reproduzierbarkeit)

Genotyp	HBV-DNA-Konzentration (\log_{10} IE/ml)		Anz. Tests ^b	Prozentualer Anteil an der Gesamtvarianz (lognormaler VK in %)					Gesamtpräzision	
	Sollwert	Gemessener Mittelwert ^a		Charge	Anwender	Tag	Lauf	Intra-Lauf	SD ^c	Lognormaler VK (%) ^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	HBV-DNA-Konzentration (log ₁₀ IE/ml)		Anz. Tests ^b	Prozentualer Anteil an der Gesamtvarianz (lognormaler VK in %)					Gesamtpräzision	
	Sollwert	Gemessener Mittelwert ^a		Charge	Anwender	Tag	Lauf	Intra-Lauf	SD ^c	Lognormaler VK (%) ^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

Hinweis: Ergebnisse mit nachweisbarer Viruslast sind in dieser Tabelle enthalten; der Testbereich umfasst Ergebnisse von 1,0E+01 IE/ml bis 1,0E+09 IE/ml.

^a Mittels SAS-MIXED-Verfahren berechnet.

^b Anzahl der gültigen Tests mit nachweisbarer Viruslast.

^c Anhand Gesamtvariabilität aus SAS-MIXED-Verfahren berechnet.

^d Lognormaler VK (%) = $\sqrt{\text{sd}^2 \times \ln(10)} - 1 \times 100$.

VK (%) = Variationskoeffizient in %; DNA = Desoxyribonukleinsäure; HBV = Hepatitis-B-Virus; Anz. = Anzahl; SD = Standardabweichung; sqrt = Quadratwurzel.

Wie aus Tabelle 28 ersichtlich, betrug die negative prozentuale Übereinstimmung (NPA, Negative Percent Agreement) für das cobas® 6800 System unter Einbeziehung der Tests der negativen Panelprobe 100 %.

Tabelle 28 Negative prozentuale Übereinstimmung bei negativen Panelproben (Charge-zu-Charge)

Erwartete HBV-DNA-Konzentration	Anz. gültiger Tests	Positive Ergebnisse	Negative Ergebnisse	Negative prozentuale Übereinstimmung ^a	95-%-KI ^b
Negativ	106	0	106	100,00	(96,58, 100,00)

^a NPA = (Anzahl der negativen Ergebnisse ÷ Gesamtanzahl der gültigen Tests für die negative Panelprobe) × 100.

^b Mittels Clopper-Pearson-Methode berechnet (exaktes Konfidenzintervall für die Erfolgswahrscheinlichkeit der Binomialverteilung).

KI = Konfidenzintervall; DNA = Desoxyribonukleinsäure; HBV = Hepatitis-B-Virus; Anz. = Anzahl; NPA = Negative prozentuale Übereinstimmung.

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit für die Genotypen A und C wurde mit einer Reagenzcharge an drei Standorten ermittelt. Zwei Anwender an jedem Standort testeten die Charge über einen Zeitraum von 6 Tagen. Pro Tag wurden zwei Läufe durchgeführt.

Die zuordenbaren Prozentsätze der Gesamtvarianz, die SDs der Gesamtpräzision und die lognormalen VKs sind in Tabelle 29 nach Genotyp und erwarteter \log_{10} HBV-DNA-Konzentration für das cobas® 6800 System aufgeführt.

Tabelle 29 Zuordenbarer Prozentsatz der Gesamtvarianz, Standardabweichung der Gesamtpräzision und lognormaler VK (%) der HBV-DNA-Konzentration (\log_{10} IE/ml) nach Genotyp und positiver Panelprobe (Reproduzierbarkeit)

Genotyp	HBV-DNA-Konzentration (\log_{10} IE/ml)		Anz. Tests ^b	Prozentualer Anteil an der Gesamtvarianz (lognormaler VK in %)					Gesamtpräzision	
	Sollwert	Gemessener Mittelwert ^a		Zentrum, Labor	Anwender	Tag	Lauf	Intra-Lauf	SD ^c	Lognormaler VK (%) ^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

Genotyp	HBV-DNA-Konzentration (log ₁₀ IE/ml)		Anz. Tests ^b	Prozentualer Anteil an der Gesamtvarianz (lognormaler VK in %)					Gesamtpräzision	
	Sollwert	Gemessener Mittelwert ^a		Zentrum, Labor	Anwender	Tag	Lauf	Intra-Lauf	SD ^c	Lognormaler VK (%) ^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

Hinweis: Ergebnisse mit nachweisbarer Viruslast sind in dieser Tabelle enthalten; der Testbereich umfasst Ergebnisse von 1,0E+01 IE/ml bis 1,0E+09 IE/ml.

^a Mittels SAS-MIXED-Verfahren berechnet.

^b Anzahl der gültigen Tests mit nachweisbarer Viruslast.

^c Anhand Gesamtvariabilität aus SAS-MIXED-Verfahren berechnet.

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

VK (%) = Variationskoeffizient in %; HBV = Hepatitis-B-Virus; DNA = Desoxyribonukleinsäure; Anz. = Anzahl; SD = Standardabweichung; sqrt = Quadratwurzel.

Die NPA betrug bei Tests mit negativen Panelproben auf dem **cobas**® 6800 System 100 % (106/106; 95-%-KI: 96,58–100 %) (siehe Tabelle 30).

Tabelle 30 Negative prozentuale Übereinstimmung bei negativen Panelproben (Reproduzierbarkeit) auf dem **cobas**® 6800 System

Erwartete HBV-DNA-Konzentration	Anz. Tests	Positive Ergebnisse	Negative Ergebnisse	Negative prozentuale Übereinstimmung ^a	95-%-KI ^b
Negativ	106	0	106	100,00	(96,58, 100,00)

^a NPA = (Anzahl der negativen Ergebnisse ÷ Gesamtzahl der gültigen Tests in negativer Panelprobe) × 100.

^b Mittels Clopper-Pearson-Methode berechnet (exaktes Konfidenzintervall für die Erfolgswahrscheinlichkeit der Binomialverteilung).

KI = Konfidenzintervall; DNA = Desoxyribonukleinsäure; HBV = Hepatitis-B-Virus; Anz. = Anzahl; NPA = Negative prozentuale Übereinstimmung.

Klinischer Nutzen

Mit der Studie sollte die Fähigkeit des Tests zur Vorhersage des klinischen Verlaufs bewertet werden.

Hierfür wurden Restproben von ca. 300 Studienteilnehmern verwendet, die an einer randomisierten klinisch-pharmazeutischen Studie für eine 100-wöchige Behandlung mit Entecavir plus Tenofovir oder einer Entecavir-Monotherapie teilnahmen. Außerdem wurden Proben von ca. 70 chronisch HBV-infizierten Personen (HBeAg-negativ) getestet, die routinemäßig eine Tenofovir-Monotherapie erhielten (Tabelle 31).

Tabelle 31 Behandlungsgruppen

Klinische Studie	HBeAg-Status	Therapie	Therapiearm
Klinisch-pharmazeutische Studie ²¹	HBeAg-positiv	Entecavir-Monotherapie	Arm I
		Entecavir + Tenofovir	Arm II
	HBeAg-negativ	Entecavir-Monotherapie	Arm III (mit bis zu 17 Personen aus der klinischen Praxis)
		Entecavir + Tenofovir	Arm IV
Klinische Praxis	HBeAg-negativ	Tenofovir-Monotherapie	Arm V

HBeAg = exkretorisches Antigen des Hepatitis-B-Virus.

Die Untersuchungen mit dem **cobas**® HBV-Test wurden an drei Standorten durchgeführt. An jedem Standort war ein **cobas**® 6800 System vorhanden. In der Studie wurden drei Reagenzkit-Chargen verwendet und jede Probe wurde mit einer Kit-Charge getestet. Tabelle 32 enthält die demografischen und Baseline-Eigenschaften der Studienteilnehmer, deren Proben auf dem **cobas**® 6800 System getestet wurden. Da die Studie sowohl HBeAg- positive als auch HBeAg-negative Teilnehmer umfasste, wurden die zugehörigen Daten separat analysiert.

Tabelle 32 Demografische und Baseline-Eigenschaften der Studienteilnehmer

Eigenschaften	Statistik
Gesamt, N	396
Altersgruppe (in Jahren), n (%)	
< 40	186 (47,0 %)
≥40	210 (53,0 %)
Alter (in Jahren)	
Mittelwert ± SD	42 ±15,2
Median	42
Bereich	17–81
Geschlecht, n (%)	
Männlich	276 (69,7 %)
Weiblich	120 (30,3 %)
Population, n (%)	
Asiaten	204 (51,5 %)
Schwarze/Afroamerikaner	14 (3,5 %)
Weißer	169 (42,7 %)
Andere	9 (2,3 %)

Genotyp, n (%)	
A	64 (16,2 %)
A & G	1 (0,3 %)
B	62 (15,7 %)
C	74 (18,7 %)
D	105 (26,5 %)
E	4 (1,0 %)
F	10 (2,5 %)
Gemischt	1 (0,3 %)
Unbekannt	75 (18,9 %)
Normale ALT-Werte bei Baseline, n (%)	
Ja	23 (5,8 %)
Nein	361 (91,2 %)
Unbekannt	12 (3,0 %)
ALT bei Baseline (IE/l)	
Mittelwert ± SD	140 ±169,9
Median	96
Bereich	14–1583
HBV-DNA (log₁₀ IE/ml) bei Baseline	
Mittelwert ± SD	6,6 ±2,38
Median	7,4
Bereich	-0,0–10,1
HBV-DNA-Kategorie, n (%)	
< 2,0 × 10 ³ IE/ml	41 (10,4 %)
2,0 × 10 ³ IE/ml bis 2,0 × 10 ⁴ IE/ml	13 (3,3 %)
> 2,0 × 10 ⁴ IE/ml	330 (83,3 %)
Unbekannt	12 (3,0 %)

ALT = Alanin-Aminotransferase; HBV = Hepatitis-B-Virus; DNA = Desoxyribonukleinsäure; SD = Standardabweichung.

Vorhersage des Ansprechens auf die antivirale Therapie

Definitionen:

- Virologisches Ansprechen nach 12 Wochen = Verringerung der HBV-DNA von 2 log₁₀ gegenüber Baseline
- Virologisches Ansprechen nach 24 Wochen = HBV-DNA < 2000 IE/ml (HBeAg-positiv) oder < 50 IE/ml (HBeAg-negativ)
- Virologisches Ansprechen nach 48 Wochen = HBV-DNA < 2000 IE/ml (HBeAg-positiv) oder < 50 IE/ml (HBeAg-negativ)
- Virologisches Ansprechen nach 96 Wochen = HBV-DNA < 50 IE/ml (Endpunkt für das virologische Ansprechen)
- Endpunkt für das virologische Ansprechen nicht erreicht, wenn HBV-DNA > 50 IE/ml nach 96 Wochen
- Biochemisches Ansprechen = Normalisierung der ALT gegenüber Baseline; Männer: ALT < 30 IE/l; Frauen: ALT < 19 IE/l
- HBeAg-Verlust = HBeAg-Status ändert sich während der Therapie von positiv zu negativ

Vorhersage des virologischen Ansprechens nach 96 Wochen

In dieser Studie wurde die Fähigkeit zur Vorhersage des Therapieergebnisses in Woche 96 (virologisches Ansprechen, biochemisches Ansprechen, HBeAg-Verlust) anhand der HBV-DNA-Konzentration bei Baseline und der Werte zum virologischen Ansprechen in den Behandlungswochen 12, 24 und 48 evaluiert. Das virologische Ansprechen nach 96 Wochen (HBV-DNA < 50 IE/ml) wurde anhand der HBV-DNA-Ergebnisse eines zugelassenen Tests bewertet. Bei Anwendung des **cobas®** HBV-Tests zur Ermittlung der HBV-DNA erwies sich für alle Behandlungsarme der Studie eine HBV-DNA-Konzentration von < 10⁸ IE/ml bei Baseline und ein virologisches Ansprechen in den Wochen 12, 24 und 48 für ein virologisches Ansprechen nach 96 Wochen als hoch prädiktiv (PPV: 79,6–100 %) (Tabelle 33 und Tabelle 34).

Tabelle 33 Wahrscheinlichkeit eines virologischen Ansprechens in Woche 96 bei einer HBV-DNA von < 10⁸ IE/ml bei Baseline nach Therapiearm

Vorstellung während der Behandlung	Therapiearm	Auswertbare Studienteilnehmer	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Ermittelter Wert (95%-KI)	n/N	Ermittelter Wert (95%-KI)	n/N	Ermittelter Wert (95%-KI)
Baseline	Arm I	103	93,5 (82,5, 97,8)	43/46	31,6 (21,0, 44,5)	18/57	6,62 (1,81, 24,20)
	Arm II	102	96,2 (87,0, 98,9)	50/52	4,0 (1,1, 13,5)	2/50	1,04 (0,14, 7,69)
	Arm III	49	100,0 (92,1, 100,0)	45/45	25,0 (4,6, 69,9)	1/4	30,00 (0,83, 1087,42)
	Arm IV	48	97,9 (88,9, 99,6)	46/47	100,0 (20,7, 100,0)	1/1	92,00 (1,81, 4686,43)
	Arm V	30	90,0 (74,4, 96,5)	27/30	NB	0	9,00 (0,15, 541,69)

Anmerkungen: Positiver prädiktiver Wert (PPV) = $RP \div (RP + FP)$ oder die Wahrscheinlichkeit eines virologischen Ansprechens nach 96 Wochen, wenn der Studienteilnehmer bei der Vorstellung ein virologisches Ansprechen zeigte.

Negativer prädiktiver Wert (NPV) = $RN \div (FN + RN)$ oder die Wahrscheinlichkeit keines virologischen Ansprechens nach 96 Wochen, wenn der Studienteilnehmer bei der Vorstellung kein virologisches Ansprechen zeigte.

Quotenverhältnis (OR, Odds Ratio) = $(RP \times RN) \div (FP \times FN)$.

95%-KI für PPV und NPV werden mittels Wilson-Intervall berechnet.

Vor der Berechnung von Quotenverhältnis und 95%-KI wurden die leeren Zellen (RP, RN, FP oder FN = 0) mit 0,5 addiert.

Virologisches Ansprechen nach 96 Wochen = HBV-DNA < 50 IE/ml (Endpunkt für das virologische Ansprechen) mit dem COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV-Test, Version 2.

HBV-DNA-Konzentration bei Baseline < 1E8 IE/ml, ermittelt mit dem **cobas®** 6800 System.

Arm I: Entecavir-Monotherapie (HBeAg-positiv).

Arm II: Entecavir + Tenofovir (HBeAg-positiv).

Arm III: Entecavir-Monotherapie (HBeAg-negativ).

Arm IV: Entecavir + Tenofovir (HBeAg-negativ).

Arm V: Tenofovir-Monotherapie (HBeAg-negativ).

KI = Konfidenzintervall; DNA = Desoxyribonukleinsäure; FN = falsch-negativ; FP = falsch-positiv; HBeAg = exkretorisches Antigen des Hepatitis-B-Virus; HBV = Hepatitis-B-Virus; NB = nicht bestimmbar (da es zu diesem Zeitpunkt keine Studienteilnehmer ohne virologisches Ansprechen gab);

RN = richtig-negativ; RP = richtig-positiv.

Tabelle 34 Wahrscheinlichkeit eines virologischen Ansprechens nach 96 Wochen, wenn bei einer bestimmten Vorstellung während der Behandlung bereits ein virologisches Ansprechen vorlag; nach Therapiearm

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

Anmerkungen: Positiver prädiktiver Wert (PPV) = $RP \div (RP + FP)$ oder die Wahrscheinlichkeit eines virologischen Ansprechens nach 96 Wochen, wenn der Studienteilnehmer bei der Vorstellung ein virologisches Ansprechen zeigte.

Negativer prädiktiver Wert (NPV) = $RN \div (FN + RN)$ oder die Wahrscheinlichkeit keines virologischen Ansprechens nach 96 Wochen, wenn der Studienteilnehmer bei der Vorstellung kein virologisches Ansprechen zeigte.

Quotenverhältnis (OR, Odds Ratio) = $(RP \times RN) \div (FP \times FN)$.

95%-KI für PPV und NPV werden mittels Wilson-Intervall berechnet.

Vor der Berechnung von Quotenverhältnis und 95%-KI wurden die leeren Zellen (RP, RN, FP oder FN = 0) mit 0,5 addiert.

Ein virologisches Ansprechen nach 96 Wochen gilt als erreicht, wenn in Woche 96 mit dem COBAS® TaqMan® HBV-Test zur Verwendung mit dem High Pure System eine HBV-DNA-Konzentration des Studienteilnehmers von < 50 IE/ml ermittelt wird.

Virologisches Ansprechen nach 12 Wochen = Verringerung der HBV-DNA von > 2 log₁₀ gegenüber Baseline; Virologisches Ansprechen nach 24 Wochen = HBV-DNA < 2000 IE/ml (HBeAg-positiv) oder < 50 IE/ml (HBeAg-negativ); Virologisches Ansprechen nach 48 Wochen = HBV-DNA < 2000 IE/ml (HBeAg-positiv) oder < 50 IE/ml (HBeAg-negativ).

Arm I: Entecavir-Monotherapie (HBeAg-positiv).

Arm II: Entecavir + Tenofovir (HBeAg-positiv).

Arm III: Entecavir-Monotherapie (HBeAg-negativ).

Arm IV: Entecavir + Tenofovir (HBeAg-negativ).

Arm V: Tenofovir-Monotherapie (HBeAg-negativ).

KI = Konfidenzintervall; DNA = Desoxyribonukleinsäure; FN = falsch-negativ; FP = falsch-positiv; HBeAg = exkretorisches Antigen des Hepatitis-B-Virus; HBV = Hepatitis-B-Virus; NB = nicht bestimmbar (da es zu diesem Zeitpunkt keine Studienteilnehmer ohne virologisches Ansprechen gab); RN = richtig-negativ; RP = richtig-positiv.

Vorhersage des biochemischen Ansprechens nach 96 Wochen

Die Wahrscheinlichkeit eines biochemischen Ansprechens in Woche 96, wenn in Woche 12, 24 oder 48 ein virologisches Ansprechen vorlag, ist Tabelle 35 zu entnehmen.

Der Wert des virologischen Ansprechens in Woche 12, 24 oder 48 als Prädiktor für ein biochemisches Ansprechen in Woche 96 hängt von der Woche des virologischen Ansprechens und vom Therapiearm ab.

Tabelle 35 Wahrscheinlichkeit eines biochemischen Ansprechens nach 96 Wochen, wenn bei einer bestimmten Vorstellung während der Behandlung bereits ein virologisches Ansprechen vorlag; nach Therapiearm

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

Anmerkungen: Positiver prädiktiver Wert (PPV) = $RP \div (RP + FP)$ oder die Wahrscheinlichkeit eines biochemischen Ansprechens nach 96 Wochen, wenn der Studienteilnehmer bei der Vorstellung ein virologisches Ansprechen zeigte.

Negativer prädiktiver Wert (NPV) = $RN \div (FN + RN)$ oder die Wahrscheinlichkeit keines biochemischen Ansprechens nach 96 Wochen, wenn der Studienteilnehmer bei der Vorstellung kein virologisches Ansprechen zeigte.

Quotenverhältnis (OR, Odds Ratio) = $(RP \times RN) \div (FP \times FN)$.

95%-KI für PPV und NPV werden mittels Wilson-Intervall berechnet.

Vor der Berechnung von Quotenverhältnis und 95%-KI wurden die leeren Zellen (RP, RN, FP oder FN = 0) mit 0,5 addiert.

Arm I: Entecavir-Monotherapie (HBeAg-positiv).

Arm II: Entecavir + Tenofovir (HBeAg-positiv).

Arm III: Entecavir-Monotherapie (HBeAg-negativ).

Arm IV: Entecavir + Tenofovir (HBeAg-negativ).

Arm V: Tenofovir-Monotherapie (HBeAg-negativ).

Biochemisches Ansprechen ist die Normalisierung der ALT in Woche 96 gegenüber Baseline (Männer: ALT < 30 IE/l; Frauen: ALT < 19 IE/l) bei Studienteilnehmern mit erhöhter ALT bei Baseline.

Virologisches Ansprechen nach 12 Wochen = Verringerung der HBV-DNA von > 2 log₁₀ gegenüber Baseline. Virologisches Ansprechen nach 24 Wochen = HBV-DNA < 2000 IE/ml (HBeAg-positiv) oder < 50 IE/ml (HBeAg-negativ). Virologisches Ansprechen nach 48 Wochen = HBV-DNA < 2000 IE/ml (HBeAg-positiv) oder < 50 IE/ml (HBeAg-negativ).

ALT = Alanin-Aminotransferase; KI = Konfidenzintervall; DNA = Desoxyribonukleinsäure; FN = falsch-negativ; FP = falsch-positiv; HBeAg = exkretorisches Antigen des Hepatitis-B-Virus; HBV = Hepatitis-B-Virus; NB = nicht bestimmbar (da es zu diesem Zeitpunkt keine Studienteilnehmer ohne virologisches Ansprechen gab); RN = richtig-negativ; RP = richtig-positiv.

Vorhersage eines HBeAg-Verlusts

Der HBeAg-Verlust konnte nur bei Studienteilnehmern evaluiert werden, die bei Baseline HBeAg-positiv waren.

Die Abwesenheit eines virologischen Ansprechens in Woche 24 war hochgradig prädiktiv für die Persistenz von HBeAg (NPV \geq 80,0 % für Arm I und II). Auch die Abwesenheit eines virologischen Ansprechens in Woche 48 war für die HBeAg-Persistenz in Arm I prädiktiv (NPV = 100 %) (Tabelle 36). Da alle Studienteilnehmer unter dem Kombinationschema (Arm II) bis Woche 48 ein virologisches Ansprechen aufwiesen, konnte zu diesem Zeitpunkt kein NPV für diese Gruppe berechnet werden.

Tabelle 36 Wahrscheinlichkeit eines HBeAg-Verlusts nach 96 Wochen, wenn bei einer bestimmten Vorstellung während der Behandlung bereits ein virologisches Ansprechen vorlag; nach Therapiearm

Vorstellung während der Behandlung	Therapiearm	Geeignete Studienteilnehmer	PPV (%)		NPV (%)		OR
			Ermittelter Wert (95%-KI)	n/N	Ermittelter Wert (95%-KI)	n/N	Ermittelter Wert (95%-KI)
Woche 12	Arm I	102	46,1 (36,7, 55,7)	47 / 102	NB	0	0,85 (0,02, 43,91)
	Arm II	101	41,6 (32,5, 51,3)	42 / 101	NB	0	0,71 (0,01, 36,60)
Woche 24	Arm I	103	52,6 (41,6, 63,3)	41 / 78	80,0 (60,9, 91,1)	20 / 25	4,43 (1,51, 13,00)
	Arm II	104	44,1 (34,4, 54,2)	41 / 93	81,8 (52,3, 94,9)	9 / 11	3,55 (0,73, 17,33)
Woche 48	Arm I	101	51,1 (41,0, 61,2)	46 / 90	100,0 (74,1, 100,0)	11 / 11	23,00 (1,31, 403,28)
	Arm II	98	40,8 (31,6, 50,7)	40 / 98	NB	0	0,69 (0,01, 35,48)

Hinweis: Positiver prädiktiver Wert (PPV) = $RP \div (RP + FP)$ oder die Wahrscheinlichkeit eines HBeAg-Verlusts nach 96 Wochen, wenn der Studienteilnehmer bei der Vorstellung ein virologisches Ansprechen zeigte.

Negativer prädiktiver Wert (NPV) = $RN \div (FN + RN)$ oder die Wahrscheinlichkeit keines HBeAg-Verlusts nach 96 Wochen, wenn der Studienteilnehmer bei der Vorstellung kein virologisches Ansprechen zeigte.

Quotenverhältnis (OR, Odds Ratio) = $(RP \times RN) \div (FP \times FN)$.

95%-KI für PPV und NPV werden mittels Wilson-Intervall berechnet.

Vor der Berechnung von Quotenverhältnis und 95%-KI wurden die leeren Zellen (RP, RN, FP oder FN = 0) mit 0,5 addiert.

Arm I: Entecavir-Monotherapie (HBeAg-positiv).

Arm II: Entecavir + Tenofovir (HBeAg-positiv).

HBeAg-Verlust heißt, dass es während der Therapie zu einem Verlust von HBeAg kommt.

Virologisches Ansprechen nach 12 Wochen = Verringerung der HBV-DNA von $> 2 \log_{10}$ gegenüber Baseline; Virologisches Ansprechen nach 24 Wochen = HBV-DNA < 2000 IE/ml (HBeAg-positiv); Virologisches Ansprechen nach 48 Wochen = HBV-DNA < 2000 IE/ml (HBeAg-positiv).

KI = Konfidenzintervall; DNA = Desoxyribonukleinsäure; FN = falsch-negativ; FP = falsch-positiv; HBeAg = exkretorisches Antigen des Hepatitis-B-Virus; HBV = Hepatitis-B-Virus; NB = nicht bestimmbar (da es zu diesem Zeitpunkt keine Studienteilnehmer ohne virologisches Ansprechen gab);

RN = richtig-negativ; RP = richtig-positiv.

Die Ergebnisse zeigen, dass der **cobas®** HBV-Test bei Personen mit chronischer HBV-Infektion sowohl zu Beginn als auch während einer antiviralen Therapie für die Überwachung der Viruslast von Nutzen ist. In der Studie konnte gezeigt werden, dass die Ermittlung der HBV-DNA-Konzentration bei Therapiebeginn (Baseline), eine Abnahme der HBV-DNA-Konzentration in Woche 12 oder HBV-DNA-Konzentrationen unterhalb bestimmter Grenzwerte in Woche 24 oder 48 der Behandlung Aufschluss über das Ansprechen auf die Therapie geben. Im Rahmen der Studie konnten Studienteilnehmer identifiziert werden, die in Woche 96 ein virologisches Ansprechen, ein biochemisches Ansprechen oder einen HBeAg-Verlust aufwiesen.

Schlussfolgerung

Mit dem cobas® HBV-Test kann die HBV-DNA-Konzentration quantitativ bestimmt werden, um das Ansprechen auf eine antivirale Therapie zu überwachen und vorherzusagen. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen den klinischen Nutzen des Tests für die Bestimmung eines frühen Ansprechens auf die Therapie bei der Behandlung von Patienten mit chronischer HBV-Infektion.

Systemäquivalenz und -vergleich

Die Systemäquivalenz der cobas® 5800, cobas® 6800 und cobas® 8800 Systems wurde anhand von Leistungsstudien belegt. Die in der Gebrauchsanweisung aufgeführten Ergebnisse zeigen, dass die Leistungsmerkmale für alle Systeme gleich sind.

Weitere Informationen

Wichtigste Leistungsmerkmale des Tests

Probenmaterial	EDTA-Plasma, Serum		
Erforderliche Probenmindestmenge	650 µl oder 350 µl		
Probenverarbeitungsvolumen	500 µl oder 200 µl		
Analytische Sensitivität		<u>500 µl</u>	<u>200 µl</u>
	EDTA-Plasma	2,7 IE/ml	15,5 IE/ml
	Serum	2,4 IE/ml	12,5 IE/ml
Linearer Bereich	500 µl: 10 IE/ml bis 1,0E+09 IE/ml		
	200 µl: 25 IE/ml bis 1,0E+09 IE/ml		
Spezifität	100 % (einseitiges 95-%-Konfidenzintervall: 99,5 %)		
Nachweisbare Genotypen	HBV-Genotypen A-H und vorherrschende Pre-Core-Mutante		

Symbole

Die folgenden Symbole werden bei der Kennzeichnung von Roche PCR-Diagnostikprodukten verwendet.

Tabelle 37 Symbole zur Kennzeichnung von Roche PCR-Diagnostikprodukten

 Alter oder Geburtsdatum	 Gerät nicht für eine patientennahe Testung geeignet	 Quantifizierungsstandard zur Berechnung der Ergebnisse, in Internationalen Einheiten pro PCR-Reaktion
 Zusatz-Software	 Gerät nicht für Selbsttests geeignet	 Seriennummer
 Sollbereich (Kopien/mL)	 Vertrieb <i>(Hinweis: ggf. Angabe von Land/Region unter dem Symbol)</i>	 Zentrum, Labor
 Sollbereich (IE/mL)	 Nicht wiederverwenden	 Standardverfahren
 Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft	 Frauen, weiblich	 Mit Ethylenoxid sterilisiert
 Barcode-Datenblatt	 Nur zur Beurteilung der IVD-Leistung	 Im Dunkeln lagern
 Chargenbezeichnung	 Globale Artikelnummer GTIN	 Temperaturbegrenzung
 Biogefährdung	 Import	 Datei mit Testdefinitionen
 Bestellnummer	 <i>In-vitro</i> -Diagnostikum	 Diese Seite oben
 CE-Kennzeichnung für Konformität; dieses Produkt entspricht den geltenden Vorschriften für die CE-Kennzeichnung für <i>In-vitro</i> -Diagnostika.	 Unterer Grenzwert des Sollbereichs	 Ultrasensitives Verfahren
 Entnahmedatum	 Männer, männlich	 Eindeutige Geräteerkennung
 Gebrauchsanweisung beachten	 Hersteller	 Oberer Grenzwert des Sollbereichs
 Ausreichend für $<n>$ Tests	 Negativkontrolle	 Fülllinie für Urin
 Inhalt der Packung	 Nicht steril	 Nur für die USA: In den USA darf dieser Test nach den gesetzlichen Vorschriften nur durch einen Arzt oder auf ärztliche Verschreibung abgegeben werden.
 Kontrolle	 Patientennamen	 Verwendbar bis
 Herstellungsdatum	 Patienten-ID	
 Gerät für eine patientennahe Testung	 Hier abziehen	
 Gerät für Selbsttests	 Positivkontrolle	
	 Quantifizierungsstandard zur Berechnung der Ergebnisse, in Kopien pro PCR-Reaktion	

Technischer Support

Für technischen Support wenden Sie sich bitte an Ihre Roche-Vertretung vor Ort:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Herstellung und Import

Tabelle 38 Herstellung und Import



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

Hergestellt in den USA



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 68305 Mannheim, Germany

Marken und Patente

Dieses Produkt ist durch ein oder mehrere der US-Patente 8962293, 9102924, 8609340, 9234250, 8097717, 8192958, 10059993, 10358675, 8129118 und 6727067 und deren jeweilige internationale Entsprechungen geschützt.

COBAS, COBAS OMNI, AMPERASE, AMPLIPREP und TAQMAN sind Marken von Roche.

Die Marke „Armored RNA“ ist Eigentum von Asuragen, Inc. und Cenetron Diagnostics, Ltd.

ProClin® ist eine eingetragene Marke der Rohm and Haas Company.

Vacutainer® ist eine eingetragene Marke der Becton Dickinson & Company.

Alle anderen Produktnamen und Marken sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

Die beim AmpErase®-Enzym eingesetzte Technologie zur Vermeidung einer Verschleppung wird durch das US-Patent Nr. 7,687,247 geschützt, dessen Inhaber Life Technologies ist und das an Roche Molecular Systems, Inc. lizenziert wurde.

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

Copyright

©2021 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Str. 116
 68305 Mannheim
 Germany



Literatur

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.

Dokumentversion

Dokumentversionsübersicht	
Doc Rev. 1.0 12/2020	Erstveröffentlichung.
Doc Rev. 2.0 09/2021	<p>Es wurden Informationen zum cobas® 5800 System hinzugefügt.</p> <p>Die Adresse des Importeurs wurde hinzugefügt.</p> <p>Die Vertriebsadressen wurden entfernt.</p> <p>Die Symbolbezeichnungen auf der Symbolseite wurden im Zuge der Harmonisierung aktualisiert.</p> <p>Bei Fragen wenden Sie sich bitte an Ihre Roche-Vertretung vor Ort.</p>