

cobas[®] HBV

Kvantitativ nukleinsyretest til brug på cobas[®] 4800-systemet

Til *in vitro*-diagnostik brug

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

Indholdsfortegnelse

Tilsigtet brug

Oversigt og forklaring af testen

Baggrund	4
Begrundelse for HBV-test	4
Forklaring af testen	5
Principper for proceduren	5

Materialer og reagenser

Reagenser.....	6
Krav til opbevaring og håndtering af reagenser	11
Yderligere nødvendige materialer.....	11
Nødvendige, men ikke medfølgende instrumenter og software.....	12
Understøttede prøverør.....	12

Krav til forholdsregler og håndtering

Advarsler og forholdsregler	13
God laboratoriepraksis	13
Håndtering af reagenser	14
Kontaminering.....	14
Integritet	14
Bortskaffelse	14
Spildt materiale og rengøring	15
Indsamling, transport og opbevaring af prøver	15
Indsamling af prøver.....	15
Transport, opbevaring og holdbarhed af prøver.....	15

Brugsanvisning

Kørsel af testen.....	16
Prøvebehandlingsvolumen	16
Kørselsstørrelse.....	16
Arbejdsgang	17

Resultater

Kvalitetskontrol og validitet af resultater.....	19
Fortolkning af kontrolresultater.....	19
Fortolkning af resultater.....	20
Liste over resultatflag.....	21
Begrænsninger ved procedurerne.....	22

Vurdering af ikke-klinisk performance

Vigtige egenskaber for performance.....	23
Detektionsgrænse (LoD)	23
WHO International Standard.....	23
Lineært interval	25
Præcision – i laboratoriet	27
Bekræftelse af genotype	29
Analytisk specificitet	30
Analytisk specificitet – interfererende stoffer	30
Matrix-ækvivalens – EDTA-plasma ift. serum	32
Systemfejlfrekvens	32
Krydskontaminering.....	32

Evaluering af klinisk performance

Specificitet	33
--------------------	----

Yderligere oplysninger

Vigtige analysefunktioner	34
Symboler	35
Teknisk support.....	36
Producent	36
Varemærker og patenter	36
Copyright.....	36
Referencer.....	37
Dokumentrevision	39

Tilsigtet brug

cobas® HBV:

cobas® HBV er en *in vitro*-nukleinsyreamplifikationstest til kvantificering af hepatitis B-virus (HBV) DNA i humant EDTA-plasma eller serum fra HBV-inficerede personer ved hjælp af det automatiske **cobas® 4800**-system til prøvebehandling, amplifikation og detektion.

Denne test er beregnet som hjælp i behandlingen af patienter med kronisk HBV-infektion, der modtager anti-viral behandling. Testen kan bruges til at måle HBV DNA-niveauer ved baseline og i løbet af behandlingen som en hjælp til vurderingen af resultatet af behandlingen. Resultaterne fra **cobas® HBV** skal fortolkes på baggrund af alle relevante kliniske og laboratoriemæssige fund.

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit:

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit er beregnet til at blive brugt som en positiv og negativ kontrol til kørsler på **cobas® 4800**-systemet med **cobas® HBV**-, **cobas® HCV**- og **cobas® HIV-1**-test.

Oversigt og forklaring af testen

Baggrund

Hepatitis B-virus (HBV) er et af flere vira, der er årsag til viral hepatitis. Mere end to milliarder mennesker i verden har været eksponeret for HBV, og mere end 350 millioner af disse er kroniske smittebærere.¹ HBV er en væsentlig årsag til leversygdom i USA på trods af færre tilfælde af akut infektion pga. sikkerhedsforanstaltninger ved vaccination og generel brug af nåle.² Den samlede forekomst af HBV-infektion i USA har været vurderet til at være 0,3 % til 0,5 %, hvor 47 % til 70 % af tilfældene var blandt personer, der var født uden for USA.² Måltrettede screeningsprogrammer har dog vist prævalensrater på over 15 % blandt bestemte indvandrerpopulationer med høj risiko.³ Patienter med kronisk HBV-infektion har høj risiko for langsigtede komplikationer ved infektion, herunder kronisk hepatitis, cirrhose og hepatocellulært karcinom.⁴⁻⁷ Der anvendes normalt serologiske markører som diagnostiske og/eller prognostiske indikatorer for akut eller kronisk HBV-infektion.⁸ De amerikanske Centers for Disease Control and Prevention udvidede sine anbefalinger, hvad angår rutinemæssige screeninger af personer med høj risiko, til nu også at omfatte screening blandt populationer, hvor forekomsten af HBV-overfladeantigenet (HBsAg) er større end 2 %, herunder personer fra endemiske områder i verden (som f.eks. Asien og Afrika), blandt mænd som dyrker sex med mænd samt blandt stiknarkomaner.²

Den mest almindelige markør for HBV-infektion er tilstedeværelsen af HBsAg.⁸ Selvom bærere kan klare HBsAg og udvikle antistoffer mod HBsAg, er der fortsat en risiko for alvorlige leverkomplikationer senere i livet.^{9,10} HBe-antigen (HBeAg) bruges normalt som en sekundær markør til at påvise aktiv HBV-replikation, der er forbundet med progressiv leversygdom. Hvis HBeAg ikke clearer, synes risikoen for at få en kronisk leversygdom at øges.^{9,10} Stammevarianter af HBV-præ-core-mutanter kan miste evnen til at producere HBeAg selv ved tilstedeværelsen af en aktiv infektion, hvilket begrænser brugen af denne markør til at overvåge sygdomsprogression.⁷

Begrundelse for HBV-test

HBV DNA i EDTA-plasma og serum kan kvantificeres med nukleinsyreamplifikationsteknologier, f.eks. PCR.¹¹⁻¹⁴ Flere centrale retningslinjer anbefaler brugen af real-time PCR-metoden til HBV DNA-kvantificering primært på grund af en øget sensitivitet og et bredere lineært område.^{15,16}

Forklaring af testen

cobas® HBV er en kvantitativ nukleinsyretest, der udføres på **cobas® 4800**-systemet. **cobas® HBV** giver mulighed for detektion og kvantificering af HBV DNA i EDTA-plasma eller serum fra inficerede patienter. Prober bruges til at detektere og kvantificere men ikke til at differentiere mellem HBV-genotyperne A, B, C, D, E, F, G og H samt den mest udbredte præ-core-mutant. Den virale belastning kvantificeres mod en lambda-fag-DNA-kvantificeringsstandard (DNA QS), som tilsættes i hver prøve under prøveforberedelsen. DNA QS fungerer også som en intern kontrol til at overvåge hele prøveforberedelsen og PCR-amplifikationsprocessen. Derudover bruger testen tre eksterne kontroller: en høj titer-positiv, en lav titer-positiv og en negativ kontrol. De høje og lave positive eksterne kontroller fremstilles med fortynding af stammemateriale med en titer, der er sporbar til 2. internationale WHO-standard for HBV. Hver kalibrering af amplifikations-/detektionskitlot er sporbar til 2. internationale WHO-standard for HBV (NIBSC-kode 97/750).

Principper for proceduren

cobas® HBV er baseret på en fuldt automatiseret prøveforberedelse (ekstrahering af nukleinsyrer og oprensning) efterfulgt af PCR-amplifikation og detektion. **cobas® 4800**-systemet består af **cobas® x 480**-instrumentet og **cobas® z 480**-analyse-instrumentet. Automatiseret dataadministration udføres ved hjælp af **cobas® 4800**-softwaren, som tilknytter testresultater til alle test som "Target Not Detected" (Target er ikke påvist), < LLoQ (lav kvantificeringsgrænse), > ULoQ (øvre grænse for kvantificering) eller "HBV DNA detected" (HBV DNA påvist), en værdi i det lineære interval $LLoQ \leq x \leq ULoQ$. Resultaterne kan gennemses direkte på skærmen, eksporteres eller udskrives i en rapport.

Nukleinsyrer fra patientprøver, eksterne kontroller og tilføjede lambda-fag-DNA QS-molekyler ekstraheres samtidigt. De virale nukleinsyrer frigives derefter ved tilsætning af proteinase and lysisreagens i prøven. De frigivne nukleinsyrer binder sig til siliciumoverfladen på de tilsatte magnetiske glaspartikler. Ubundne stoffer og urenheder, som f.eks. denaturerede proteiner, cellepartikler og potentielle PCR-hæmmere, fjernes med efterfølgende vaskebuffertrin, og oprensede nukleinsyrer elueres fra de magnetiske glaspartikler med elueringsbuffer ved forhøjet temperatur.

Selektiv amplifikation af target-nukleinsyren fra patientprøven opnås ved brug af target-virusspecifikke forward og reverse primere, som er udvalgt blandt de bedst konserverede præ-core- og core-regioner i HBV. Selektiv amplifikation af DNA QS opnås ved brug af sekvensspecifikke forward og reverse primere, som vælges for ikke at have nogen homologi med HBV-genomet. Der anvendes en termostabil DNA-polymerase til PCR-amplifikation. Master Mix'et indeholder deoxyuridintrifosfat (dUTP) i stedet for deoxythymidin-trifosfat (dTTP), som indarbejdes i det nyligt syntetiserede DNA (amplikon).^{14, 17, 18} Alle kontaminerende amplikoner fra tidligere PCR-kørsler inaktiveres som PCR-template via AmpErase, der er til stede i Master Mix'et, forud for det første denatureringstrin i PCR. AmpErase katalyserer fjernelsen af uracil fra DNA, men har ikke nogen aktivitet mht. naturligt forekommende DNA, som ikke indeholder uracil. Amplikon dannet under efterfølgende cyklusser af PCR inaktiveres ikke, da AmpErase er inaktiv ved bindings- og denatureringstemperaturerne for PCR.

cobas® HBV master mix'et indeholder detektionsprober, som er specifikke for henholdsvis HBV-targetsekvenser og QS-nukleinsyre. De specifikke HBV- og DNA-QS-detektionsprober markeres hver især med én af to entydige fluorescensfarver, der fungerer som et rapportfarvestof. Hver probe har også en sekundær farve, der fungerer som et quencherfarvestof. De to rapportfarvestoffer måles ved definerede bølgelængder og giver således mulighed for samtidig detektion og diskrimination af det amplificerede HBV-target og DNA-QS.^{12,13} Når det ikke er bundet til targetsekvensen, undertrykkes fluorescenssignalet i den intakte probe af quencherfarvestoffet. Under PCR-amplifikationstrinnet medfører hybridiseringen af proberne til den specifikke enkeltstrandede DNA-template en spaltning af proben vha. 5' til 3'-exonukleaseaktiviteten i DNA-polymerasen, hvilket resulterer i separation af rapport- og quencherfarvestofferne samt generering af et fluorescenssignal. For hver PCR-cyklus genereres øgede mængder af spaltede prober, og det samlede signal fra rapportfarvestoffet forøges tilsvarende.

Da de to specifikke rapportfarvestoffer måles ved definerede bølgelængder, er samtidig detektion og diskrimination af det amplificerede HBV-target og DNA-QS mulig.

07702361001-09DA

Doc. Rev. 9.0

Materialer og reagenser

Reagenser

Alle uåbne reagenser og kontroller skal opbevares som anbefalet i tabellen **Krav til opbevaring og håndtering af reagenser.**

Kit	Indholdsstoffer i komponenter og reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel ^a
cobas® HBV 120 test (P/N: 06979564190)	MMX R1 (cobas® Master Mix-reagens 1) Manganacetat, kaliumhydroxid, < 0,1 % natriumazid	10 × 1,75 ml	I/R
	HBV MMX R2 (cobas® HBV Master Mix-reagens 2) Tricinbuffer, kaliumacetat, 18 % dimethylsulfoxid, glycerol, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01 % upstream- og downstream-HBV-primere, < 0,01 % kvantificeringsstandard forward og reverse primere, < 0,01 % fluorescensmærkede oligonukleotide prober, der er specifikke for HBV og kvantificeringsstandarden, < 0,01 % oligonukleotid aptamer, < 0,01 % Z05D DNA- polymerase (mikrobiel), < 0,01 % AmpErase-enzym (uracil-N- glycosylase) (mikrobielt), < 0,1 % natriumazid	10 × 0,5 ml	I/R
	DNA QS cobas® HBV DNA-kvantificeringsstandard Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % ikke-HBV-konstruktion, der indeholder ikke-HBV-primerbinding og et unikt probeområde (ikke-smitsomt DNA), 0,002 % Poly rA RNA (syntetisk), < 0,1 % natriumazid	10 × 1,75 ml	I/R

Kit	Indholdsstoffer i komponenter og reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel ^a
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit 10 sæt (P/N: 06979572190)	HBV/HCV/HIV-1 L(+)C cobas® HBV/HCV/HIV-1 lav positiv kontrol < 0,001 % syntetisk (armored) HIV-1 gruppe M RNA, indkapslet i MS2-bakteriofag proteinkappe, < 0,001 % syntetisk (plasmid) HBV DNA indkapslet i Lambda-bakteriofag proteinkappe, < 0,001 % syntetisk (armored) HCV RNA indkapslet i MS2-bakteriofag proteinkappe, normalt humant plasma, ikke-reaktivt med godkendte test til antistoffer mod HIV-1/2, antistoffer mod HCV, HBsAg, antistoffer mod HBc; HIV-1 RNA, HIV-2 RNA, HCV RNA og HBV DNA kan ikke detekteres ved hjælp af PCR-metoder 0,1 % ProClin® 300, konserveringsmiddel ^b	10 × 0,75 ml	  ADVARSEL H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. P261: Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. P272: Tilsmudset arbejdstøj bør ikke fjernes fra arbejdspladsen. P280: Brug beskyttelseshandsker. P333 + P313: Ved hudirritation eller udslet: Søg lægehjælp. P362 + P364: Forurenede tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. P501: Indholdet/beholderen bortskaffes til et godkendt affaldsmottagelsesanlæg. 55965-84-9 Reaktionsmasse på: 5-chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-on [EF-nr. 247-500-7] og 2-methyl-2H-isothiazol-3-on [EF-nr. 220-239-6] (3:1).
	HBV/HCV/HIV-1 H(+)C (cobas® HBV/HCV/HIV-1 høj positiv kontrol) < 0,001 % syntetisk (armored) HIV-1 gruppe M RNA, indkapslet i MS2-bakteriofag proteinkappe, < 0,001 % syntetisk (plasmid) HBV DNA indkapslet i Lambda-bakteriofag proteinkappe, < 0,001 % syntetisk (armored) HCV RNA indkapslet i MS2-bakteriofag proteinkappe, normalt humant plasma, ikke-reaktivt med godkendte test til antistoffer mod HIV-1/2, antistoffer mod HCV, HBsAg, antistoffer mod HBc; HIV-1 RNA, HIV-2 RNA, HCV RNA og HBV DNA kan ikke detekteres ved hjælp af PCR-metoder 0,1 % ProClin® 300, konserveringsmiddel ^b	10 × 0,75 ml	  ADVARSEL H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. P261: Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. P272: Tilsmudset arbejdstøj bør ikke fjernes fra arbejdspladsen. P280: Brug beskyttelseshandsker. P333 + P313: Ved hudirritation eller udslet: Søg lægehjælp. P362 + P364: Forurenede tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. P501: Indholdet/beholderen bortskaffes til et godkendt affaldsmottagelsesanlæg. 55965-84-9 Reaktionsmasse på: 5-chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-on [EF-nr. 247-500-7] og 2-methyl-2H-isothiazol-3-on [EF-nr. 220-239-6] (3:1).

Kit	Indholdsstoffer i komponenter og reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel ^a
	(-) C (cobas® negativ kontrol) Normalt humant plasma, ikke-reaktivt med godkendte test til antistoffer mod HIV-1/2, antistoffer mod HCV, HBsAg, antistoffer mod HBc; HIV-1 RNA, HIV-2 RNA, HCV RNA og HBV DNA kan ikke detekteres ved hjælp af PCR-metoder < 0,1 % ProClin® 300, konserveringsmiddel^b	10 × 0,75 ml	  ADVARSEL H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. P261: Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. P272: Tilsmudset arbejdstøj bør ikke fjernes fra arbejdspladsen. P280: Brug beskyttelseshandsker. P333 + P313: Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. P362 + P364: Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. P501: Indholdet/beholderen bortskaffes til et godkendt affaldsmottagelsesanlæg. 55965-84-9 Reaktionsmasse på: 5-chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-on [EF-nr. 247-500-7] og 2-methyl-2H-isothiazol-3-on [EF-nr. 220-239-6] (3:1).

^a Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

^b Biologisk farligt stof.

Kit	Indholdsstoffer i komponenter og reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel ^a
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 240 test (P/N: 06979513190)	MGP 2(cobas® 4800 MGP Reagent 2) Magnetiske glaspartikler, Tris-buffer, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat, < 0,1 % natriumazid	10 × 8 ml	I/R
	EB 2(cobas® 4800 Elution Buffer 2) Tris-buffer, 0,2 % methyl-4 hydroxybenzoat	10 × 17 ml	I/R
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 960 test (P/N: 06979521190)	MGP 2(cobas® 4800 MGP Reagent 2) Magnetiske glaspartikler, Tris-buffer, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat, < 0,1 % natriumazid	10 × 16 ml	I/R
	EB 2(cobas® 4800 Elution Buffer 2) Tris-buffer, 0,2 % methyl-4 hydroxybenzoat	10 × 17 ml	I/R
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 test (P/N: 05235863190)	WB Natriumcitratdihydrat, 0,05 % N-methylisothiazolon-HCl	10 × 55 ml	I/R
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 test (P/N: 05235871190)	WB Natriumcitratdihydrat, 0,05 % N-methylisothiazolon-HCl	10 × 200 ml	I/R
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2 240 test (P/N: 06979556190)	SD 2 Tris-buffer, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat, < 0,1 % natriumazid	10 × 8 ml	I/R

Kit	Indholdsstoffer i komponenter og reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 240 test (P/N: 06979530190)	P 2 (Protease 2 til cobas® 4800-systemet) Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, kalciumklorid, kalciumacetat, 8 % (w/v) proteinase ^b	10 × 1,0 ml	 FARE H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. H334: Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding. P261: Undgå indånding af tåge eller damp. P280: Brug beskyttelseshandsker. P284: Anvend åndedrætsværn. P304 + P340: VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. P333 + P313: Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. P342 + P311: Ved luftvejssymptomer: Ring til en GIFTINFORMATION/læge. 39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i>-serin
	LYS 2 (Lysisbuffer 2 til cobas® 4800-systemet) 43 % (w/w) guanidinthiocyanat ^b , 5 % (w/v) polidocanol ^b , 2 % (w/v) dithiothreitol ^b , natriumcitratdihydrat	10 × 27 ml	  FARE H302: Farlig ved indtagelse. H314: Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader. H411: Giftig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. EUH032: Udvikler meget giftig gas ved kontakt med syre. EUH071: Ætsende for luftvejene. P273: Undgå udledning til miljøet. P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse/hørevern. P303 + P361 + P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsmudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand. P304 + P340 + P310: VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. P305 + P351 + P338 + P310: VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. P391: Udslip opsamles. 593-84-0 Guanidiniumthiocyanat 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutan-2,3-diol

Kit	Indholdsstoffer i komponenter og reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 960 test (P/N: 06979548190)	P 2 (Protease 2 til cobas® 4800-systemet) Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, kalciumklorid, kalciumacetat, 8 % (w/v) proteinase ^b	10 × 1,0 ml	 FARE H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. H334: Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding. P261: Undgå indånding af tåge eller damp. P280: Brug beskyttelseshandsker. P284: Anvend åndedrætsværn. P304 + P340: VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. P333 + P313: Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. P342 + P311: Ved luftvejssymptomer: Ring til en GIFTINFORMATION/læge. 39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i>-serin
	LYS 2 (Lysisbuffer 2 til cobas® 4800-systemet) 43 % (w/w) guanidinthiocyanat ^b , 5 % (w/v) polidocanol ^b , 2 % (w/v) dithiothreitol ^b , natriumcitratdihydrat	10 × 84 ml	   FARE H302: Farlig ved indtagelse. H314: Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader. H411: Giftig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. EUH032: Udvikler meget giftig gas ved kontakt med syre. EUH071: Ætsende for luftvejene. P273: Undgå udledning til miljøet. P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjebeskyttelse/ansigtsbeskyttelse/høreværn. P303 + P361 + P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsmudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand. P304 + P340 + P310: VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. P305 + P351 + P338 + P310: VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. P391: Udslip opsamles. 593-84-0 Guanidiniumthiocyanat 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutan-2,3-diol

^a Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.^b Biologisk farligt stof.

Krav til opbevaring og håndtering af reagenser

Reagens	Opbevarings-temperatur	Opbevaringstid
cobas® HBV	2-8 °C	Holdbar til den angivne udløbsdato
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	2-8 °C	Holdbar til den angivne udløbsdato
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2-8 °C	Holdbar til den angivne udløbsdato
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	15-25 °C	Holdbar til den angivne udløbsdato
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2	2-8 °C	Holdbar til den angivne udløbsdato
cobas® 4800 System Lysis Kit 2	2-8 °C	Holdbar til den angivne udløbsdato

Reagenser må ikke nedfryses.

Yderligere nødvendige materialer

Materialer	P/N
Ekstraheringsplade (deepwell) 2,0 ml til cobas® 4800-systemet	06884008001
AD-plade (microwell) 0,3 ml til cobas® 4800-systemet	05232724001
Hjælpespartel til forseglingsfilm	04900383001
CORE-spidser, 1000 µl, rack med 96	04639642001
200 ml reagensreservoir	05232759001
50 ml reagensreservoir	05232732001
24-positions carrier	04639502001
32-positions carrier	04639529001
Pose til fast affald	05530873001 (lille) eller 04691989001 (stor)
Hamilton STAR-plastikslidske	04639669001
Beskyttelseshandsker, uden talkum	Alle engangsbeskyttelseshandsker uden talkum kan bruges.
Vortex-mixer (enkelt rør)	Alle vortex-mixere kan bruges.
Centrifuge udstyret med en "swinging bucket"-rotor med minimum RCF på 1500	Alle egnede centrifuger kan bruges.

Ønskes yderligere oplysninger om de materialer, der sælges separat, kontaktes den lokale Roche-repræsentant.

Nødvendige, men ikke medfølgende instrumenter og software

Nødvendige instrumenter og software, ikke medfølgende
cobas® 4800-system cobas® x 480-instrumentet cobas® z 480-analyseinstrument Kontrolenhed
cobas® 4800-systemsapplikationssoftware (Core) version 2.2.0 eller nyere
cobas® 4800-systemet cobas® HBV AP v1.1.0 eller nyere

Bemærk! Kontakt den lokale Roche-repræsentant for at få en detaljeret ordreliste for de prøveracks, racks med spidser, reagensracks og pladecarriers, som er godkendt til instrumenterne.

Understøttede prøverør

Testen accepterer almindeligt anvendte primære og sekundære rør.

Følgende prøverør understøttes:

Primære rør

Nominel diameter (mm)	Prøveinputvolumen – behandlet (centrifugeret) fuldblod		Additiv i rør	
	400 µl behandlingsvolumen	200 µl behandlingsvolumen	EDTA-plasma	Serum
11-14	1800 µl eller mere	1000 µl eller mere	Med eller uden gel	Med gel
14,5-16	Mere end 4000 µl	Mere end 4000 µl	Med eller uden gel	Med gel

Kontakt den lokale Roche-repræsentant for at få bestillingsoplysninger for prøverør og oplysninger om de mindste prøveinputvolumener for specifikke primære rør.

Sekundære rør

Nominel diameter (mm)	Prøveinputvolumen	
	400 µl behandlingsvolumen	200 µl behandlingsvolumen
11-16	1000 µl eller mere (specifikke sekundære rør har en minimumsinputvolumen på mindre end 1000 µl)	750 µl eller mere (specifikke sekundære rør har en minimumsinputvolumen på mindre end 750 µl)

Kontakt den lokale Roche-repræsentant for at få bestillingsoplysninger for prøverør og oplysninger om de mindste prøveinputvolumener for specifikke sekundære rør.

Krav til forholdsregler og håndtering

Advarsler og forholdsregler

Som ved alle testprocedurer er det vigtigt med god laboratoriepraksis, for at analysen skal kunne fungere korrekt. På grund af testens høje analytiske sensitivitet skal man være omhyggelig med at undgå, at reagenser, prøver og amplifikationsblandinger kontamineres.

- Kun til *in vitro*-diagnostik.
- **cobas® HBV** er kun beregnet til kvantificering af HBV-virusbelastning og er ikke beregnet til indledende klinisk diagnose af HBV-infektion.
- **cobas® HBV** er ikke beregnet til brug ved screening af blod eller blodprodukter for tilstedeværelsen af HBV eller som diagnostisk test til bekræftelse af forekomsten af HBV-infektion.
- Alle patientprøver skal håndteres som smittefarligt materiale ved brug af gode laboratorieprocedurer som dem, der er beskrevet i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories og i CLSI-dokumentet M29-A4.^{19,20} Denne procedure må kun udføres af medarbejdere, der er uddannet i håndtering af biologisk farlige materialer og brugen af **cobas® HBV** og **cobas® 4800**-systemet.
- Alt materiale, der stammer fra mennesker, skal betragtes som potentielt smittefarligt og skal håndteres med generelle sikkerhedsforanstaltninger.
- **cobas® HBV/HCV/HIV-1**-kontrolkittet indeholder plasma, der stammer fra humant blod. Kildematerialet er blevet testet for antistoffer ved hjælp af en godkendt test og blev fundet ikke-reaktiv for tilstedeværelsen af antistoffer mod HCV, antistoffer mod HIV-1/2, HBsAg og antistoffer mod HBc. Test ved hjælp af PCR-metoder påviste ingen forekomst af HIV-1 RNA, HIV-2 RNA, HCV RNA og HBV DNA. Ingen kendte testmetoder kan helt udelukke, at produkter, der stammer fra humant blod, kan overføre smitstoffer.
- Undgå, at MGP udsættes for kilder med magnetisk felt.
- **Fuldblood eller andre prøver, der er opbevaret i primære rør, må ikke nedfryses.**
- Brug kun medfølgende eller specificerede forbrugsartikler for at sikre testens optimale performance.
- Der kan rekvireres sikkerhedsdatablade (SDS'er) ved henvendelse til den lokale Roche-repræsentant.
- Følg de angivne procedurer og retningslinjer nøje, så testen udføres korrekt. Eventuelle afvigelser fra procedurerne og retningslinjerne kan påvirke den optimale performance for testen.
- Der kan forekomme falsk-positive resultater, hvis krydskontaminering ikke kontrolleres tilstrækkeligt under håndtering og behandling af prøver.
- I Brugerassistance til **cobas® 4800**-systemet findes der yderligere advarsler, forholdsregler og procedurer til reduktion af risikoen for kontaminering for **cobas® x 480**-instrumentet eller **cobas® z 480**-analyseinstrumentet. Hvis der er mistanke om kontaminering, skal der udføres rengøring og ugentlig vedligeholdelse som beskrevet i Brugerassistance til **cobas® 4800**-systemet.
- Informer den lokale kompetente myndighed og producent om eventuelle alvorlige hændelser, der måtte opstå ved brug af denne analyse.

Bemærk! Se *“Indsamling, transport og opbevaring af prøver”* for en specifik brugervejledning.

God laboratoriepraksis

- Brug ikke mundpipettering.
- Der må ikke spises, drikkes eller ryges i laboratoriets arbejdsområder.
- Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og kitreagenser og efter aftagning af beskyttelseshandskerne.

- Anvend beskyttelsesbriller, særligt arbejdstøj og beskyttelseshandsker ved håndtering af alle reagenser. Undgå kontakt med huden, øjnene og slimhinderne. Ved kontakt skylles straks med store mængder vand. Der kan opstå ætsninger, hvis området ikke behandles. Hvis der spildes, skal der fortyndes med vand, før det tørres op.
- Rengør og desinficer alle arbejdsflader i laboratoriet grundigt med blegemiddel fortyndet med deioniseret eller destilleret vand til en 0,5 % opløsning af natriumhypoklorit (fortyndet blegemiddel 1:10). Opløsningen skal være nyfremstillet. Tør overfladen efter med 70 % ethanol.
- Bevar en konstant temperatur i laboratoriet for at opfylde de miljømæssige specifikationer for systemet som angivet i Brugerassistance til **cobas®** 4800-systemet.

Håndtering af reagenser

- Håndter alle reagenser, kontroller og prøver i overensstemmelse med god laboratoriepraksis for at undgå krydskontaminering af prøver eller kontroller.
- Inspicer hver reagensflaske visuelt før brug for at sikre, at der ikke er tegn på utætheder. Materialet må ikke anvendes til test, hvis der er tegn på utætheder.
- Lysisbuffer 2 til **cobas®** 4800-systemet indeholder guanidinthiocyanat, et potentielt farligt kemikalie. Undgå, at hud, øjne og slimhinder kommer i kontakt med reagenser. Ved kontakt skylles straks med rigelige mængder vand. Ellers kan der opstå ætsninger.
- Prøveforberedelseskit 2 til **cobas®** HBV, **cobas®** 4800-systemet og prøvediluent 2 til **cobas®** 4800-systemet indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Undgå, at hud, øjne og slimhinder kommer i kontakt med reagenser. Ved kontakt skylles straks med rigelige mængder vand. Ellers kan der opstå ætsninger. Hvis disse reagenser spildes, fortyndes med vand, før de tørres op.
- Lysisbuffer 2 til **cobas®** 4800-systemet, som indeholder guanidinthiocyanat, må ikke komme i kontakt med natriumhypoklorit (blegemiddel). Denne blanding kan danne en meget giftig gas.

Kontaminering

- Der skal bæres beskyttelseshandsker, og de skal skiftes mellem håndtering af prøver og **cobas®** HBV-reagenser for at forhindre kontaminering. Undgå at kontaminere handsker ved håndtering af prøver og kontroller. Anvend beskyttelseshandsker, særligt arbejdstøj og beskyttelsesbriller ved håndtering af prøver og kitreagenser.
- Undgå bakterie- og ribonukleasekontaminering af reagenser.
- Der kan forekomme falsk-positive resultater, hvis krydskontaminering ikke undgås under håndtering af prøver.

Integritet

- Brug ikke kittene efter deres udløbsdato.
- Reagenserne må ikke pooles.
- Anvend ikke engangsartikler efter deres udløbsdato.
- Alle engangsartikler må kun bruges én gang. De må ikke genbruges.
- Alt udstyr skal vedligeholdes korrekt i henhold til producentens anvisninger.

Bortskaffelse

- **cobas®** HBV, prøveforberedelseskit 2 til **cobas®** 4800-systemet og prøvediluent 2 til **cobas®** 4800-systemet indeholder natriumazid (se “**Advarsler og forholdsregler**”). Natriumazid kan reagere med bly- og kobberinstallationer og danne højeksplosive metalazider. Når natriumazidholdige opløsninger hældes ud i laboratorievasken, skal afløbet skylles med store mængder koldt vand for at undgå ophobning af azider.
- Reagenser og affald skal bortskaffes i overensstemmelse med nationale, regionale og lokale bestemmelser.

Bemærk! Se den relevante Brugerassistance til cobas® 4800-systemet for at få oplysninger om bortskaffelse af flydende affald.

Spildt materiale og rengøring

- Lysisbuffer 2 til cobas® 4800-systemet indeholder guanidinthiocyanat. Rengør med egnet laboratorierengøringsmiddel og vand, hvis der spildes væske, som indeholder guanidinthiocyanat. Hvis den spildte væske indeholder potentielt smittefarlige stoffer, skal det berørte område FØRST rengøres med laboratorierengøringsmiddel og derefter med 0,5 % natriumhypoklorit.
- Hvis der spildes materiale på cobas® x 480-instrumentet, skal vejledningen i Brugerassistance til cobas® 4800-systemet følges ved rengøring.
- Anvend ikke en opløsning af natriumhypoklorit (blegemiddel) til rengøring af cobas® x 480-instrumentet eller cobas® z 480-analyseinstrumentet. Rengør cobas® x 480-instrumentet eller cobas® z 480-analyseinstrumentet i henhold til de procedurer, der er beskrevet i Brugerassistance til cobas® 4800-systemet.

Indsamling, transport og opbevaring af prøver

Bemærk! Alle prøver skal håndteres som potentielt smittefarlige.

Opbevar alle prøver ved de angivne temperaturer.

Prøvens stabilitet påvirkes af forhøjede temperaturer.

Hvis der benyttes frosne prøver i sekundære rør, skal prøverne placeres ved stuetemperatur (15-30 °C), indtil de er fuldstændigt optøede, og derefter blandes kort (f.eks. på en vortex-mixer i 3-5 sekunder) og centrifugeres for at samle hele prøvevolumen i bunden af røret.

Indsamling af prøver

Fuldblod skal tages i SST™-rør (Serum Separation Tubes), BD Vacutainer® PPT™-rør (Plasma Preparation Tubes) til molekylære diagnosticeringstestmetoder eller i sterile rør med EDTA som antikoagulerende middel.

Bemærk! Brugeren skal følge producentens retningslinjer for forberedelse af serum/plasma.

Transport, opbevaring og holdbarhed af prøver

- Fuldblod, der er indsamlet i SST™ (Serum Separation Tubes), BD Vacutainer® PPT™ (Plasma Preparation Tubes) til molekylære diagnosticeringstestmetoder eller i sterile rør med EDTA som antikoagulerende middel, kan opbevares og/eller transporteres i op til 24 timer ved 2 °C til 25 °C før forberedelse af plasma/serum og efterfølgende test.
- Ved separation kan plasma-/serumprøver opbevares i sekundære rør i op til 24 timer ved 2 °C til 30 °C, i op til 72 timer ved 2 °C til 8 °C eller i op til 6 uger ved ≤ -18 °C. Separerede plasma-/serumprøver i sekundære rør kan holde til op til tre nedfrysninger/optøninger, når de opbevares nedfrosset ved ≤ -18 °C.
- Hvis prøverne skal sendes, skal de pakkes og mærkes i overensstemmelse med de gældende nationale og/eller internationale bestemmelser for transport af prøver og ætiologiske stoffer.

Brugsanvisning

Kørsel af testen

Prøvebehandlingsvolumen

Den standardmæssige prøvebehandlingsvolumen for **cobas® HBV** er 400 µl. For prøver med lav volumen kan der vælges en behandlingsvolumen på 200 µl. Kun i dette tilfælde skal prøvediluent 2 til **cobas® 4800**-systemet tilsættes i systemet som et ekstra reagens. Brugeren bliver bedt om at gøre dette af softwareguiden, hvis prøvetypen "Fortyndet serum eller plasma" blev valgt under oprettelsen af arbejdsordren.

Figur 1: cobas® HBV-arbejdsgang

1	Start systemet op
2	Udfør instrumentvedligeholdelse
3	Fjern prøver og reagenser fra lagerstedet
4	Start kørsel
5	Scan parameterkort
6	Indsæt prøver
7	Med LIS: bekræft arbejdsordre Uden LIS: opret arbejdsordre
8	Indsæt forbrugsartikler (deepwell-plade, microwell-plade, rack med spidser)
9	Indsæt reagenser
10	Start kørslen af prøveforberedelsen
11	Udtag og forsegl microwell-plade
12	Indsæt microwell-pladen i analyseinstrumentet
13	Fjern prøver, brugte reagenser og deepwell-plade
14	Gennemse resultaterne
15	Med LIS: send resultaterne til LIS
16	Udtag analyseinstrument

Bemærk! Se *Brugerasistance til cobas® 4800-systemet for at få en detaljeret brugsanvisning.*

Kørselsstørrelse

De generiske prøveforberedelsesreagenser (**cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2**, **cobas® 4800 System Lysis Kit 2** og **cobas® 4800 System Wash Buffer Kit**) fås i to kitstørrelser, som begge rækker til 10 kørsler på op til enten 24 eller 96 prøver, som omfatter de kontroller og prøver, der skal køres. **cobas® HBV** er tilgængeligt i en enkelt kitstørrelse, der rækker til test på op til 120 (10×12) prøver, herunder kontroller og prøver. **cobas® HBV/HCV/HIV-1-kontrolkittet** fås i en enkelt kitstørrelse og kan understøtte alle kørselskonfigurationer. For hver testbatch skal der anvendes én HBV/HCV/HIV-1 lav positiv kontrol, én HBV/HCV/HIV-1 høj positiv kontrol og én negativ kontrol. For en enkelt testkørsel er det tilladte maks. antal prøver 93 prøver og 3 kontroller.

Figur 1 opsummerer proceduren.

Bemærk! For optimal brug af reagenserne kan de generiske prøveforberedelsesreagenser anvendes til en kørsel med et samlet antal prøver på 1-21 (10×24 testkitstørrelse) eller et samlet antal prøver på 1-93 (10×96-testkitstørrelse). De forskellige størrelser af cobas® 4800 System Wash Buffer Kit, cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 og cobas® 4800 System Lysis Kit 2 kan ikke kombineres. Hvis en reagensflaske med vaskebuffer til 96-testen scannes i starten af kørslen, skal der også bruges reagenser med 96-teststørrelse fra de andre prøveforberedelseskit.

Arbejdsgang

cobas® HBV udføres ved hjælp af den fulde arbejdsgang i cobas® 4800-softwaren. Den består af prøveforberedelse på cobas® x 480-instrumentet efterfulgt af amplifikation/detektion på cobas® z 480-analyseinstrumentet. cobas® HBV kan ikke køres i blandet batch-tilstand med andre test. Se Brugerassistance til cobas® 4800-systemet for at få flere oplysninger.

1. Udfør systemets opstart ved at følge instruktionerne i Brugerassistance til cobas® 4800-systemet.
2. Udfør vedligeholdelsesprocedurer ved at følge instruktionerne i Brugerassistance til cobas® 4800-systemet.
3. Indsaml alle nødvendige reagenser og forbrugsartikler. Alle reagenser med undtagelse af HBV MMX R2 og MMX R1 skal have opnået den omgivende temperatur, før de indsættes i cobas® x 480-instrumentet. HBV MMX R2- og MMX R1-reagenser kan tages direkte fra opbevaring ved 2-8 °C, da de tempereres til den omgivende temperatur i cobas® x 480-instrumentet, når de bruges i processen.

Bemærk! Alle reagenser og reagensreservoirer er stregkodet og beregnet til engangsbrug. cobas® 4800-softwaren sporer brugen af reagenser og reagensreservoirer og afviser reagenser eller reagensreservoirer, der tidligere har været brugt.

4. Start en ny kørsel, og vælg arbejdsgangstypen HBV.
5. Følg softwareguiden, og scan stregkoden på parameterkortene med kontrolområderne og kalibreringskoefficienterne.

Bemærk! Scan parameterkort fra reagenser, hvor udløbsdatoen ikke er overskredet. Softwaren kontrollerer ikke reagensernes udløbsdatoer på parameterkort. Kontrollér den udløbsdato, der er trykt på parameterkortet eller på de pågældende reagenskit, før det tilsvarende stregkode-id scannes.

6. Indsæt prøverne. Der kan indsættes primære eller sekundære prøverør og minimumsprøvevolumen afhængigt af prøverørets type og størrelse. Se afsnittet "Understøttede prøverør" for at få flere oplysninger.
7. Opret arbejdsordren. Der er tre måder at oprette en arbejdsordre på:
 - Ved at bruge prøveeditoren, før prøverack'et indsættes i cobas® x 480-instrumentet (knappen "Editor" i højre side af hovedmenuen). Arbejdsordrer kan om nødvendigt gemmes, redigeres og genindlæses. Når man vælger de ønskede resultater, skal man vælge "HBV".
 - Ved at følge softwareguiden for den nye kørsel og indlæse prøveoplysningerne i cobas® x 480-instrumentet, når der gives besked om dette. Prøvestregkoderne scannes automatisk, og de ønskede resultater for hver prøve skal defineres. Når man vælger de ønskede resultater, skal man vælge "HBV".
 - Ved brug af institutionens LIS-system.

Se Brugerassistance til cobas® 4800-systemet for at få flere oplysninger. Når man vælger de ønskede resultater, skal man markere "HBV". Indlæs prøver, og definer/vælg arbejdsordre, eller brug LIS, efter behov.

8. Indsæt forbrugsartiklerne som angivet af softwareguiden. Indsæt eller fjern ikke individuelle spidser i et delvist brugt rack med spidser, da softwaren registrerer det tilbageværende antal spidser. Hvis der ikke er nok spidser til, at kørslen kan udføres, giver softwaren brugeren besked.

9. Indsæt reagenserne.

Indsæt prøveforberedelsesreagenserne i de stregkodede reagensreservoirer. Reagensreservoirerne fås i to størrelser: 200 ml og 50 ml. Følg softwareguiden for at vælge den korrekte reagensreservoirstørrelse. Stregkoderne på reagensreservoirer skal vende mod højre side af carrieren. Brug metoden "scan-scan-hæld-placér" til at indsætte prøveforberedelsesreagenser:

- Scan stregkoden på reagensflasken
- Scan stregkoden på reagensreservoir
- Hæld reagenset i reservoiret
- Placér det fyldte reagensreservoir i den angivne position i reagens-carrieren

Bemærk! *cobas® 4800-systemet har et internt ur, der overvåger, hvor længe reagenserne er om bord. Når LYS 2 eller WB er scannet, har man 1 time til at fuldføre isætningsprocessen og trykke på knappen Start. Der vises et nedtællingsur på fanen "Workplace". Systemet tillader ikke, at kørslen går i gang, hvis isætningstimeren er udløbet.*

Bemærk! *Bland MGP-røret på en vortex-mixer, eller ryst det grundigt, umiddelbart før det tilsættes reagensreservoir, for at sikre en nøjagtig overførsel af MGP.*

10. Isæt flasker med amplifikations-/detektionsreagens (HBV MMX R2, MMX R1 og DNA QS), kontrolflasker [HBV/HCV/HIV-1 L(+)C, HBV/HCV/HIV-1 H(+)C og (–) C] og generiske reagensflasker (P2 og SD2 som ønsket) direkte på reagens-carrieren.

Bemærk! *For at forhindre unødvendige kørselsafbrydelser og kontaminering er det nødvendigt at knipse på siden af reagensflaskerne for at undgå dannelsen af bobler/væskefilm. Kontroller skal åbnes med start fra den, der er tættest på (fra position 24 til 1). Skift beskyttelseshandsker efter håndtering af positive kontroller.*

11. Start kørslen af prøveforberedelsen. Efter en succesfuld kørsel af prøveforberedelsen bliver knappen "Sample Preparation results" og knappen "Unload" tilgængelige. Vælg om ønsket knappen "Sample Preparation results" for at gennemse resultaterne, og vælg derefter "Unload" for at udtage pladecarrierne. Man kan også vælge "Unload" for at udtage pladecarrieren uden at gennemse resultaterne. Se Brugerassistance til **cobas® 4800-systemet**.

12. Når microwell-pladen er taget ud, skal man se Brugerassistance til **cobas® 4800-systemet** for at få instruktioner i forsejling og overførsel af pladen til **cobas® z 480-analyseinstrumentet**.

13. Indfør microwell-pladen i analyseinstrumentet, og start amplifikations- og detektionskørslen som vist i Brugerassistance til **cobas® 4800-systemet**.

Bemærk! *cobas® 4800-systemet har et internt ur, der overvåger tiden fra tilsætningen af de forberedte prøver til aktivering af Master Mix. Amplifikation og detektion skal startes så hurtigt som muligt og ikke senere end 40 minutter efter, at cobas® x 480-instrumentkørslen er afsluttet. Der vises et nedtællingsur på fanen "Workplace". Systemet afbryder kørslen, hvis timeren er udløbet.*

14. Fjern prøver, brugte reagenser og deepwell-pladen som vist i Brugerassistance til **cobas® 4800-systemet**.

15. Når amplifikations- og detektionskørslen er færdig, skal man følge instruktionerne i Brugerassistance til **cobas® 4800-systemet** for at gennemse og acceptere resultaterne.

16. Hvis man arbejder med LIS, skal man sende resultaterne til LIS.

17. Følg instruktionerne i Brugerassistance til **cobas® 4800-systemet** for at tage microwell-pladen ud af **cobas® z 480-analyseinstrumentet**.

Resultater

cobas® 4800-systemet beregner automatisk HBV DNA-koncentrationen for prøverne og kontrollerne. HBV DNA-koncentration er udtrykt i internationale enheder pr. milliliter (IE/ml).

Kvalitetskontrol og validitet af resultater

- Én negativ kontrol (–) C og to positive kontroller, en lav positiv kontrol HBV/HCV/HIV-1 L(+)C og en høj positiv kontrol HBV/HCV/HIV-1 H(+)C, behandles med hver batch.
- I cobas® 4800-softwaren og/eller rapporten skal man kontrollere batchens gyldighed.
- Resultater erklæres automatisk invalide af cobas® 4800-softwaren på baggrund af fejl i negative og positive kontroller.

Fortolkning af kontrolresultater

Tabel 1: Fortolkning af kontrolresultater for negative og positive kontroller

Negativ kontrol	Resultat	Fortolkning
(–) C	Target Not Detected	Kontrollen er valid. HBV DNA ikke påvist.
	Invalid	Et invalidd resultat eller det beregnede titerresultat for den negative kontrol er ikke negativt.
Positiv kontrol	Resultat	Fortolkning
HBV/HCV/HIV-1 L(+)C	Titer	Kontrollen er valid. Den beregnede titer er inden for kontrolområdet.
	Invalid	Et invalidd resultat, eller det beregnede titerresultat for den lave positive kontrol er ikke inden for det tildelte interval.
HBV/HCV/HIV-1 H(+)C	Titer	Kontrollen er valid. Den beregnede titer er inden for kontrolområdet.
	Invalid	Et invalidd resultat, eller det beregnede titerresultat for den høje positive kontrol er ikke inden for det tildelte interval.

Fortolkning af resultater

Bemærk! *Al validering af analyser og batches foretages af cobas® 4800-softwaren.*

Bemærk! *En valid batch kan indeholde både valide og invalide prøveresultater.*

Hvis batchen er valid, skal prøveresultaterne fortolkes som vist i Tabel 2.

Tabel 2: Target-resultater til individuel target-resultatfortolkning

cobas® HBV	Resultatrapport og -fortolkning
Target Not Detected	HBV DNA ikke påvist. Rapportresultater som "HBV not detected" (HBV ikke påvist).
< Titer Min	Den beregnede titer er under den lave kvantificeringsgrænse (LLoQ) for analysen. Rapportér resultaterne som "HBV detected, less than (Titer Min)." (HBV påvist, under (titer min.)). Titer min. = 1,00E+01 IE/ml (400 µl og 200 µl)
Titer	Det beregnede titerresultat er inden for det lineære område af analysen – større end eller lig med titer min. og mindre end eller lig med titer maks. Rapportér resultater som "(Titer) of HBV detected" ((Titer) i HBV påvist).
> Titer Max ^a	Den beregnede titer er over den øvre grænse for kvantificering (ULoQ) af analysen. Rapportér resultaterne som "HBV detected, greater than (Titer Max)" (HBV påvist, større end (titer maks.)). Titer maks. = 1,00E+09 IE/ml (400 µl og 200 µl)

^a Prøveresultat > Titer Max henviser til HBV-positive prøver, der er påvist med titre over den øvre grænse for kvantificering (ULoQ). Hvis der ønskes et kvantitativt resultat, skal den oprindelige prøve fortyndes med HBV-negativt EDTA-plasma eller serum afhængigt af den oprindelige prøvetype, og testen gentages. Multiplicér det rapporterede resultat med fortyndingsfaktoren.

Liste over resultatflag

Den følgende tabel viser alle de flag, som er relevante for fortolkning af resultatet.

Tabel 3: Liste over flag

Flagkode	Beskrivelse	Anbefalet handling
R4800	Target er invalidd på grund af beregningsfejl.	Target er invalidd på grund af beregningsfejl. 1. Kør prøven igen. 2. Kontakt Roche Service, hvis problemet fortsætter.
R4801	Kvantificeringsstandarden er invalidd.	Kvantificeringsstandarden er invalidd for en prøve. 1. Kør prøven igen. 2. Kontakt Roche Service, hvis problemet fortsætter.
R4802	En ekstern kontrol er invalidd.	En ekstern kontrol er invalidd. ^a 1. Gentag hele kørslen med friske reagenser. 2. Kontakt Roche Service, hvis problemet fortsætter.
R4803	Kvantificeringsstandarden er invalidd.	Kvantificeringsstandarden er invalidd for en ekstern kontrol. 1. Gentag hele kørslen med friske reagenser. 2. Kontakt Roche Service, hvis problemet fortsætter.
R4804	Den eksterne kontrol er uden for området.	Den eksterne kontrol er uden for området. ^b 1. Gentag hele kørslen med friske reagenser. 2. Kontakt Roche Service, hvis problemet fortsætter.
X3	Fejl: Der blev detekteret clotdannelse. Prøven blev ikke behandlet.	Sørg for, at prøverne blev håndteret i henhold til brugsanvisningen. 1. Kontrollér prøven for clotdannelser. 2. Kør prøven igen.
X4	Fejl: Der opstod en pipetteringsfejl. Prøven blev ikke behandlet.	Utilstrækkelig prøvevolumen eller en mekanisk fejl under pipettering er den mest sandsynlige årsag. 1. Sørg for, at der er tilstrækkelig prøvevolumen. 2. Kontrollér, om udskubningspladen til spidser er placeret korrekt. 3. Kør prøven igen.

^a Dette er et prøveflag, som opstår, når en ekstern kontrol i kørslen bestemmes til at være invalidd.

^b Dette flag omfatter alle scenarier, hvor den eksterne kontrol er invalidd (targetbestemmelse eller titer).

Bemærk! Se alle systemflag i *Brugerassistance til cobas® 4800-systemet*.

Begrænsninger ved procedurerne

1. **cobas®** HBV er kun evalueret til brug sammen med **cobas®** HBV/HCV/HIV-1-kontrolkittet, prøveforberedelseskit 2 til **cobas®** 4800-systemet, lysiskit 2 til **cobas®** 4800-systemet, vaskebufferkit til **cobas®** 4800-systemet og prøvediluent 2 til **cobas®** 4800-systemet.
2. Pålidelige resultater er afhængige af korrekte procedurer for prøvetagning, transport, opbevaring og behandling. Følg procedurerne i denne brugervejledning (også kaldet et pakningsindlæg) og Brugerassistance til **cobas®** 4800-systemet.
3. Denne test er kun valideret til brug med EDTA-plasma og serum. Test af andre prøvetyper kan medføre unøjagtige resultater.
4. Kvantificering af HBV DNA er afhængig af det antal viruspartikler, der findes i prøven, og kan påvirkes af prøvetagningsmetoder, patientfaktorer (dvs. alder, forekomst af symptomer) og/eller infektionsstadiet.
5. Selvom de er sjældne, kan mutationer i de bedst konserverede områder i virusgenet, som er dækket af **cobas®** HBV, påvirke primere og/eller probebinding, hvilket medfører underkvantificering af eller manglende evne til at detektere virussen.
6. Den prædiktive værdi af en analyse afhænger af forekomsten af sygdommen i en bestemt population.
7. Tilsætningen af AmpErase-enzym i **cobas®** HBV Master Mix aktiverer den selektive amplifikation af target-nukleinsyren. Kontaminering af reagenser og amplifikationsblandinger kan dog kun undgås med god laboratoriepraksis og nøje overholdelse af de procedurer, der er angivet i denne brugervejledning.
8. Dette produkt må kun anvendes af medarbejdere, som er uddannet i brugen af PCR-teknikker og brugen af **cobas®** 4800-systemet.
9. Kun **cobas®** x 480-instrumentet og **cobas®** z 480-analyseinstrumentet er godkendt til brug sammen med dette produkt. Ingen andre prøveforberedelsesinstrumenter eller PCR-systemer må bruges sammen med dette produkt.
10. På grund af naturlige forskelle mellem teknologier anbefales det, at brugeren udfører metodekorrelationsundersøgelser i laboratoriet for at påvise teknologiske forskelle, før der skiftes fra en teknologi til en anden. Brugere bør følge de aktuelle politikker/procedurer.
11. Krydskontaminering kan forårsage falsk-positive resultater. Krydskontamineringsforholdet fra prøve til prøve for **cobas®** HBV er i en ikke-klinisk undersøgelse blevet bestemt til 0,0 % med et ensidigt 95 %-konfidensinterval på 1,3 %. Der er ikke observeret krydskontaminering fra kørsel til kørsel.
12. **cobas®** HBV er ikke beregnet til brug ved screening af blod eller blodprodukter for tilstedeværelsen af HBV som en diagnostisk analyse til bekræftelse af HBV-infektion.

Vurdering af ikke-klinisk performance

Vigtige egenskaber for performance

Detektionsgrænse (LoD)

WHO International Standard

Detektionsgrænsen for cobas® HBV blev bestemt ved at analysere serielle fortyndinger af den internationale WHO-standard for HBV DNA for nukleinsyreamplifikationsteknologiske analyser (2. internationale WHO-standard, NIBSC-kode 97/750) genotype A opnået fra NIBSC, i HBV-negativt EDTA-plasma eller serum ved hjælp af prøvebehandlingsvolumener på 400 µl og 200 µl. Paneler med seks koncentrationsniveauer samt en negativ prøve blev testet ved hjælp af tre lot af cobas® HBV-reagenser, flere kørsler, dage, brugere og instrumenter.

Resultaterne for EDTA-plasma og serum fra begge prøvebehandlingsvolumener er vist i Tabel 4 til Tabel 7. Undersøgelsen viser, at cobas® HBV detekterede HBV DNA ved en koncentration på 4,4 IE/ml i EDTA-plasma og 2,8 IE/ml i serum med en hit rate på ≥ 95 % via PROBIT for 400 µl prøvebehandlingsvolumen og ved en koncentration på 7,6 IE/ml i EDTA-plasma og 5,5 IE/ml i serum med en hit rate på ≥ 95 % via PROBIT for 200 µl prøvebehandlingsvolumen.

Tabel 4: Detektionsgrænse i EDTA-plasma (400 µl)

Koncentrationen i inputtiter (HBV DNA IE/ml)	Antal valide bestemmelse	Antal positive	Hit rate
25,0	126	126	100,0 %
15,0	126	126	100,0 %
10,0	126	126	100,0 %
5,0	126	122	96,8 %
2,0	125	94	75,2 %
0,5	126	38	30,2 %
0,0	36	0	0,0 %
LoD via PROBIT ved 95 % hit rate	4,4 IE/ml 95 % konfidensinterval: 3,6-5,7 IE/ml		

Tabel 5: Detektionsgrænse i serum (400 µl)

Koncentrationen i inputtiter (HBV DNA IE/ml)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate
25,0	125	125	100,0 %
15,0	126	126	100,0 %
10,0	126	126	100,0 %
5,0	126	126	100,0 %
2,0	126	109	86,5 %
0,5	126	54	42,9 %
0,0	36	0	0,0 %
LoD via PROBIT ved 95 % hit rate	2,8 IE/ml 95 % konfidensinterval: 2,3-3,8 IE/ml		

Tabel 6: Detektionsgrænse i EDTA-plasma (200 µl)

Koncentrationen i inputtiter (HBV DNA IE/ml)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate
25,0	126	126	100,0 %
15,0	126	125	99,2 %
10,0	126	125	99,2 %
5,0	126	109	86,5 %
2,0	126	71	56,4 %
0,5	126	18	14,3 %
0,0	36	0	0,0 %
LoD via PROBIT ved 95 % hit rate	7,6 IE/ml 95 % konfidensinterval: 6,3-9,6 IE/ml		

Tabel 7: Detektionsgrænse i serum (200 µl)

Koncentrationen i inputtiter (HBV DNA IE/ml)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate
25,0	126	126	100,0 %
15,0	126	126	100,0 %
10,0	126	126	100,0 %
5,0	126	115	91,3 %
2,0	126	90	71,4 %
0,5	126	26	20,6 %
0,0	36	0	0,0 %
LoD via PROBIT ved 95 % hit rate	5,5 IE/ml 95 % konfidensinterval: 4,5-7,0 IE/ml		

Lineært interval

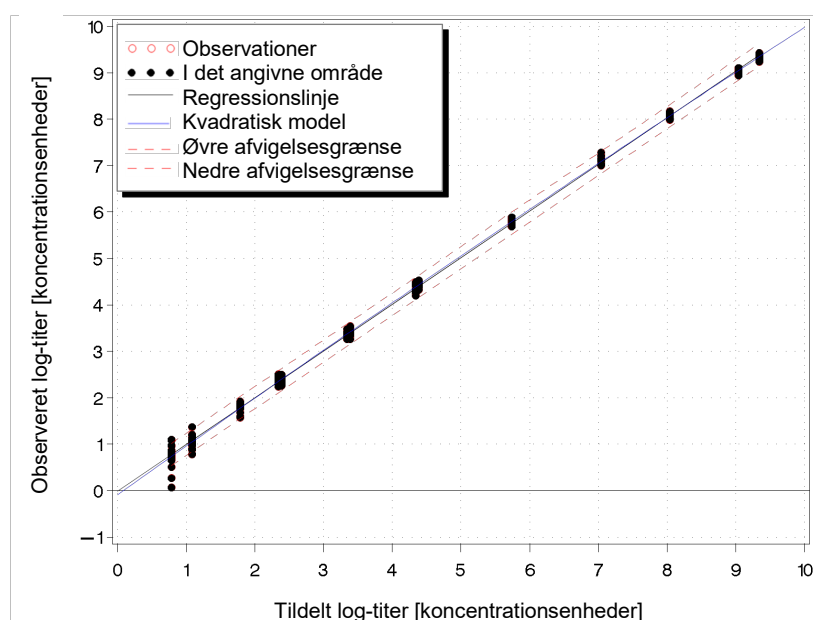
Lineariteten i **cobas**® HBV blev bestemt ved hjælp af en analyse med en fortyndingsserie bestående af ≥ 14 panel-medlemmer med den mest udbredte HBV-genotype (GT A), som spænder over analysens lineære område. Panel-medlemmer med høj titer blev forberedt fra en lambda-DNA-stock-opløsning med høj titer, hvorimod panelmedlemmer med lav titer blev forberedt fra en klinisk prøve (CS) med høj titer. Linearitetspanelet blev udviklet til at have et overlap på ca. 2 $\log_{10}$ titer mellem de to materialekilder.

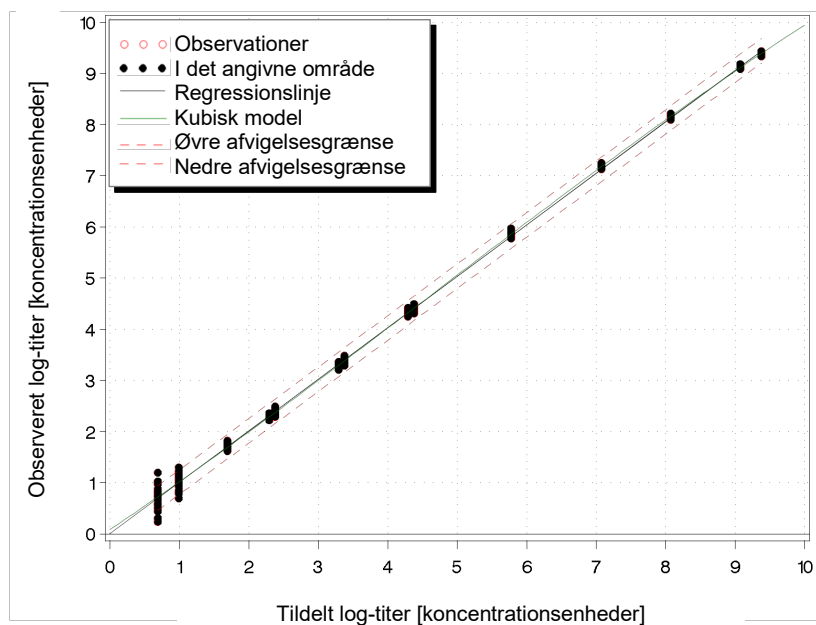
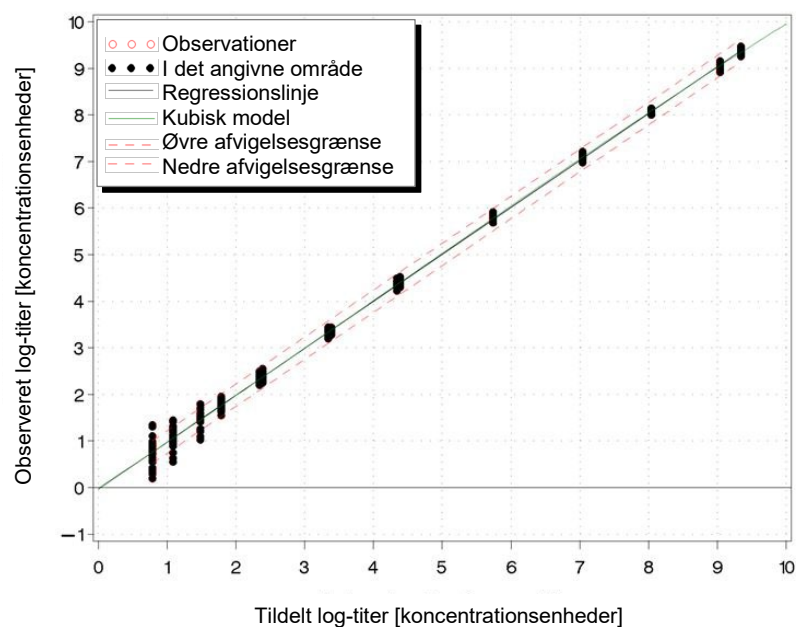
Med 400 μl prøvebehandlingsvolumen er **cobas**® HBV lineær for EDTA-plasma og serum fra 10,0 IE/ml til 1,0E+09 IE/ml og viser en maksimal afvigelse fra den mere passende ikke-lineære regression på mindre end eller lig med $\pm 0,06 \log_{10}$. På tværs af det lineære område var testens nøjagtighed inden for $\pm 0,08 \log_{10}$ for EDTA-plasma og inden for $\pm 0,12 \log_{10}$ for serum.

Med 200 μl prøvebehandlingsvolumen er **cobas**® HBV lineær for EDTA-plasma og serum fra 10,0 IE/ml til 1,0E+09 IE/ml og viser en maksimal afvigelse fra den mere passende ikke-lineære regression på mindre end eller lig med $\pm 0,05 \log_{10}$. På tværs af det lineære område var testens nøjagtighed inden for $\pm 0,08 \log_{10}$ for EDTA-plasma og inden for $\pm 0,16 \log_{10}$ for serum.

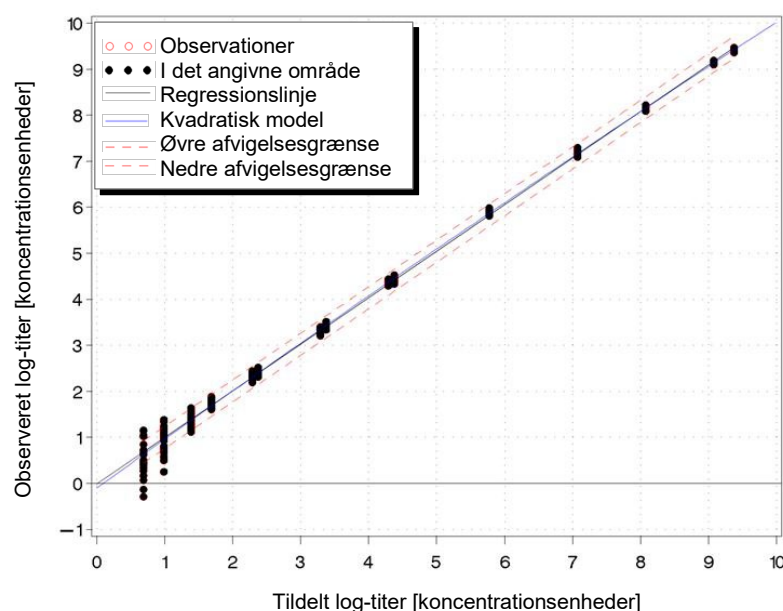
Se Figur 2 til Figur 5 for repræsentative resultater.

Figur 2: Linearitet i EDTA-plasma (400 μl)



Figur 3: Linearitet i serum (400 µl)**Figur 4: Linearitet i EDTA-plasma (200 µl)**

Figur 5: Linearitet i serum (200 µl)



Præcision – i laboratoriet

Præcision af cobas® HBV blev bestemt ved at analysere serielle fortyndinger af kliniske HBV-genotype (GT A) prøver (CS) og af lambda-DNA-HBV-stock-opløsning med høj titer (lambda-DNA) i HBV-negativt EDTA-plasma og serum. Syv fortyndingsniveauer blev testet i 72 bestemmelser for hvert niveau, hver matrix og prøvebehandlingsvolumen på tværs af tre lot med cobas® HBV-reagenser ved hjælp af tre instrumenter og tre brugere over 12 dage. Hver prøve blev kørt gennem hele cobas® HBV-proceduren på cobas® 4800-systemet. Den angivne præcision repræsenterer derfor alle aspekter af testproceduren. Resultaterne vises i Tabel 8 til Tabel 11.

cobas® HBV viste høj præcision for tre lot med reagenser testet på tværs af et koncentrationsområde på $2,5 \times 10^1$ IE/ml til $1,0 \times 10^9$ IE/ml med prøvebehandlingsvolumener på både 200 µl og 400 µl.

Tabel 8: Præcision i laboratoriet for cobas® HBV (EDTA-plasmaprøver – prøvebehandlingsvolumen på 400 µl)*

Nominel koncentration (IE/ml)	Tildelt koncentration (IE/ml)	Kildemateriale	EDTA-plasma			
			Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alle lot
			SD	SD	SD	Poolet SD
$1,0 \times 10^9$	$1,10 \times 10^9$	Lambda-DNA	0,07	0,08	0,05	0,07
$1,0 \times 10^7$	$1,10 \times 10^7$	Lambda-DNA	0,05	0,05	0,05	0,05
$5,0 \times 10^5$	$5,49 \times 10^5$	Lambda-DNA	0,06	0,04	0,05	0,05
$2,0 \times 10^4$	$2,44 \times 10^4$	CS	0,06	0,05	0,05	0,05
$2,0 \times 10^3$	$2,44 \times 10^3$	CS	0,08	0,06	0,06	0,07
$2,0 \times 10^2$	$2,44 \times 10^2$	CS	0,06	0,07	0,06	0,06
$2,5 \times 10^1$	$3,05 \times 10^1$	CS	0,14	0,13	0,09	0,12

*Titerdata anses for at være log-normalfordelt og analyseres efter $\log_{10}$ -transformationen. Kolonnerne med standardafvigelse (SD) viser den samlede log-transformerede titer for hvert af de tre reagenslot.

Tabel 9: Præcision i laboratoriet for cobas® HBV (serumprøver – prøvebehandlingsvolumen på 400 µl)*

Nominel koncentration (IE/ml)	Tildelt koncentration (IE/ml)	Kildemateriale	Serum			
			Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alle lot
			SD	SD	SD	Poolet SD
1,0E+09	1,19E+09	Lambda-DNA	0,04	0,04	0,03	0,04
1,0E+07	1,19E+07	Lambda-DNA	0,05	0,05	0,04	0,05
5,0E+05	5,93E+05	Lambda-DNA	0,03	0,04	0,03	0,03
2,0E+04	1,95E+04	CS	0,04	0,03	0,03	0,03
2,0E+03	1,95E+03	CS	0,03	0,02	0,03	0,03
2,0E+02	1,95E+02	CS	0,05	0,04	0,03	0,04
2,5E+01	2,44E+01	CS	0,16	0,08	0,14	0,13

*Titerdata anses for at være log-normalfordelt og analyseres efter log₁₀-transformationen. Kolonnerne med standardafvigelse (SD) viser den samlede log-transformerede titer for hvert af de tre reagenslot.

Tabel 10: Præcision i laboratoriet for cobas® HBV (EDTA-plasma – prøvebehandlingsvolumen på 200 µl)*

Nominel koncentration (IE/ml)	Tildelt koncentration (IE/ml)	Kildemateriale	EDTA-plasma			
			Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alle lot
			SD	SD	SD	Poolet SD/
1,0E+09	1,10E+09	Lambda-DNA	0,04	0,06	0,04	0,05
1,0E+07	1,10E+07	Lambda-DNA	0,04	0,07	0,05	0,05
5,0E+05	5,49E+05	Lambda-DNA	0,03	0,04	0,04	0,04
2,0E+04	2,44E+04	CS	0,04	0,05	0,06	0,05
2,0E+03	2,44E+03	CS	0,05	0,07	0,05	0,06
2,0E+02	2,44E+02	CS	0,05	0,07	0,04	0,06
2,5E+01	3,05E+01	CS	0,30	0,14	0,22	0,23

*Titerdata anses for at være log-normalfordelt og analyseres efter log₁₀-transformationen. Kolonnerne med standardafvigelse (SD) viser den samlede log-transformerede titer for hvert af de tre reagenslot.

Tabel 11: Præcision i laboratoriet for cobas® HBV (serum – prøvebehandlingsvolumen på 200 µl)*

Nominel koncentration (IE/ml)	Tildelt koncentration (IE/ml)	Kildemateriale	Serum			
			Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alle lot
			SD	SD	SD	Poolet SD
1,0E+09	1,19E+09	Lambda-DNA	0,02	0,02	0,02	0,02
1,0E+07	1,19E+07	Lambda-DNA	0,03	0,04	0,04	0,04
5,0E+05	5,93E+05	Lambda-DNA	0,02	0,03	0,04	0,03
2,0E+04	1,95E+04	CS	0,03	0,02	0,03	0,03
2,0E+03	1,95E+03	CS	0,04	0,03	0,03	0,03
2,0E+02	1,95E+02	CS	0,06	0,15	0,05	0,10
2,5E+01	2,44E+01	CS	0,14	0,18	0,15	0,16

*Titerdata anses for at være log-normalfordelt og analyseres efter log₁₀-transformationen. Kolonnerne med standardafvigelse (SD) viser den samlede log-transformerede titer for hvert af de tre reagenslot.

Bekræftelse af genotype

Performance for cobas® HBV på HBV-genotyper blev evalueret ved hjælp af:

- Bekræftelse af detektionsgrænsen for genotype B til og med H og den mest udbredte præ-core-mutant
- Bekræftelse af lineariteten for genotype B til og med H og præ-core-mutanten

Bekræftelse af detektionsgrænsen for genotype B til og med H og præ-core-mutanten

Kliniske HBV-DNA-prøver for otte forskellige genotyper (B, C, D, E, F, G, H, G1896A-præ-core-mutant) blev fortyndet i EDTA-plasma og serum til EDTA-plasma LoD-koncentrationen af den mest udbredte genotype (HBV GT A) på baggrund af 95 % Hit Rate LoD-analyse (5,0 IE/ml). Hit rate-analysen blev udført med 42 bestemmelser for hver genotype og prøvematrix. Disse resultater bekræfter, at cobas® HBV påviste HBV for HBV-genotyperne B, C, D, E, F, G, H og præ-core-mutanten (PC) ved en koncentration på 5 IE/ml med et øvre ensidet 95 % konfidensinterval, der er større end den forventede hit rate på 95 %.

Tabel 12: LoD-bekræftelse af HBV-genotyper B-H og præ-core-mutant i 400 µl EDTA-plasma

Genotype	Hit rate	Øvre ensidet 95 % konfidensinterval
B	97,6 %	99,9 %
C	95,2 %	99,2 %
D	100,0 %	100,0 %
E	100,0 %	100,0 %
F	100,0 %	100,0 %
G	100,0 %	100,0 %
H	90,5 %	96,7 %
PC	100,0 %	100,0 %

Tabel 13: LoD-bekræftelse af HBV-genotyper B-H og præ-core-mutant i 400 µl serum

Genotype	Hit rate	Øvre ensidet 95 % konfidensinterval
B	100,0 %	100,0 %
C	100,0 %	100,0 %
D	100,0 %	100,0 %
E	100,0 %	100,0 %
F	100,0 %	100,0 %
G	100,0 %	100,0 %
H	97,6 %	99,9 %
PC	100,0 %	100,0 %

Bekræftelse af lineært område for genotype B til og med H og præ-core-mutanten

Den fortyndingsserie, der bruges ved bekræftelsen af linearitetsundersøgelsen af genotyper i cobas® HBV, består af ni panelmedlemmer, der spænder over det tiltænkte lineære område. Panelmedlemmer med høj titer blev forberedt fra en lambda-DNA-stock-opløsning med høj titer, hvorimod panelmedlemmer med lav titer blev forberedt fra en klinisk prøve (CS) med høj titer. Linearitetspanelet blev udviklet til at have et overlap på mindst 2 log₁₀ titer mellem de to materialekilder. Det lineære område i cobas® HBV gik fra LLoQ (10,0 IE/ml for en prøvebehandlingsvolumen på 400 µl) til ULoQ (1,0E+09 IE/ml) og omfattede mindst to medicinske beslutningspunkter. 12 bestemmelser pr. niveau blev testet i EDTA-plasma.

Det lineære område for cobas® HBV blev bekræftet for alle otte genotyper (B, C, D, E, F, G, H, præ-core-mutant). Den maksimale afvigelse mellem den lineære regression og den mere passende ikke-lineære regression var lig med eller mindre end ±0,08 log₁₀.

Analytisk specificitet

Den analytiske specificitet for cobas® HBV blev evalueret ved at fortynde et panel af patogener (Tabel 14) med HBV DNA-positivt og HBV DNA-negativt EDTA-plasma. Patogenerne blev føjet til negativt EDTA-plasma og testet med og uden HBV DNA. Negative resultater blev bestemt ved hjælp af cobas® HBV for alle patogenprøver uden HBV-target, og positive resultater blev bestemt på alle patogenprøver med HBV-target. Derudover var den gennemsnitlige log₁₀-titer for hver af de positive HBV-prøver, der indeholdt potentielt krydsreagerende organismer, inden for ±0,12 log₁₀ af den gennemsnitlige log₁₀-titer for den pågældende positive berigede kontrol.

Tabel 14: Patogener testet for krydsreaktivitet

Vira		Bakterier	Gær
Adenovirus, type 5	Herpes simplex-virus, type 1 og 2	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovirus	Human papillomavirus	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Dengue-virus, type 1, 2, 3 og 4	Influenzavirus A		
Epstein Barr-virus	Murray Valley encephalitis-virus		
FSME-virus (stamme HYPR)	St. Louis encephalitis-virus		
Hepatitis A-virus	Varicella-Zoster-virus		
Hepatitis C-virus	West Nile-virus		
Human immundefektvirus-1	Gul feber-virus		
Human T-celle lymfotrofisk virus, type 1 og 2	Zika-virus		
Human herpesvirus, type 6			

Analytisk specificitet – interfererende stoffer

Høje niveauer af potentielt interfererende endogene stoffer (triglycerider (27,9-30,1 g/l), konjugeret bilirubin (0,18-0,22 g/l), ukonjugeret bilirubin (0,19-0,2 g/l), albumin (57,8-60,6 g/l), hæmoglobin (1,8-2,3 g/l) og humant DNA (2 mg/l)) i prøver blev testet ved tilstedeværelse og fravær af HBV DNA. De testede stoffer udviste ikke interferens med cobas® HBV-testens performance. Det blev bekræftet, at tilstedeværelsen af markører for de autoimmune sygdomme systemisk lupus erythematosus (SLE), rheumafaktor (RF) og antinukleært antistof (ANA) ikke medførte interferens.

Den gennemsnitlige log₁₀-titer for hver af de positive HBV-prøver, der indeholdt potentielt interfererende endogene stoffer og autoimmune sygdomsmarkører, var mellem -0,05 log₁₀ og 0,07 log₁₀ af den gennemsnitlige log₁₀-titer for den pågældende positive berigede kontrol.

Derudover blev lægemiddelstoffer, der er angivet i Tabel 15, testet ved tre gange $C_{\max}$ ved tilstedeværelse og fravær af HBV DNA.

Tabel 15: Lægemiddelstoffer, der er testet for interferens med kvantificeringen af HBV DNA ved hjælp af cobas® HBV

Lægemiddelklasse	Lægemidlets generiske navn	
Immunmodulatorer	Peginterferon α -2a	Ribavirin
	Peginterferon α -2b	
HIV-entryhæmmer	Maraviroc	
HIV-integrasehæmmere	Elvitegravir/cobicistat	Raltegravir
Ikke-nukleosid HIV-revers transkriptasehæmmere	Efavirenz	Nevirapin
	Etravirin	Rilpivirin
HIV-proteasehæmmere	Atazanavir	Nelfinavir
	Darunavir	Ritonavir
	Fosamprenavir	Saquinavir
	Lopinavir	Tipranavir
HCV-proteasehæmmere	Boceprevir	Telaprevir
	Simeprevir	
revers transkriptase- eller DNA-polymerasehæmmere	Abacavir	Ganciclovir
	Aciclovir	Lamivudin
	Adefovir dipivoxil	Sofosbuvir
	Cidofovir	Telbivudin
	Emtricitabin	Tenofovir
	Entecavir	Valganciclovir
	Foscarnet	Zidovudin
Forbindelser til behandling af opportunistiske infektioner	Azithromycin	Pyrazinamid
	Clarithromycin	Rifabutin
	Ethambutol	Rifampicin
	Fluconazol	Sulfamethoxazol
	Isoniazid	Trimethoprim

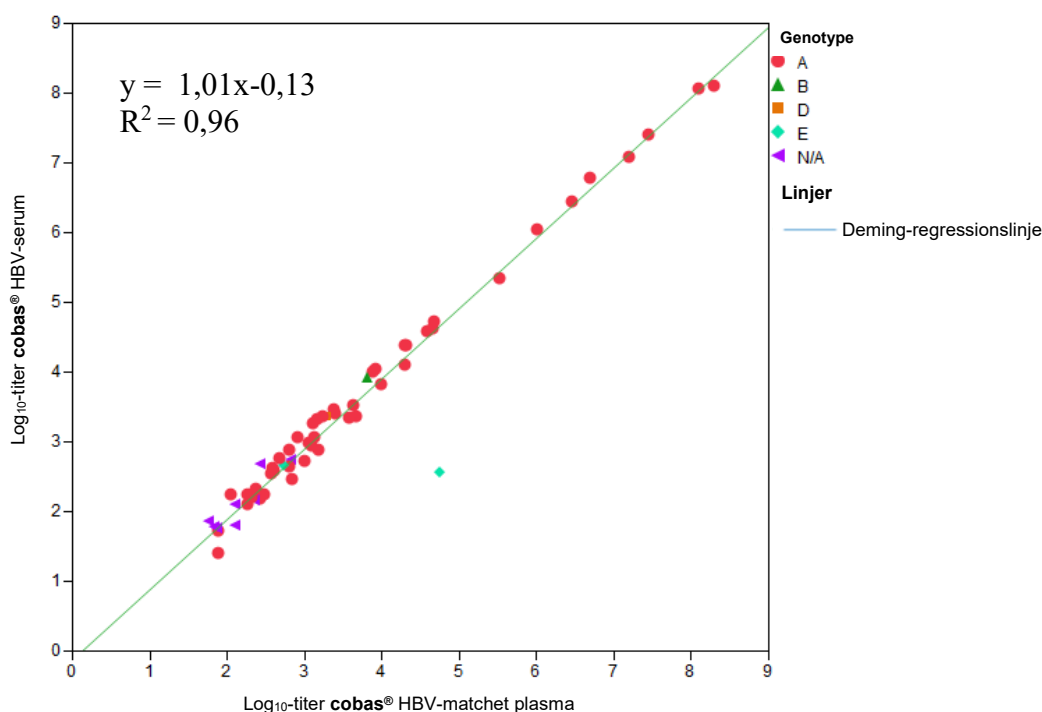
Alle potentielt interfererende lægemiddelstoffer har vist sig ikke at interferere med testens performance. Negative resultater blev bestemt ved hjælp af cobas® HBV for alle prøver uden HBV-target, og positive resultater blev bestemt på alle prøver med HBV-target. Derudover var den gennemsnitlige $\log_{10}$ -titer for hver af de positive HBV-prøver, der indeholdt potentielt interfererende lægemiddelstoffer, mellem $-0,02 \log_{10}$ og $0,03 \log_{10}$ af den gennemsnitlige $\log_{10}$ -titer for den pågældende positive berigede kontrol.

Matrix-ækvivalens – EDTA-plasma ift. serum

Ethundredeogtitten kombinerede EDTA-plasma- og serumprøver blev analyseret for matrix-ækvivalens. Ud af disse var 59 kombinerede prøver HBV-positive prøver. De HBV-positive prøver dækkede genotyperne A, B, D og E på tværs af det lineære område.

Den gennemsnitlige titer-afvigelse, der blev målt for tilsvarende EDTA-plasma- og serumprøver, var $-0,10 \log_{10}$ (95 % konfidensinterval: $-0,18$; $-0,01$) (Figur 6).

Figur 6: Performance for matrix-ækvivalens mellem EDTA-plasma og serum



Systemfejlfrekvens

Systemfejlfrekvensen for cobas® HBV blev bestemt ved at teste 100 bestemmelser af EDTA-plasma beriget med HBV-target. Disse prøver blev testet ved en target-koncentration på ca. $3 \times \text{LoD}$ (15,0 IE/ml).

Resultaterne af denne undersøgelse viste, at alle bestemmelser var valide og positive for HBV, hvilket medførte en generel systemfejlfrekvens på 0,0 %. Det tosidede eksakte 95 % konfidensinterval var 0,0 % for den nedre grænse og 3,6 % for den øvre grænse [0,0 %; 3,6 %].

Krydskontaminering

Krydskontamineringsforholdet for cobas® HBV blev bestemt ved at teste 230 bestemmelser af HBV-negative EDTA-plasmaprøver og 235 bestemmelser af HBV-prøver med høj titer ved $1,4\text{E}+09$ IE/ml. I alt blev der udført fem kørsler med positive og negative prøver i en checkerboard-konfiguration.

Alle 230 bestemmelser af negative prøver var valide og påvist negative, hvilket medførte et krydskontamineringsforhold på 0,0 % med et ensidet 95 % konfidensinterval på 1,3 %.

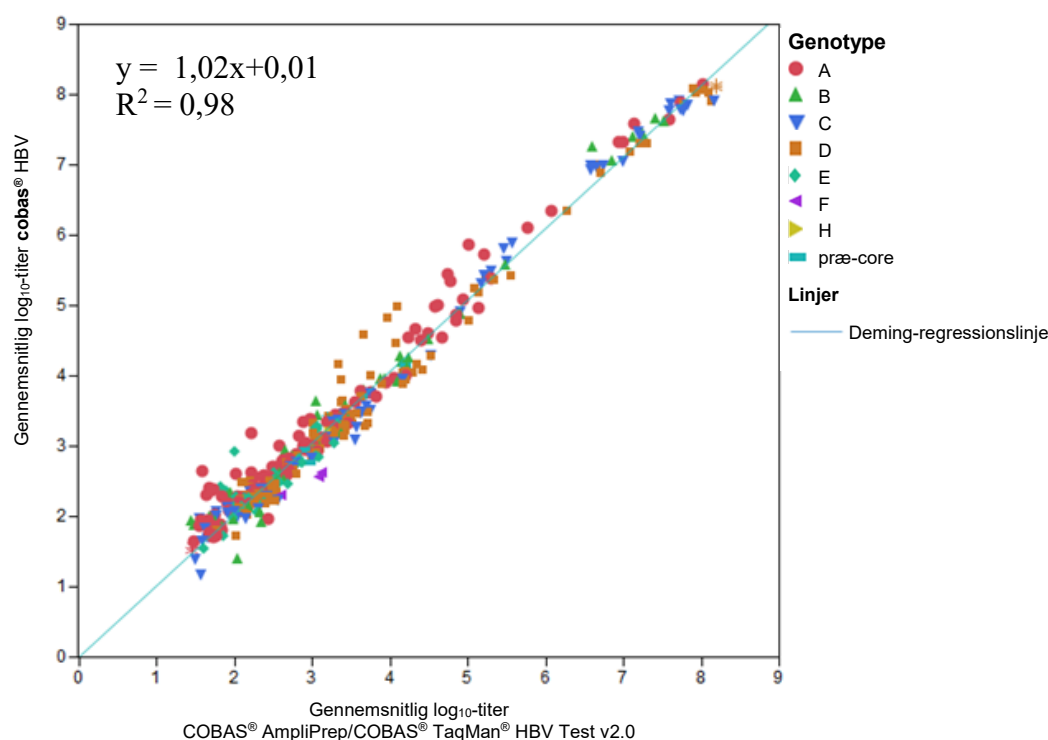
Evaluering af klinisk performance

Evaluering af performance for cobas® HBV sammenlignet med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV Quantitative Test, v2.0

Performance for cobas® HBV og COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV Quantitative Test, v2.0 (TaqMan® HBV Test, v2.0) blev sammenlignet med analysen af serum og EDTA-plasmaprøver fra HBV-inficerede patienter. I alt var 215 EDTA-plasmaprøver og 170 serumprøver på tværs af alle HBV-genotyper (med undtagelse af genotype G), analyseret som dobbeltbestemmelse, valide og inden for kvantificeringsintervallet for begge test. Deming-regressionsanalysen blev foretaget. Den gennemsnitlige titer-afvigelse for de prøver, der blev testet med to test, var 0,06 log₁₀ (95 % konfidensinterval: 0,04; 0,09).

Deming-regressionsresultaterne vises i Figur 7. Farven repræsenterer genotypen.

Figur 7: Regressionsanalysen i cobas® HBV ift. TaqMan® HBV Test, v2.0, EDTA-plasma og serumprøver



Specifisitet

Specifisiteten for cobas® HBV blev bestemt ved at analysere HBV-negative EDTA-plasma- og serumprøver fra individuelle donorer. Sekshundredeogfemten individuelle EDTA-plasma- og sekshundredeogtrenten individuelle serumprøver (i alt 1228 resultater) blev testet med tre lot af cobas® HBV-reagenser. Sekshundredeogfemten prøver i EDTA-plasma og 613 prøver i serum blev testet negative for HBV DNA. I testpanelet var specifisiteten for cobas® HBV 100,0 % i plasma og i serum (ensidet 95 % konfidensinterval på 99,5 %).

Yderligere oplysninger

Vigtige analysefunktioner

Prøvetype	EDTA-plasma, serum		
Prøvebehandlingsvolumen	400 µl eller 200 µl		
Analytisk sensitivitet	EDTA-plasma:	4,4 IE/ml (400 µl)	Serum: 2,8 IE/ml (400 µl)
		7,6 IE/ml (200 µl)	5,5 IE/ml (200 µl)
Lineært interval	400 µl: 10,0 IE/ml – 1,0E+09 IE/ml		
	200 µl: 10,0 IE/ml – 1,0E+09 IE/ml		
Specificitet	100,0 % (ensidet 95 % konfidensinterval: 99,5 %)		
Genotyper påvist	HBV-genotyper A-H, G1896A-præ-core-mutant		

Symboler

Følgende symboler anvendes ved Roche PCR-diagnostiske produkter.

Tabel 16: Symboler, der er anvendt ved Roche PCR-diagnostiske produkter

 Age/DOB	Alder eller fødselsdato	 Udstyr, der ikke er til patientnær test	 QS IU/PCR	QS IE pr. PCR-reaktion. Brug QS internationale enheder (IE) pr. PCR-reaktion til beregning af resultaterne.
 SW	Hjælpesoftware	 Udstyr, der ikke er til selvtest	 SN	Serienummer
 Assigned Range [copies/mL]	Tildelt interval (kopier/mL)	 Distributør (Bemærk! Gældende land/region kan være angivet under symbolet.)	 Site	Sted
 Assigned Range [IU/mL]	Tildelt interval (IE/mL)	 Må ikke genbruges	 Procedure Standard	Standardprocedure
 EC REP	Autoriseret repræsentant i EF	 Kvinder	 STERILE EO	Steriliseret med ethylenoxid
 BARCODE	Barkodedataark	 Kun til evaluering af IVD-performance	 Opbevares mørkt	
 LOT	Lotnummer	 GTIN	 Temperaturbegrænsning	
 Biologisk fare		 Importør	 TDF	Testdefinitionsfil
 REF	Katalognummer	 IVD	 Denne side op	
 CE	CE-overensstemmelsesmærkning: Denne enhed stemmer overens med de gældende krav for CE-mærkning af medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik	 LLR	 Procedure UltraSensitive	Ultrasensitive-procedure
 Collect Date	Prøvetagningsdato	 Mænd	 UDI	Unik udstyrsidentifikation
 Se brugsanvisning		 Producent	 ULR	Øvre grænse for tildelt interval
 Indeholder tilstrækkeligt til $<n>$ tests		 CONTROL -	 Urine Fill Line	Urinpåfyldningslinje
 CONTENT	Indhold i pakning	 Usteril	 Rx Only	Kun USA: Ifølge amerikansk lovgivning må denne enhed kun sælges af eller efter anmodning fra en læge.
 CONTROL	Kontrol	 Patientnavn	 Sidste anvendelsesdato	
 Fremstillingsdato		 Patientnummer		
 Udstyr til patientnær test		 Riv her		
 Udstyr til selvtest		 CONTROL +		
		 QS copies / PCR		QS kopier pr. PCR-reaktion. Brug QS kopier pr. PCR-reaktion til beregning af resultaterne.

Teknisk support

Kontakt den lokale afdeling for teknisk support (assistance):
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Producent

Tabel 17: Producent



Produceret i USA

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

Fremstillet i USA

Varemærker og patenter

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

Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Referencer

1. Custer B, Sullivan SD, Hazlet TK, Iloeje U, Veenstra DL, Kowdley KV. Global epidemiology of hepatitis B virus. *J Clin Gastroenterol*. 2004; 38:S158-S168.
2. Weinbaum CM, Williams I, Mast EE, et al. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Recommendations for identification and public health management of persons with chronic hepatitis B virus infection. *MMWR Recomm Rep*. 2008;57:1-20.
3. Hu KQ. Hepatitis B virus (HBV) infection in Asian and Pacific Islander Americans (APIAs): how can we do better for this special population? *Am J Gastroenterol*. 2008;103:1824-1833.
4. Dienstag JL. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med*. 2008;359:1486-1500.
5. Liaw YF. Natural history of chronic hepatitis B infection and long-term outcomes under treatment. *Liver Int*. 2009;29Suppl 1:100-107.
6. Fattovich G, Bortolotti F, Donato F. Natural history of chronic hepatitis B: special emphasis on disease progression and prognostic factors. *J Hepatol*. 2008;48:335-352.
7. Buy DY, Lai CL, Yuen MF. Natural history of hepatitis-related hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2008;14:1652-1656.
8. Kao JH. Diagnosis of hepatitis B virus infection through serologic and virologic markers. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2008;2:553-562.
9. Yuen MF, Wong DK, Fung J, et al. HBsAg Seroclearance in chronic hepatitis B in Asian patients: replicative level and risk of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2008;135:1192-1199.
10. Tong MJ, Hsien C, Song JJ, et al. Factors associated with progression to hepatocellular carcinoma and to death from liver complications in patients with HBsAg-positive cirrhosis. *Dig Dis Sci*. 2009;54:1337-1346.
11. Belonia EA, Costa J, Gareen IF, et al. National Institutes of Health. Consensus Development Conference Statement: management of hepatitis B. *Ann Intern Med*. 2009; 150:104-110.
12. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-128.
13. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Bio/Technology*. 1992;10:413-417.
14. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Research*. 1996; 6: 986-994.
15. Saldanha J, Gerlich W, Lelie N, et al.; WHO Collaborative Study Group. An international collaborative study to establish a World Health Organization international standard for hepatitis B virus DNA nucleic acid amplification techniques. *Vox Sang*. 2001;80:63-71.
16. Pawlotsky JM, Dusheiko G, Hatzakis A, et al. Virologic monitoring of hepatitis B virus therapy in clinical trials and practice: recommendations for a standardized approach. *Gastroenterology*. 2008;134:405-415.
17. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-493.
18. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-878.

19. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Dokumentrevision

Oplysninger om dokumentrevision	
Doc Rev. 7.0 02/2024	Lysisbuffer 2 fareoplysningerne er opdateret. Siden med harmoniserede symboler er opdateret. Afsnittet Teknisk support er tilføjet. Opdateret til aktuelle økonomiske aktører. Afsnittet Varemærker og patenter er opdateret, herunder også linket. Tilføjet "Fremstillet i"-bemærkning. cobas®-branding er opdateret. Symbolet "Rx Only" er tilføjet. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.
Doc Rev. 8.0 08/2024	Wash Buffer Kit fareoplysningerne er opdateret. Rx Only er fjernet fra forsiden. Siden med harmoniserede symboler er opdateret. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.
Doc Rev. 9.0 10/2024	Revideret for at leve op til IVDR-kravene. Tilføjet NIBSC-kode til den internationale WHO-standard. Specificeret region for primerbinding. Tilføjet afsnit "Evalueret af klinisk performance". Tilføjet tilsigtet brug for cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.

Du kan finde rapporten med oversigten over sikkerhed og performance ved hjælp af følgende link:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>