

cobas[®] HBV

Kvantitativ nukleinsyretest til brug på cobas[®] 5800/6800/8800-systemerne

Til *in vitro*-diagnostik brug

cobas[®] HBV

P/N: 09040820190

Til brug på cobas[®] 5800-systemet

cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

P/N: 09040773190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 09051554190

Til brug på cobas[®] 6800/8800-systemerne

cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

P/N: 06997767190 eller

P/N: 09040773190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 07002220190 eller

P/N: 09051554190

Indholdsfortegnelse

Anvendelse	4
Oversigt og forklaring af testen	4
Reagenser og materialer	6
cobas® HBV-reagenser og -kontroller	6
cobas® omni-reagenser til prøveforberedelse	9
Krav til opbevaring af reagenser	10
Yderligere påkrævede materialer til cobas® 5800/6800/8800-systemerne	11
Påkrævede instrumenter og software	12
Krav til forholdsregler og håndtering	13
Advarsler og forholdsregler	13
Håndtering af reagenser	13
God laboratoriepraksis	14
Opsamling, transport og opbevaring af prøver.....	14
Prøver	14
Brugsanvisning.....	16
Procedurebemærkninger.....	16
Kørsel af cobas® HBV på cobas® 5800/6800/8800-systemerne	16
Resultater	19
Kvalitetskontrol og validitet af resultater på cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 2.0 eller nyere.....	19
Kvalitetskontrol og validitet af resultater på cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 1.4	19
Kontrolflagmarkeringer på cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 1.4	20
Fortolkning af resultater for cobas® 5800/6800/8800-systemerne	20
Fortolkning af resultater på cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 2.0 eller nyere.....	21
Fortolkning af resultater på cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 1.4	21
Begrænsninger ved procedurerne	21

Evaluering af ikke-klinisk performance	22
Systemækvivalens	22
Vigtige egenskaber for performance	22
Detektionsgrænse (LoD)	22
Lineært interval	24
Præcision – intra-laboratorium	26
Genotypebestemmelse og -verificering	29
Specificitet	32
Metodekorrelation	34
Matrix-ækvivalens – EDTA-plasma ift. serum	35
Systemfejlfrekvens	35
Krydskontaminering	36
Evaluering af klinisk performance	37
Undersøgelse af repetérbarhed	37
Lot-til-lot-variation	37
Reproducerbarhed	39
Klinisk anvendelighed	41
Forudsigelse af respons på antiviralbehandling	43
Konklusion	47
Yderligere oplysninger	48
Vigtige testfunktioner	48
Symboler	49
Teknisk support	50
Producent og importør	50
Varemærker og patenter	50
Copyright	50
Referencer	51
Dokumentrevision	53

Anvendelse

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.

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 kørsel/batchkontrol på cobas® 5800/6800/8800-systemerne med cobas® HBV-, cobas® HCV- og cobas® HIV-1-test.

Oversigt og forklaring af testen

Baggrund

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 cleare 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} HBV-stammevarianter med præ-core-mutanter kan miste evnen til at producere HBeAg, også selv om der forefindes en aktiv infektion, hvilket begrænser brugen af denne markør til monitorering af sygdomsforløbet.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 test, der udføres på **cobas® 5800**-systemet, **cobas® 6800**-systemet eller **cobas® 8800**-systemet. **cobas® HBV** giver mulighed for detektion og kvantificering af HBV DNA i EDTA-plasma eller serum fra inficerede patienter til brug i laboratorier, der understøtter kliniske forsøg, samt rutinemæssig klinisk praksis ved behandling af patienter med HBV. En enkelt probe bruges til at detektere og kvantificere men ikke til at differentiere mellem genotyperne A-H. Virusbelastningen kvantificeres mod en ikke-HBV DNA-kvantificeringsstandard (DNA-QS), som tilsættes i hver prøve under prøveforberedelsen. DNA-QS fungerer også som overvågning af 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-/detektionskitlet 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® 5800**-systemet er udviklet som ét integreret instrument. **cobas® 6800/8800**-systemerne består af prøveforsyningsmodulet, transfermodulet, processeringsmodulet og analysemodulet. Automatiseret dataadministration udføres ved hjælp af **cobas® 5800**-systemet- eller **cobas® 6800/8800**-systemerne-softwaren, som tilknytter testresultater til alle test som "Target Not Detected" (Target er ikke påvist), $< \text{LLOQ}$ (nedre kvantificeringsgrænse), $> \text{ULOQ}$ (øvre kvantificeringsgrænse) eller "HBV DNA detected" (HBV DNA påvist), en værdi i det lineære interval $\text{LLOQ} < x < \text{ULOQ}$. Resultaterne kan gennemses direkte på systemskærmen, eksporteres eller udskrives i en rapport.

Nukleinsyrer fra patientprøver, eksterne kontroller og tilsatte lambda-DNA-molekyler (DNA-QS) ekstraheres samtidigt.

Virale nukleinsyrer frigives ved tilsætning af proteinase og 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 efterfølgende med vaskereagenstrin, og oprensede nukleinsyrer elueres fra de magnetiske glaspartikler med elueringsbuffer ved forhøjet temperatur.

Selektiv amplifikation af target-nukleinsyre fra prøven opnås ved brug af target-viruspecifikke forward og reverse primere, som er udvalgt blandt 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 et termotabilt DNA-polymerase-enzym til amplifikation. Master mix'et indeholder deoxyuridin-trifosfat (dUTP) i stedet for deoxythymidin-trifosfat (dTTP), som inkorporeres i det nyligt syntetiserede DNA (amplikon).^{14, 17, 18} Ethvert kontaminerende amplikon fra tidligere PCR-kørsler elimineres med AmpErase-enzymet, der er inkluderet i PCR-mix'et, ved opvarmning under den første termiske cyklus. Nyligt dannet amplikon elimineres dog ikke, da AmpErase-enzymet inaktiveres, når det udsættes for temperaturer over 55 °C.

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 eller 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 bølglængder og giver således mulighed for samtidig detektion og diskrimination af det amplificerede HBV-target og DNA-QS.^{12, 13} Når fluorescenssignalet ikke er bundet til targetsekvensen, undertrykkes det i den intakte probe af et quencherfarvestof. Under PCR-amplifikationstrinnet medfører hybridiseringen af proberne til den specifikke enkeltstrengede DNA-template en kløvning af proben vha. 5' til 3'-exonukleaseaktiviteten i DNA-polymerasen, hvilket resulterer i separation af rapport- og quencherfarvestofferne og

derived generering af et fluorescenssignal. For hver PCR-cyklus genereres øgede mængder af kløvede 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.

Reagenser og materialer

cobas® HBV-reagenser og -kontroller

De medfølgende materialer til cobas® HBV findes i Tabel 1. Nødvendige men ikke medfølgende materialer findes i Tabel 2, Tabel 3, Tabel 4, Tabel 9 til Tabel 11.

Alle uåbnede reagenser og kontroller skal opbevares som anbefalet i Tabel 1 til Tabel 4.

Tabel 1 cobas® HBV

cobas® HBV

Opbevares ved 2-8 °C.

Kassette med 192 tests (P/N 09040820190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit 192 test
Proteinaseopløsning (PASE)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, kalciumklorid, kalciumacetat, 8 % proteinase EUH210: Sikkerhedsdatablad kan på anmodning rekvireres. EUH208: Kan udløse allergisk reaktion. Indeholder: Subtilisin, 9014-01-1	22,3 ml
DNA-kvantificeringsstandard (DNA-QS)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % ikke-HBV DNA-konstruktion indeholdende ikke-HBV-primerbinding og et unikt probeområde (ikke-infektøs DNA), 0,002 % Poly rA RNA (syntetisk), < 0,1 % natriumazid	21,2 ml
Elueringsbuffer (EB)	Tris-buffer, 0,2 % methyl-4-hydroxybenzoat	21,2 ml
Master Mix-reagens 1 (MMX-R1)	Manganacetat, kaliumhydroxid, < 0,1 % natriumazid	7,5 ml
HBV Master Mix-reagens 2 (HBV MMX-R2)	Tricinbuffer, kaliumacetat, 18 % dimethylsulfoxid, glycerol, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01 % upstream- og downstream-HBV-primere, < 0,01 % kvantificeringsstandard forward og reverse primere, < 0,01 % fluorescensmærkede oligonukleotidprober, der er specifikke for HBV og HBV-kvantificeringsstandard, < 0,01 % oligonukleotid aptamer, < 0,01 % Z05D DNA-polymerase, < 0,10 % AmpErase-enzym (uracil-N-glycosylase) (mikrobielt), < 0,1 % natriumazid	9,7 ml

Tabel 2 cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit**cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit**

Opbevares ved 2-8 °C

Til brug på cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 2.0 eller nyere (P/N 09040773190)

Til brug på cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 1.4 (P/N 06997767190 og P/N 09040773190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel*
HBV/HCV/HIV-1 svagt positiv kontrol (HBV/HCV/HIV-1 L(+)C)	< 0,001 % HIV-1 gruppe M RNA, indkapslet i MS2-bakteriofag proteinkappe (armored), < 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 HCV, antistoffer mod HIV-1/2, 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**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  ADVARSEL H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. P261: Undgå indånding af tåge eller damp. P273: Undgå udledning til miljøet. 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-2H-isothiazol-3-on og 2-methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1).
HBV/HCV/HIV-1 høj positiv kontrol (HBV/HCV/HIV-1 H(+)C)	< 0,001 % syntetisk med høj titer (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 HCV, antistoffer mod HIV-1/2, 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**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  ADVARSEL H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. P261: Undgå indånding af tåge eller damp. P273: Undgå udledning til miljøet. 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-2H-isothiazol-3-on og 2-methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1).

* Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

** Farligt stof.

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

Opbevares ved 2-8 °C

Til brug på cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 2.0 eller nyere (P/N 09051554190)

Til brug på cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 1.4 (P/N 07002220190 og P/N 09051554190)

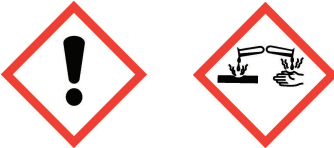
Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel*
Negativ kontrol med normalt humant plasma (NHP-NC)	Normalt humant plasma, ikke-reaktivt med godkendte test til antistoffer mod HCV, antistoffer mod HIV-1/2, HBsAg, antistoffer mod HBc; HIV-1 RNA, HIV-2 RNA, HCV RNA og HBV DNA kan ikke detekteres ved hjælp af PCR-metoder 0,1 % ProClin® 300-konservationsmiddel**	16 ml (16 × 1 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: Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. P501: Indholdet/holderen 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).

* Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

** Farligt stof.

cobas® omni-reagenser til prøveforberedelse

Tabel 4 cobas® omni-reagenser til prøveforberedelse

Reagenser	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel*
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Opbevares ved 2-8 °C (P/N 06997546190)	Magnetiske glaspartikler, Tris-buffer, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat, < 0,1 % natriumazid	480 test	Ikke relevant
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Opbevares ved 2-8 °C (P/N 06997511190)	Tris-buffer, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat, < 0,1 % natriumazid	4 × 875 ml	Ikke relevant
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Opbevares ved 2-8 °C (P/N 06997538190)	43 % (w/w) guanidinthiocyanat**, 5 % (w/v) polidocanol**, 2 % (w/v) dithiothreitol**, natriumcitratdihydrat	4 × 875 ml	 FARE H302 + H332: Farlig ved indtagelse eller indånding. H314: Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader. H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. EUH032: Udvikler meget giftig gas ved kontakt med syre. P261: Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. P273: Undgå udledning til miljøet. P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjnebeskyttelse/ansigtsbeskyttelse. P303 + P361 + P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsudset 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. 593-84-0 Guanidiniumthiocyanat 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutan-2,3-diol
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Opbevares ved 15-30 °C (P/N 06997503190)	Natriumcitratdihydrat, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat	4,2 l	Ikke relevant

* Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

** Farligt stof.

Krav til opbevaring af reagenser

Reagenser skal opbevares og håndteres som angivet i Tabel 5, Tabel 6 og Tabel 7.

Når reagenserne ikke er indsat på **cobas®** 5800/6800/8800-systemerne, skal de opbevares ved den temperatur, der er angivet i Tabel 5.

Tabel 5 Opbevaring af reagenser (når reagenset ikke er på systemet)

Reagens	Opbevaringstemperatur
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

Krav til håndtering af reagenser for **cobas®** 5800-systemet og **cobas®** 6800/8800-systemerne

Reagenser, der er indsat på **cobas®** 5800-systemet eller **cobas®** 6800/8800-systemerne, opbevares ved de relevante temperaturer, og deres udløbsdato overvåges og håndhæves af systemet. Systemet giver kun mulighed for brug af reagenserne, hvis alle de betingelser for reagenshåndtering, der vist i Tabel 6, Tabel 7 og Tabel 8, overholdes. Systemet forhindrer automatisk brugen af udløbne reagenser. Oplysninger om resterende holdbarhed for åbent kit og antal anvendelser af kittet til analysespecifikke reagenser er tilgængeligt via systemets brugerinterface.

Tabel 6 Udløbsbetingelser for reagenser som overvåget og håndhævet af **cobas®** 5800-systemet

Reagens	Holdbarhed for åbent kit	Antal anvendelser af kit	Holdbarhed på systemet
cobas® HBV	90 dage fra første brug	40	36 dage fra indsætning
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Engangsflaske	8	36 dage fra indsætning
cobas® NHP Negative Control Kit	Engangsflaske	16	36 dage fra indsætning

Tabel 7 Udløbsbetingelser for reagenser som overvåget og håndhævet af **cobas®** 6800/8800-systemerne

Reagens	Holdbarhed for åbent kit	Antal anvendelser af kit	Holdbarhed på systemet (uden for køleskab på systemet)
cobas® HBV	90 dage fra første brug	40	40 timer fra indsætning
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Engangsflaske	8	8 timer fra indsætning
cobas® NHP Negative Control Kit	Engangsflaske	16	10 timer fra indsætning

Tabel 8 viser holdbarheden for et åbent kit med **cobas® omni**-reagenser. Før hver kørsel bekræfter systemet holdbarheden for det åbne kit og sikrer tilstrækkeligt fyldningsvolumen. Disse reagenser har derfor ikke fået tildelt et antal anvendelser af kit eller en holdbarhed på systemet.

Tabel 8 Udløbsbetingelser for **cobas® omni**-reagenser som overvåget og håndhævet af **cobas®** 5800/6800/8800-systemerne

Reagens	Holdbarhed for åbent kit
cobas® omni Lysis Reagent	30 dage fra indsætning
cobas® omni MGP Reagent	30 dage fra første brug
cobas® omni Specimen Diluent	30 dage fra indsætning
cobas® omni Wash Reagent	30 dage fra indsætning

Yderligere påkrævede materialer til **cobas®** 5800/6800/8800-systemerne

Tabel 9 Materialer til brug på **cobas®** 5800/6800/8800-systemerne

Materiale	P/N
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190

Tabel 10 Forbrugsartikler til brug på **cobas®** 5800-systemet*

Materiale
cobas® omni Processing Plate 24
cobas® omni Liquid Waste Plate 24
cobas® omni Amplification Plate 24
Pipettespids CORE TIPS med filter, 1 ml
Pipettespids CORE TIPS med filter, 300 µl
cobas® omni Liquid Waste Container
Pose til fast affald eller pose til fast affald med indsats
16-positions rør-S-carrier, komplet
Rackcarrier med 5 positioner

* Se brugerassistenten til **cobas®** 5800-systemet for oplysninger om varenumre

Tabel 11 Forbrugsartikler til brug på **cobas®** 6800/8800-systemerne*

Materiale
cobas® omni Processing Plate
cobas® omni Amplification Plate
cobas® omni Pipette Tips
cobas® omni Liquid Waste Container
Pose til fast affald og beholder til fast affald eller pose til fast affald med indsats og kitskuffe

* Se brugerassistenten til **cobas®** 6800/8800-systemerne for oplysninger om varenumre

Påkrævede instrumenter og software

cobas® 5800-softwaren, **cobas®** 6800/8800-systemsoftwaren og **cobas®** HBV-analysepakning (ASAP) til **cobas®** 5800/6800/8800-systemerne skal være installeret.

For **cobas®** 5800- og **cobas®** 6800/8800-systemerne med software 2.0 eller nyere følger x800 Data Manager-softwaren og pc'en (eller serveren) med systemet.

For **cobas®** 6800/8800-systemer med softwareversion 1.4 følger IG-serveren (Instrument Gateway-serveren) med systemet.

Tabel 12 Instrumenter

Udstyr	P/N
cobas® 5800-systemet	08707464001
cobas® 6800-systemet	05524245001 og 09575154001
cobas® 8800-systemet	05412722001 og 09575146001
Prøveforsyningsmodul til cobas® 6800/8800-systemerne	06301037001 og 09936882001

Se brugerassistancen til **cobas®** 5800-systemet eller **cobas®** 6800/8800-systemerne for at få yderligere oplysninger.

Bemærk! Kontakt den lokale Roche-repræsentant for at få en detaljeret ordreliste til prøveracks, racks til clottede spidser og rackbakker, der er godkendt på instrumenterne.

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 sensitivitet skal man være omhyggelig med at undgå, at reagenser og amplifikationsblandinger kontamineres.

- Kun til *in vitro*-diagnostik brug.
- **cobas® HBV** er ikke evalueret 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 smittefarligt materiale og i brugen af **cobas® HBV** og **cobas® 5800**-systemet eller **cobas® 6800/8800**-systemerne.
- Alt materiale, der stammer fra mennesker, skal betragtes som potentielt smittefarligt og skal håndteres med generelle sikkerhedsforanstaltninger. Hvis der spildes materiale, skal det berørte område straks desinficeres med en nyfremstillet 0,5 % opløsning af natrium- eller kaliumhypoklorit i destilleret eller deioniseret vand, eller de relevante procedurer for laboratoriet følges.
- **cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit** og **cobas® NHP Negative Control Kit** 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 af normalt humant plasma ved PCR-metoder påviste heller ikke forekomst af HIV-1 (gruppe M og O) RNA, HIV-2 RNA, HCV RNA eller HBV DNA. Ingen kendte testmetoder kan helt udelukke, at produkter, der stammer fra humant blod, kan overføre smitstoffer.
- **Fuldblod 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 af testen.
- Der kan forekomme falsk-positive resultater, hvis carry-over ikke kontrolleres tilstrækkeligt under håndtering og behandling af prøver.
- Informer den lokale kompetente myndighed og producent om eventuelle alvorlige hændelser, der måtte opstå ved brug af denne analyse.

Håndtering af reagenser

- Håndter alle reagenser, kontroller og prøver i overensstemmelse med god laboratoriepraksis for at undgå carry-over af prøver eller kontroller.
- Inspicer hver reagenskassette, diluent, lysisreagens og vaskereagens 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.
- **cobas® omni** Lysis Reagent indeholder guanidinthiocyanat, der er 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.

- **cobas® HBV**-testkit, **cobas® omni** MGP Reagent og **cobas® omni** Specimen Diluent 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 der med vand, før de tørres op.
- **cobas® omni** Lysis Reagent, som indeholder guanidinthiocyanat, må ikke komme i kontakt med en natrium- eller kaliumhypokloritopløsning. Denne blanding kan danne en meget giftig gas.
- Alt materiale, der har været i kontakt med prøver og reagenser, skal bortskaffes i overensstemmelse med nationale, regionale og lokale bestemmelser.

God laboratoriepraksis

- Brug ikke mundpipettering.
- Der må ikke spises, drikkes eller ryges i de angivne arbejdsområder.
- Anvend beskyttelseshandsker, laboratoriekitter og øjenbeskyttelse ved håndtering af prøver og reagenser. Handskerne skal skiftes mellem håndtering af prøver og **cobas® HBV**-kit og **cobas® omni**-reagenser for at forhindre kontaminering. Undgå at kontaminere handsker ved håndtering af prøver og kontroller.
- Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og kitreagenser og efter aftagning af handskerne.
- Rengør og desinficer alle arbejdsflader i laboratoriet grundigt med en nyfremstillet 0,5 % opløsning af natrium- eller kaliumhypoklorit i destilleret eller deioniseret vand. Tør overfladen efter med 70 % ethanol.
- Hvis der spildes materiale på **cobas® 5800**- eller **cobas® 6800/8800**-instrumenterne, skal anvisningerne i bruger-assistancen til **cobas® 5800**-systemet eller **cobas® 6800/8800**-systemerne følges for korrekt rengøring og dekontaminering af instrumentoverfladerne.

Opsamling, transport og opbevaring af prøver

Bemærk! Alle prøver og kontroller skal håndteres som potentielt smittefarlige.

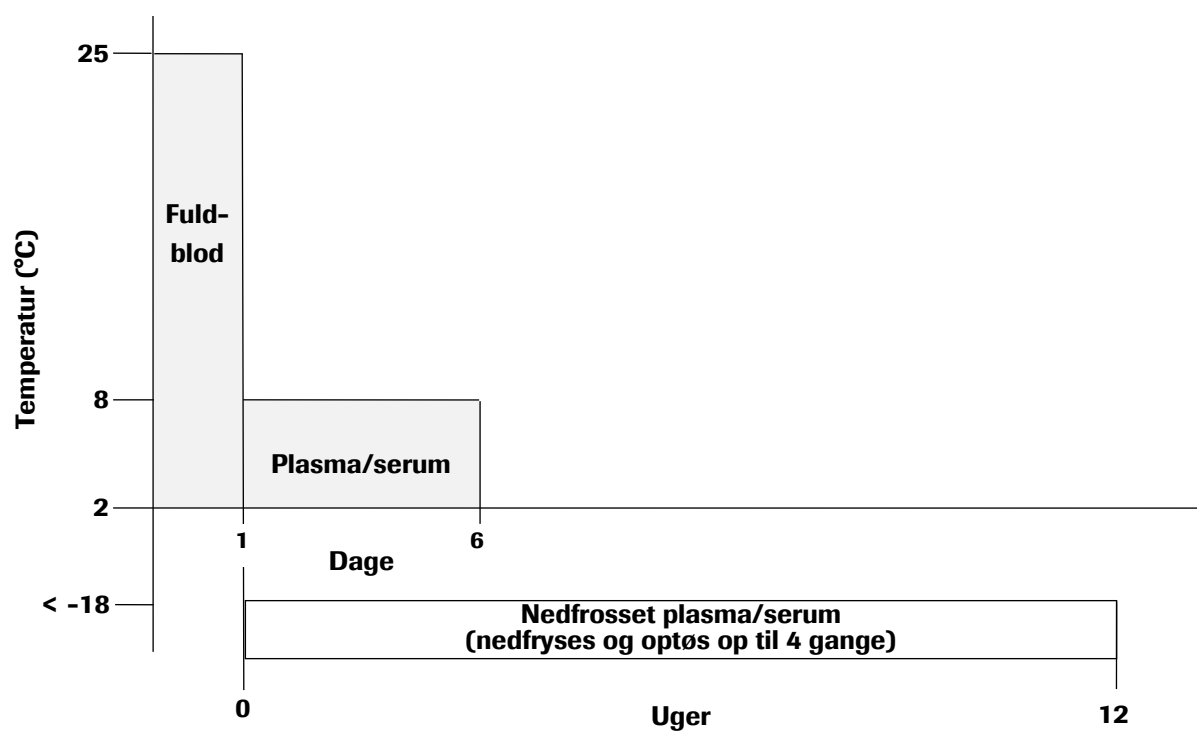
Opbevar alle prøver ved de angivne temperaturer.

Prøveholdbarhed 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 prøvemængde i bunden af røret.

Prøver

- Fuldblod skal tages i SST™-rør (Serum Separation Tubes), BD Vacutainer® PPT™-rør (Plasma Preparation Tubes) til molekulære diagnosticeringstestmetoder eller i sterile rør med EDTA som antikoagulerende middel. Følg instruktionerne fra producenten af blodprøvetagningsrøret. Se Figur 1.
- Fuldblod, der er indsamlet i SST™ (Serum Separation Tubes), BD Vacutainer® PPT™ (Plasma Preparation Tubes) til molekulære 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. Der skal foretages centrifugering i henhold til producentens anvisninger.
- Ved separation kan plasma- eller serumprøver opbevares i sekundære rør i op til 6 dage ved 2 °C til 8 °C eller i op til 12 uger ved ≤ -18 °C.
- Ved længere tids opbevaring i op til 6 måneder anbefales temperaturer på ≤ -60 °C.
- Plasma/serum-prøver kan holde til op til fire nedfrysninger/optøninger, når de nedfryses til ≤ -18 °C.

Figur 1 Prøveopbevaringsforhold

- 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

Procedurebemærkninger

- Brug ikke **cobas**® HBV-reagenser, **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, **cobas**® NHP Negative Control Kit eller **cobas**® **omni**-reagenser efter deres udløbsdatoer.
- Genanvend ikke forbrugsartikler. De er kun beregnet til engangsbrug.
- **cobas**® HBV kan køres med to påkrævede minimumsprøvevolumener på 350 µl (for prøvearbejdsgangen med 200 µl) og 650 µl (for prøvearbejdsgangen med 500 µl). Figur 2 og Figur 3 nedenfor opsummerer testproceduren.

Kørsel af **cobas**® HBV på **cobas**® 5800/6800/8800-systemerne

- Betjeningen af instrumenterne er beskrevet i detaljer i brugerassistancen til **cobas**® 5800-systemet eller **cobas**® 6800/8800-systemerne.
- Se brugerassistancen til **cobas**® 5800-systemet eller **cobas**® 6800/8800-systemerne for at få oplysninger om korrekt vedligeholdelse af instrumenter.
- Kontrollér, at prøvernes stregkodeetiketter på prøverørene er synlige gennem åbningen i siden af de pågældende RD5- eller MPA-prøverack. Se brugerassistancen til **cobas**® 5800-systemet eller **cobas**® 6800/8800-systemerne for at få oplysninger om de korrekte stregkodespecifikationer og yderligere oplysninger om indsætning af prøverørene.

Figur 2 cobas® HBV-testproceduren på cobas® 5800-systemet

1	Log på systemet
2	Indsættelse af prøver i systemet: • Indsæt prøveracks i systemet • Systemet forberedes automatisk • Bestil test
3	Genopfyld reagenser og forbrugsartikler som angivet af systemet: • Indsæt de(n) testspecifikke reagenskassette(r) • Indsæt miniracks til kontroller • Indsæt processeringsspidser • Indsæt elueringsspidser • Indsæt processeringsplader • Indsæt plader til flydende affald • Indsæt amplifikationsplader • Indsæt MGP-kassette • Genopfyld prøvediluent • Genopfyld lysisreagens • Genopfyld vaskereagens
4	Start kørslen ved at vælge knappen til "Start processing" i brugerinterfacet. Alle efterfølgende kørsler starter automatisk, hvis de ikke udsættes manuelt
5	Gennemse og eksportér resultater
6	Fjern og sæt om nødvendigt låg på de prøverør, der opfylder det påkrævede mindstevolumen, til fremtidig brug Rengør instrumentet: • Udtag tomme miniracks til kontroller • Udtag tom(me) testspecifik(ke) reagenskassette(r) • Tøm skuffe til amplifikationsplader • Tøm flydende affald • Tøm fast affald

Figur 3 cobas® HBV-testproceduren på cobas® 6800/8800-systemerne

1	Log på systemet Tryk på Start for at forberede systemet Bestil test
2	Genopfyld reagenser og forbrugsartikler som angivet af systemet: • Indsæt den testspecifikke reagenskassette • Indsæt kontrolkassetter • Indsæt pipettespidser • Indsæt processeringsplader • Indsæt MGP-reagens • Indsæt amplifikationsplader • Genopfyld prøvediluent • Genopfyld lysisreagens • Genopfyld vaskereagens
3	Indsættelse af prøver i systemet: • Indsæt prøverackene og rackene til clottede spidser i prøveforsyningsmodulet • Bekræft, at prøverne er blevet accepteret i transfermodulet
4	Start kørslen ved at vælge knappen til manuel start (Start manually) i brugerinterfacet, eller få den til at starte automatisk efter 120 minutter, eller hvis batchen er fuld
5	Gennemse og eksportér resultater
6	Fjern og sæt om nødvendigt låg på de prøverør, der opfylder det påkrævede mindstevolumen, til fremtidig brug Rengør instrumentet: • Udtag tomme kontrolkassetter • Tøm skuffe til amplifikationsplader • Tøm flydende affald • Tøm fast affald

Resultater

cobas® 5800- og cobas® 6800/8800-systemerne 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 på cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 2.0 eller nyere

- Én negativ kontrol, cobas® NHP Negative Control [(-) C], og to positive kontroller, cobas® HBV/HCV/HIV-1 Positive Controls, en lav positiv kontrol [HxV L (+) C] og en høj positiv kontrol [HxV H (+) C] behandles mindst hver 72 time eller med hvert nye kitlot. Positive og/eller negative kontroller kan planlægges til at udføres oftere på baggrund af laboratorieprocedurer og/eller lokale bestemmelser.
- I softwaren og/eller rapporten skal der kontrolleres for flagmarkeringer og deres tilhørende resultater for at sikre validiteten af batchen (se brugerassistancen til x800 Data Manager for en "Liste over flagkoder").
- Resultaterne af kontrollerne vises i appen "Controls" i softwaren.
- Kontrollen er markeret med "Valid" i kolonnen "Control result" (Kontrolresultat), hvis det pågældende target for kontrollen rapporteres som værende validt. Kontroller er markeret med "Invalid" i kolonnen "Control result", hvis det pågældende target for kontrollen rapporteres som værende invalidt.
- Kontroller, der er markeret med "Invalid", viser en markering i kolonnen "Flags". Der er flere oplysninger om, hvorfor kontrollen rapporteres som invalid, herunder oplysninger om flag, i detaljevisningen.
- Hvis én af kontrollerne er invalid, skal testen af alle kontroller og alle tilhørende prøver gentages.

Resultater valideres automatisk af instrumentsoftwaren på baggrund af kontrolresultaterne.

Bemærk! cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 2.0 eller nyere leveres med standardindstillingen til kørsel af et sæt kontroller (positive og negative) med hver kørsel men kan konfigureres til at udføres med længere intervaller op til hver 72. time på baggrund af laboratorieprocedurer og/eller lokale bestemmelser. Kontakt en servicetekniker fra Roche og/eller Roches tekniske kundesupport for at få flere oplysninger.

Kvalitetskontrol og validitet af resultater på cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 1.4

- Én negativ kontrol, cobas® NHP Negative Control [(-) C], og to positive kontroller, cobas® HBV/HCV/HIV-1 Positive Controls, en lav positiv kontrol [HxV L (+) C] og en høj positiv kontrol [HxV H (+) C] behandles med hver batch.
- I softwaren og/eller rapporten kontrolleres for flag og deres tilhørende resultater for at sikre, at batchen er valid.
- Alle flag beskrives i brugerassistance til cobas® 6800/8800-systemerne.
- Batchen er valid, hvis der ingen flag vises for alle kontrollerne. Hvis batchen er invalid, er det påkrævet at gentage testen af hele batchen.

Resultater valideres automatisk af instrumentsoftwaren på baggrund af kontrolresultaterne.

Kontrollflagmarkeringer på cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 1.4

Tabel 13 Kontrollflagmarkeringer for negative og positive kontroller

Negativ kontrol	Flag	Resultat	Fortolkning
(-) C	Q02 (Kontrolbatch mislykkedes)	Invalid	Et invalidd resultat eller det beregnede titerresultat for den negative kontrol er ikke negativt.
Positiv kontrol	Flag	Resultat	Fortolkning
HxV L (+) C	Q02 (Kontrolbatch mislykkedes)	Invalid	Et invalidd resultat, eller det beregnede titerresultat for den lave positive kontrol er ikke inden for det tildelte interval.
HxV H (+) C	Q02 (Kontrolbatch mislykkedes)	Invalid	Et invalidd resultat, eller det beregnede titerresultat for den høje positive kontrol er ikke inden for det tildelte interval.

Fortolkning af resultater for cobas® 5800/6800/8800-systemerne

For en valid kontrolbatch skal hver enkelt prøve kontrolleres for flagmarkeringer i cobas® 5800- og cobas® 6800/8800-systemsoftwaren og/eller -rapporter. Resultatfortolkningen skal være som følger:

- En valid batch kan indeholde både valide og invalide prøveresultater.

Tabel 14 Target-resultater for individuel target-resultatfortolkning

Resultater	Fortolkning
Target Not Detected	HBV DNA ikke påvist. Rapportresultater som "HBV ikke påvist".
< Titer Min	Den beregnede titer er under den nedre kvantificeringsgrænse (LLoQ) for analysen. Rapportér resultaterne som "HBV påvist, under (titer min.)". Titer min. = 10 IE/ml (500 µl) Titer min. = 25 IE/ml (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) i HBV påvist".
> Titer Max ^a	Den beregnede titer er over den øvre kvantificeringsgrænse (ULoQ) for analysen. Rapportér resultaterne som "HBV påvist, større end (titer maks.)". Titer maks. = 1,00E+09 IE/ml (500 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.

Fortolkning af resultater på cobas® 5800-systemet og cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 2.0 eller nyere

Resultaterne af prøverne vises i appen "Results" i softwaren.

For en valid kontrolbatch skal hver enkelt prøve kontrolleres for flag i softwaren og/eller rapporten. Resultatfortolkningen skal være som følger:

- Prøver, der er tilknyttet en valid kontrolbatch, vises som "Valid" i kolonnen "Control result", hvis alle target-resultater for kontrollen rapporteres som valide. Prøver, der er tilknyttet en mislykket kontrolbatch, vises som "Invalid" i kolonnen "Control result", hvis alle target-resultater for kontrollen rapporteres som invalide.
- Hvis de tilhørende kontroller for et prøveresultat er invalide, bliver følgende specifikke flag føjet til prøve-resultatet:
 - Q05D: Fejl i resultatvalidering på grund af en invalid positiv kontrol
 - Q06D: Fejl i resultatvalidering på grund af en invalid negativ kontrol
- Værdierne i kolonnen "Results" (Resultater) for individuelt target-resultat af prøven skal fortolkes som vist i Tabel 14 ovenfor.
- Hvis et eller flere prøve-targets er markeret med "Invalid", viser softwaren et flag i kolonnen "Flags". Der er flere oplysninger om, hvorfor prøve-target(s) rapporteres som invalid(e), herunder oplysninger om flag, i detaljevisningen.

Fortolkning af resultater på cobas® 6800/8800-systemerne med softwareversion 1.4

For en valid batch skal hver enkelt prøve kontrolleres for flag i softwaren og/eller rapporten. Resultatfortolkningen skal være som følger:

- Prøver markeres med "Yes" i kolonnen "Valid", hvis alle rekvirerede target-resultater blev rapporteret som valide resultater. Prøver, der er markeret med "No" i kolonnen "Valid", kan kræve yderligere fortolkning og handling.
- Værdierne for et individuelt target-resultat af prøven skal fortolkes som vist i Tabel 14 ovenfor.

Begrænsninger ved procedureerne

- **cobas® HBV** er kun evalueret til brug sammen med **cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit**, **cobas® NHP Negative Control Kit**, **cobas® omni MGP Reagent**, **cobas® omni Lysis Reagent**, **cobas® omni Specimen Diluent** og **cobas® omni Wash Reagent** til brug på **cobas® 5800/6800/8800-systemerne**.
- Pålidelige resultater er afhængige af korrekte procedurer til opsamling, opbevaring og håndtering af prøver.
- Denne test er kun valideret til brug med EDTA-plasma og serum. Test af andre prøvetyper kan medføre unøjagtige resultater.
- 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.
- Selvom de er sjældne, kan mutationer i de bedst konserverede områder i virusgenet, som er dækket af **cobas® HBV**, påvirke primer- og/eller probebinding, hvilket medfører underkvantificering af eller manglende evne til at detektere virussen.
- På grund af naturlige forskelle mellem teknologier anbefales det, at brugeren udfører metodekorrelationsundersøgelser i laboratoriet for at påvise teknologiske forskelle, før der skiftes fra én teknologi til en anden. Brugerne bør følge de aktuelle politikker/procedurer.
- **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.

Evaluering af ikke-klinisk performance

Systemækvivalens

Systemækvivalensen for cobas® 5800-, cobas® 6800- og cobas® 8800-systemerne blev påvist via performance-undersøgelser.

De data, der er præsenteret i brugsanvisningen, understøtter tilsvarende ækvivalent performance for alle systemer.

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 (WHO International Standard) for Hepatitis B-virus DNA for nukleinsyreamplifikationsteknologiske analyser (2. internationale WHO-standard, NIBSC-kode 97/750) genotype A opnået fra National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC), i HBV-negativt EDTA-plasma og serum ved hjælp af prøvebehandlingsvolumener på 500 µl og 200 µl. Paneler med otte koncentrationsniveauer samt en negativ blev testet for prøvebehandlingsvolumener på 500 µl, og ni koncentrationsniveauer for prøvebehandlingsvolumener på 200 µl ved hjælp af tre lot af cobas® HBV-testreagenser, flere kørsler, dage, brugere og instrumenter.

Resultaterne for EDTA-plasma og serum fra begge prøvebehandlingsvolumener er vist i hhv. Tabel 15 til Tabel 18. Undersøgelsen påviser, at cobas® HBV detekterede HBV DNA ved en koncentration på 3 IE/ml med en hit rate på ≥ 95 % for prøvebehandlingsvolumenen på 500 µl og ved en koncentration på 17,5 IE/ml med en hit rate på ≥ 95 % for prøvebehandlingsvolumenen på 200 µl i EDTA-plasma. For serum påviser undersøgelsen, at cobas® HBV detekterede HBV DNA ved en koncentration på 3 IE/ml med en hit rate på ≥ 95 % for prøvebehandlingsvolumenen på 500 µl og ved en koncentration på 15 IE/ml med en hit rate på ≥ 95 % for prøvebehandlingsvolumenen på 200 µl.

Tabel 15 Detektionsgrænse i EDTA-plasma (500 µl)

Koncentration i inputtiter (HBV DNA IE/ml)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %
20,0	189	189	100,00
10,0	189	189	100,00
8,0	189	189	100,00
6,0	189	189	100,00
5,0	189	188	99,47
4,0	189	185	97,88
3,0	189	183	96,83
2,0	189	166	87,83
LoD via PROBIT ved 95 % hit rate	2,7 IE/ml 95 % konfidensinterval: 2,4-3,1 IE/ml		

Tabel 16 Detektionsgrænse i serum (500 µl)

Koncentration i inputtiter (HBV DNA IE/ml)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %
20,0	189	189	100,00
10,0	189	189	100,00
8,0	189	189	100,00
6,0	189	189	100,00
5,0	189	188	99,47
4,0	189	186	98,41
3,0	189	187	98,94
2,0	189	172	91,01
LoD via PROBIT ved 95 % hit rate	2,4 IE/ml 95 % konfidensinterval: 2,0-2,7 IE/ml		

Tabel 17 Detektionsgrænse i EDTA-plasma (200 µl)

Koncentration i inputtiter (HBV DNA IE/ml)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %
50,0	189	189	100,00
30,0	189	189	100,00
25,0	189	188	99,47
20,0	189	189	100,00
17,5	189	182	96,30
15,0	189	179	94,71
12,5	189	170	89,95
10,0	189	142	75,13
5,0	189	87	46,03
LoD via PROBIT ved 95 % hit rate	15,5 IE/ml 95 % konfidensinterval: 14,4-16,9 IE/ml		

Tabel 18 Detektionsgrænse i serum (200 µl)

Koncentration i inputtiter (HBV DNA IE/ml)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %
50,0	189	189	100,00
30,0	189	189	100,00
25,0	189	189	100,00
20,0	189	187	98,94
17,5	189	189	100,00
15,0	189	184	97,35
12,5	189	174	92,06
10,0	189	170	89,95
5,0	189	107	56,61
LoD via PROBIT ved 95 % hit rate	12,5 IE/ml 95 % konfidensinterval: 11,6–13,8 IE/ml		

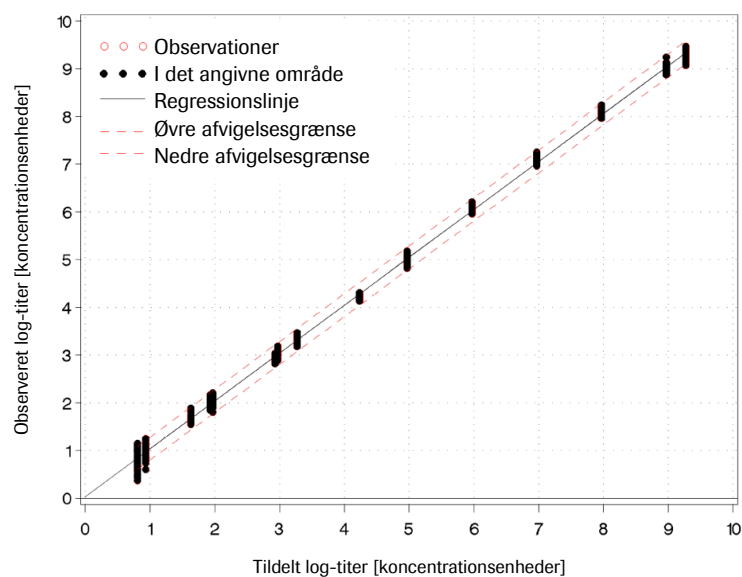
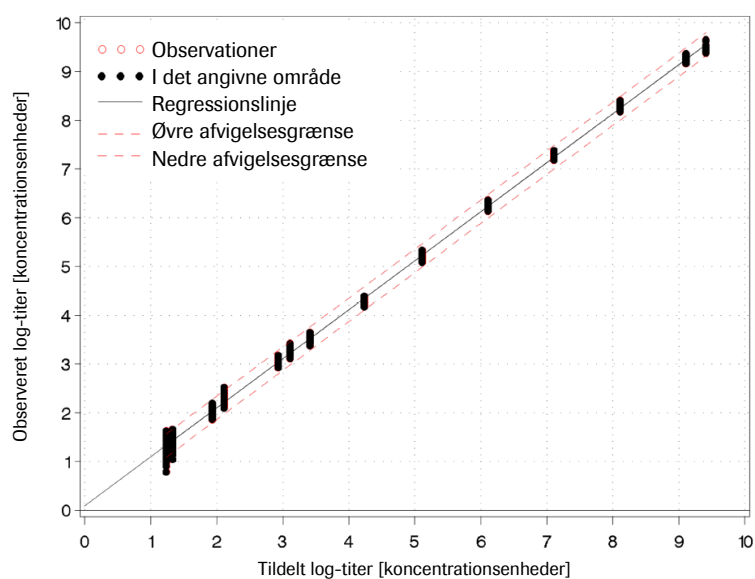
Lineært interval

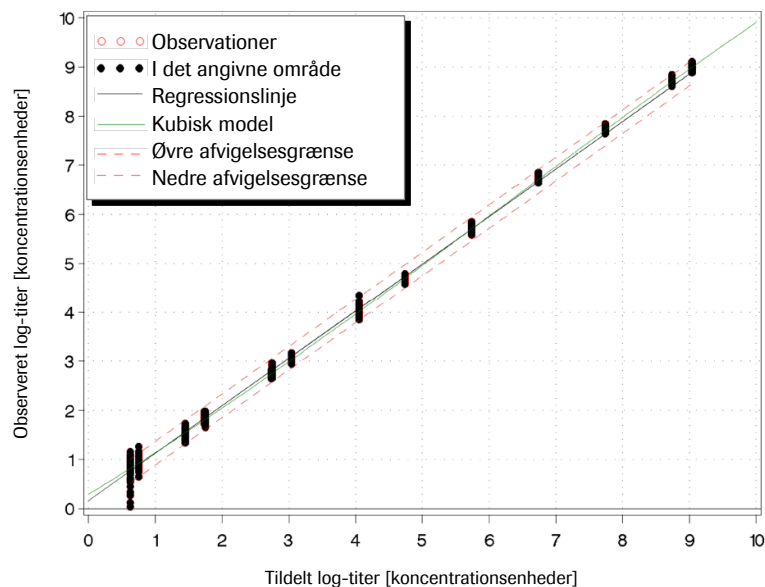
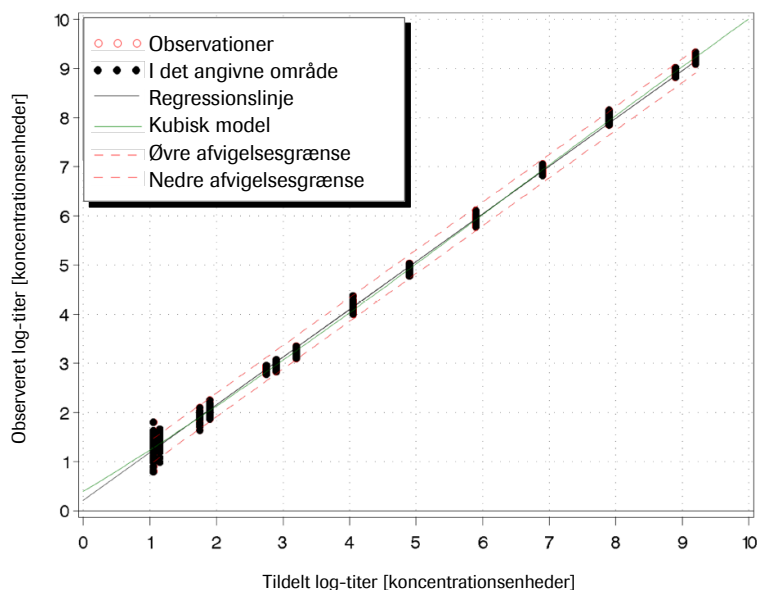
Linearitetsundersøgelsen af **cobas**® HBV blev udført med en fortyndingsserie bestående af 15 panelmedlemmer, der spænder over det lineære område for den mest udbredte genotype (GT A). Panelmedlemmer med høj titer blev forberedt fra en plasmid HBV DNA-stamopløsning med høj titer, hvorimod panelmedlemmer med lav titer blev forberedt fra en klinisk prøve. Linearitetspanelet blev fremstillet til at have et overlap på ca. 2 log₁₀ titer mellem de to materialekilder. Det forventede lineære interval for **cobas**® HBV er fra LLoQ (10 IE/ml i prøvebehandlingsvolumenen på 500 µl og 25 IE/ml i prøvebehandlingsvolumenen på 200 µl) til ULoQ (1,00E+09 IE/ml). Linearitetspanelet blev fremstillet til en koncentration fra under LLoQ (f.eks. 7,5 IE/ml) til et koncentrationsniveau på over ULoQ (f.eks. 2,0E+09 IE/ml) og til at inkludere medicinske beslutningspunkter. Derudover blev linearitetspanelet fremstillet til delvis understøttelse af trin på 1,0 log₁₀ i hele det lineære interval. For hvert panelmedlem blev der angivet en nominel koncentration i IE/ml samt kilden til HBV DNA.

Med en behandlingsvolumen på 500 µl er **cobas**® HBV lineær for EDTA-plasma og serum fra 10 IE/ml til 1,00E+09 IE/ml og viser en absolut afvigelse fra den mere passende ikke-lineære regression på mindre end ±0,2 log₁₀. På tværs af det lineære område var testens nøjagtighed inden for ±0,24 log₁₀.

Med en behandlingsvolumen på 200 µl er **cobas**® HBV lineær for EDTA-plasma og serum fra 25 IE/ml til 1,00E+09 IE/ml og viser en absolut afvigelse fra den mere passende ikke-lineære regression på mindre end ±0,2 log₁₀. På tværs af det lineære område var testens nøjagtighed inden for ±0,24 log₁₀.

Se Figur 4 til Figur 7 for repræsentative resultater.

Figur 4 Bestemmelse af lineært område i EDTA-plasma (500 µl)**Figur 5** Bestemmelse af lineært område i EDTA-plasma (200 µl)

Figur 6 Bestemmelse af lineært område i serum (500 µl)**Figur 7** Bestemmelse af lineært område i serum (200 µl)

Præcision – intra-laboratorium

Præcisionen af **cobas**® HBV blev bestemt ved at analysere serielle fortyndinger af kliniske HBV-prøver (genotype A) (CS) og af plasmid HBV DNA i HBV-negativt EDTA-plasma og i serum. Ti til 12 fortyndingsniveauer blev testet i 48 bestemmelser for hvert niveau og hver behandlingsvolumen med tre lot med **cobas**® HBV-testreagenser ved hjælp af tre instrumenter og tre brugere over 12 dage. Hver af prøverne blev kørt igennem hele **cobas**® HBV-testproceduren på fuldautomatiske **cobas**® 6800/8800-systemer. Den angivne præcision repræsenterer derfor alle aspekter af testproceduren. Resultaterne vises i Tabel 19 til og med Tabel 22.

cobas® HBV viste høj præcision for tre lot med reagenser, der blev testet på tværs af et koncentrationsområde på 5,00E+01 IE/ml til 1,0E+09 IE/ml med en prøvebehandlingsvolumen på 500 µl og 1,00E+02 IE/ml til 1,0E+08 IE/ml (EDTA-plasma) og 1,0E+09 IE/ml (serum) med en prøvebehandlingsvolumen på 200 µl.

Tabel 19 Præcision i laboratoriet for **cobas® HBV** (EDTA-plasmaprøver – behandlingsvolumen på 500 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
1,00E+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	Klinisk prøve	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	Klinisk prøve	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	Klinisk prøve	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	Klinisk prøve	0,09	0,04	0,08	0,08

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

Tabel 20 Præcision i laboratoriet for **cobas® HBV** (serumprøver – behandlingsvolumen på 500 µl)*

Nominel koncentration (IE/ml)	Tildelt koncentration (IE/ml)	Kildemateriale	Serum			
			Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alle lot
			SD	SD	SD	Poolet SD
1,00E+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	Klinisk prøve	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	Klinisk prøve	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	Klinisk prøve	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	Klinisk prøve	0,07	0,06	0,10	0,08

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

Tabel 21 Præcision i laboratoriet for **cobas®** HBV (EDTA-plasmaprøver – behandlingsvolumen 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
1,00E+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	Klinisk prøve	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	Klinisk prøve	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	Klinisk prøve	0,09	0,09	0,07	0,09
1,00E+02	1,28E+02	Plasmid-DNA	0,06	0,09	0,11	0,09

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

Tabel 22 Præcision i laboratoriet for **cobas®** HBV (serumprøver – behandlingsvolumen 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
1,00E+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	Klinisk prøve	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	Klinisk prøve	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	Klinisk prøve	0,09	0,10	0,07	0,09
1,00E+02	7,92E+01	Plasmid-DNA	0,08	0,09	0,09	0,08

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

Genotypebestemmelse og -verificering

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

- Bestemmelse af detektionsgrænsen for genotyperne B til og med H samt den mest udbredte præ-core-mutant med EDTA-plasma og serum for en behandlingsvolumen på 500 µl
- Verificering af detektionsgrænsen for genotyperne B til og med H samt den mest udbredte præ-core-mutant med EDTA-plasma og serum for en behandlingsvolumen på 200 µl
- Verificering af lineariteten for genotyperne B til og med H samt den mest udbredte præ-core-mutant

Detektionsgrænsen for genotyperne B til og med H samt den mest udbredte præ-core-mutant

Detektionsgrænsen for **cobas**® HBV blev bestemt ved at analysere serielle fortyndinger af syv forskellige genotyper (B, C, D, E, F, G, H) samt den mest udbredte præ-core-mutant (G1896A, C1858T) i HBV-negativt humant EDTA-plasma og serum ved hjælp af prøvebehandlingsvolumener på 500 µl. Paneler med otte koncentrationsniveauer samt en negativ blev testet ved hjælp af tre lot med **cobas**® HBV-testreagenser, med flere kørsler, dage, brugere og instrumenter.

Resultaterne for EDTA-plasma og serum for behandlingsvolumenen på 500 µl er vist i hhv. Tabel 23 og Tabel 24. Undersøgelsen påviste, at **cobas**® HBV detekterede alle de HBV-genotyper, der blev testet med en tilsvarende LoD, som HBV-genotype A.

Tabel 23 Detektionsgrænse for HBV DNA-genotyper i EDTA-plasma (500 µl)

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

Tabel 24 Detektionsgrænse for HBV DNA-genotyper i serum (500 µl)

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

Verificering af detektionsgrænsen for genotyperne B til og med H samt den mest udbredte præ-core-mutant

Kliniske HBV DNA-prøver fra alle genotyper (B, C, D, E, F, G, H) samt den mest udbredte præ-core-mutant (G1896A, C1858T) blev fortyndet til tre forskellige koncentrationsniveauer i EDTA-plasma og serum. Hit rate-bestemmelsen blev udført med 63 bestemmelser for hvert niveau. Testen blev foretaget med tre lot af **cobas**® HBV-reagenser. Resultaterne for EDTA-plasma og serum med 200 µl er vist i Tabel 25 og Tabel 26. Disse resultater bekræfter, at **cobas**® HBV detekterede HBV DNA for de syv forskellige genotyper og den mest udbredte præ-core-mutant ved koncentrationer på 12,50 IE/ml med en hit rate på $\geq 93,65$ % med et øvre ensidet 95 % konfidensinterval på 97,80 %.

Tabel 25 Verificering af detektionsgrænse for HBV DNA-genotyper i EDTA-plasma (200 µl)

Genotype	6,25 IE/ml			12,50 IE/ml			18,75 IE/ml		
	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i % (95 % CI*)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i % (95 % CI*)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i % (95 % CI*)
B	63	51	80,95 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
C	63	45	71,43 (80,65)	63	62	98,41 (99,92)	62	62	100,00 (100,00)
D	61	49	80,33 (88,24)	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)
Præ-core-mutant	63	54	85,71 (92,34)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)

* Øvre ensidet 95 % konfidensinterval

Tabel 26 Verificering af detektionsgrænse for HBV DNA-genotyper i serum (200 µl)

Genotype	6,25 IE/ml			12,50 IE/ml			18,75 IE/ml		
	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i % (95 % CI*)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i % (95 % CI*)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i % (95 % CI*)
B	63	51	80,95 (88,63)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
C	63	54	85,71 (92,34)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
D	63	53	84,13 (91,13)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
E	63	54	85,71 (92,34)	62	62	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
F	63	59	93,65 (97,80)	63	63	100,00 (100,00)	62	62	100,00 (100,00)
G	63	59	93,65 (97,80)	62	62	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
H	63	47	74,60 (83,37)	63	61	96,83 (99,43)	63	62	98,41 (99,92)
Præ-core-mutant	63	60	95,24 (98,69)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)

* Øvre ensidet 95 % konfidensinterval

Linearitet for genotyperne B til og med H samt den mest udbredte præ-core-mutant

Den fortyndingsserie, der bruges ved verificering af linearitetsundersøgelsen af genotyper i **cobas**® HBV, består af 10 panelmedlemmer, der spænder over det tiltænkte lineære område. Panelmedlemmer med høj titer blev forberedt fra en plasmid DNA-stamopløsning med høj titer, hvorimod panelmedlemmer med lav titer blev forberedt fra en klinisk prøve med høj titer. Linearitetspanelet blev fremstillet til at have et overlap på ca. 2 log₁₀ titer mellem de to materialekilder. Det lineære område for **cobas**® HBV spænder fra under LLoQ (10 IE/ml for en prøvebehandlingsvolumen på 500 µl, 25 IE/ml for en prøvebehandlingsvolumen på 200 µl) til ULoQ (1,00E+09 IE/ml) og omfattede mindst ét medicinsk beslutningspunkt. Der blev testet enogtyve bestemmelser på tværs af tre lot med **cobas**® HBV-reagens for hvert niveau i EDTA-plasma og serum.

Lineariteten inden for det lineære område for **cobas**® HBV blev bekræftet for alle syv genotyper (B, C, D, E, F, G, H) samt den mest udbredte præ-core-mutant (G1896A, C1858T). Den maksimale afvigelse mellem den lineære regression og den mere passende ikke-lineære regression var lig med eller mindre end ±0,2 log₁₀.

Specificitet

Specificiteten for cobas® HBV blev bestemt ved at analysere HBV-negative EDTA-plasma- og serumprøver fra individuelle donorer. Trehundrede individuelle EDTA-plasma- og 300 individuelle serumprøver (i alt 600 resultater) blev testet med tre lot med cobas® HBV-reagenser. Alle prøver blev testet negative for HBV DNA. I testpanelet var specificiteten for cobas® HBV 100 % (med et ensidet 95 % konfidensinterval på 99,5 %).

Analytisk specificitet

Den analytiske specificitet for cobas® HBV blev evalueret ved at fortynde et panel af mikroorganismer med HBV DNA-positivt og HBV DNA-negativt EDTA-plasma. Mikroorganismene blev føjet til negativt humant EDTA-plasma og testet med og uden HBV DNA. Ingen af ikke-HBV-patogenerne interfererede med testens performance. Negative resultater blev bestemt ved hjælp af cobas® HBV for alle mikroorganismer uden HBV-target, og positive resultater blev bestemt på alle mikroorganismeprøver med HBV-target. Derudover var den gennemsnitlige log₁₀-titer for hver af de positive HBV-prøver, der indeholdt potentielt krydsreagerende organismer, inden for $\pm 0,3$ log₁₀ af den gennemsnitlige log₁₀-titer for den pågældende positive berigede kontrol.

Tabel 27 Mikroorganismer, der er testet for krydsreaktivitet

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

Analytisk specificitet – interfererende stoffer

Høje niveauer af triglycerider (34,5 g/l), konjugeret bilirubin (0,25 g/l), ukonjugeret bilirubin (0,25 g/l), albumin (58,7 g/l), hæmoglobin (2,9 g/l) og humant DNA (2 mg/l) i prøver blev testet ved tilstedeværelse og fravær af HBV DNA. De testede endogene interferenser udviste ingen interferens med testens performance for cobas® HBV.

Derudover blev der testet for tilstedeværelsen af autoimmune sygdomme, som f.eks. systemisk lupus erythematosus (SLE), rheumatoid arthritis (RA) og antinukleært antistof.

Derudover blev de lægemiddelstoffer, der er angivet i Tabel 28, testet ved 3 gange C_{max} ved tilstedeværelse og fravær af HBV DNA.

Alle potentielt interfererende stoffer viste 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 log₁₀-titer for hver af de positive HBV-prøver, der indeholdte potentielt interfererende stoffer, inden for $\pm 0,5$ log₁₀ af den gennemsnitlige log₁₀-titer for den pågældende positive berigelseskontrol.

Tabel 28 Lægemiddelstoffer, der er testet for interferens med kvantificeringen af HBV DNA ved hjælp af cobas® HBV

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

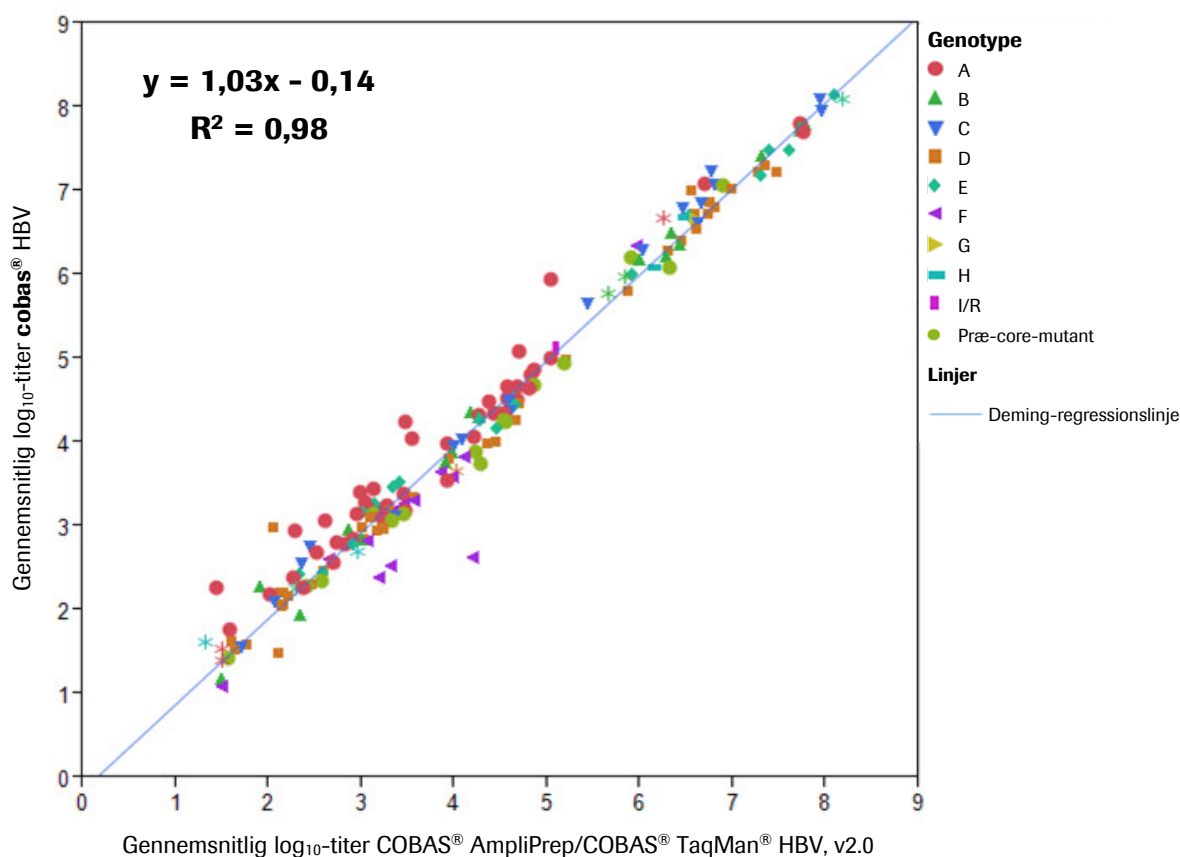
Metodekorrelation

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

Performance for cobas® HBV og COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV Test, v2.0 (TaqMan® HBV Test, v2.0) blev sammenlignet ved analyse af EDTA-plasma- og serumprøver fra HBV-inficerede patienter. I alt var 103 EDTA-plasma- og 85 serumprøver på tværs af alle HBV-genotyper, analyseret som dobbeltbestemmelse, valide og inden for kvantificeringsintervallet for begge test. Der blev foretaget en Deming-regressionsanalyse. Den gennemsnitlige titer-afvigelse for de prøver, der blev testet med to test, var $-0,03 \log_{10}$.

Deming-regressionsresultaterne vises i Figur 8.

Figur 8 Regressionsanalysen i cobas® HBV ift. TaqMan® HBV Test, v2.0, EDTA-plasma og serumprøver

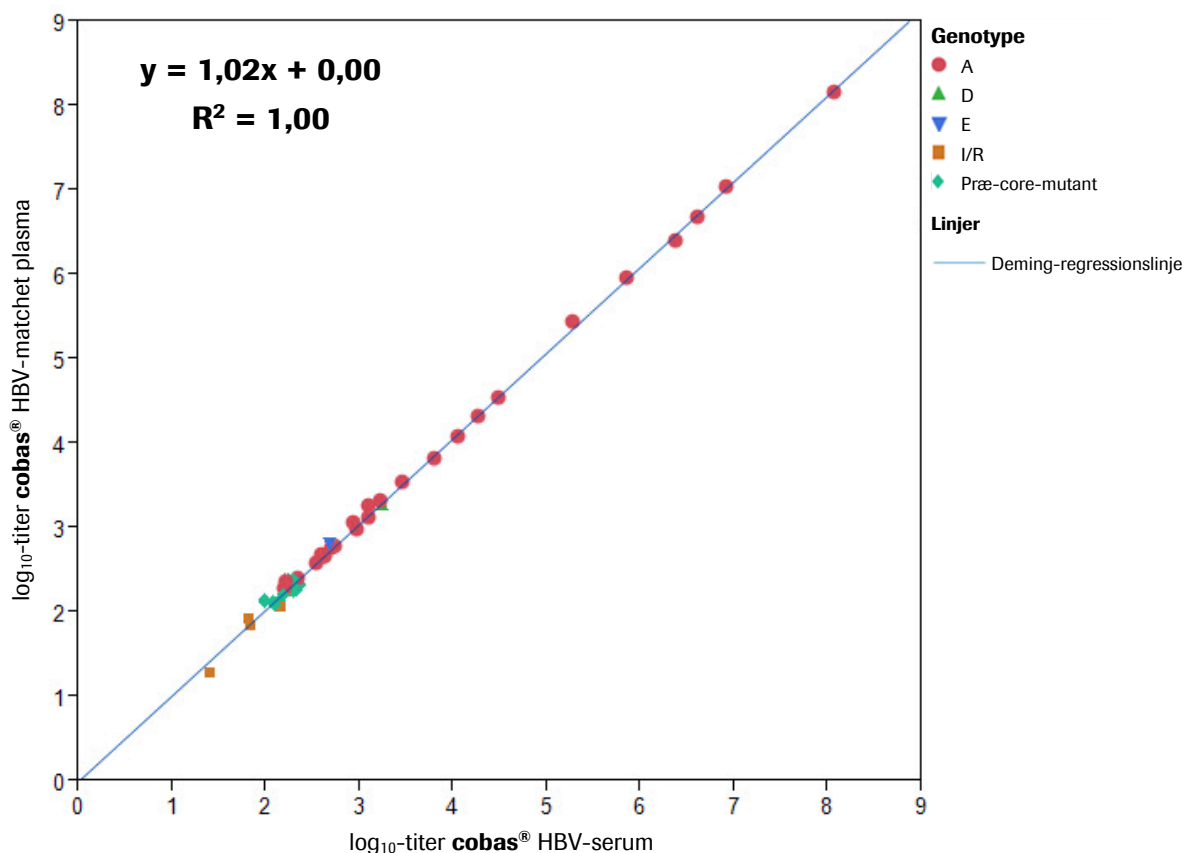


Matrix-ækvivalens – EDTA-plasma ift. serum

Halvtreds kombinerede EDTA-plasma- og serumprøver blev analyseret for matrix-ækvivalens. De HBV-positive prøver dækkede de fleste genotyper og havde titre på tværs af hele det lineære område.

Matrix-ækvivalensen blev påvist i de testede prøver med en gennemsnitlig titer-afvigelse på 0,05 log₁₀ (Figur 9).

Figur 9 Performance for matrix-ækvivalens mellem EDTA-plasma og serum



Systemfejlfrekvens

Systemfejlfrekvensen for cobas® HBV blev bestemt ved at teste 100 bestemmelser af EDTA-plasma og 100 bestemmelser af serum beriget med HBV for i alt 200 bestemmelser. Disse prøver blev testet ved en target-koncentration på ca. $3 \times \text{LoD}$. Undersøgelsen blev udført ved hjælp af cobas® 6800-systemet.

Resultaterne af denne undersøgelse viste, at alle bestemmelser var reaktive for hvert target, hvilket medførte en generel systemfejlfrekvens på 0 %. Det tosidede eksakte 95 % konfidensinterval var 0 % for den nedre grænse og 3,62 % for den øvre grænse for hver matrix [0 %: 3,62 %].

Krydskontaminering

Krydskontamineringsforholdet for **cobas**® HBV blev bestemt ved at teste 240 bestemmelser af en normal, virusnegativ (HIV, HCV og HBV) human EDTA-plasmaprøve og 225 bestemmelser af en HBV-prøve med høj titer ved $1,00\text{E}+09$ IE/ml. I alt blev der udført fem kørsler med positive og negative prøver i en checkerboard-konfiguration.

Alle 240 bestemmelser af den negative prøve var ikke-reaktive, hvilket medførte et krydskontamineringsforhold på 0 %. Det tosidede eksakte 95 % konfidensinterval var 0 % for den nedre grænse og 1,53 % for den øvre grænse [0 %: 1,53 %].

Evaluering af klinisk performance

Undersøgelse af repetérbarhed

Reproducerbarheden og lot-til-lot-variationen for **cobas**® HBV blev evalueret i EDTA-plasma på **cobas**® 6800-systemet ved hjælp af en blandet model til at vurdere den samlede varians.

Evalueringresultaterne er opsummeret i Tabel 29 til og med Tabel 32 nedenfor.

Lot-til-lot-variation

Lot-til-lot-variationen blev udført for genotyperne A og C på én testlokalitet ved hjælp af tre reagenslot. To brugere på lokaliteten testede hvert lot over seks dage. Der blev udført to kørsler hver dag.

Tabel 29 herunder viser tildelte totale variationsprocenter, samlede præcisionsstandardafvigelser (SD'er) og lognormal variationskoefficient (CV'er) efter genotype og forventet log₁₀ HBV DNA-koncentration for **cobas**® 6800-systemet.

Tabel 29 Tildelt total variationsprocent, samlet præcisionsstandardafvigelse og lognormal CV (%) for HBV DNA-koncentration (log₁₀ IE/ml) efter genotype og positivt panelmedlem (lot-til-lot) på **cobas**® 6800-systemet (reproducerbarhed)

-	HBV DNA-koncentration (log ₁₀ IE/ml)		-	Bidrag til samlet variation (lognormal CV (%))					Samlet præcision	
Genotype	Forventet	Observeret gennemsnit ^a	Antal tests ^b	Lot	Bruger	Dag	Kørsel	Intraseriel kørsel	SD ^c	Lognormal CV (%) ^d
A	1,48	1,50	107	13 % (12,90)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	87 % (34,68)	0,157	37,27
	2,70	2,72	108	52 % (11,96)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	48 % (11,56)	0,072	16,69
	3,70	3,64	108	60 % (14,29)	0 % (0,00)	4 % (3,55)	1 % (1,57)	36 % (11,01)	0,080	18,53
	4,70	4,65	107	47 % (13,05)	0 % (0,00)	3 % (3,22)	1 % (2,32)	49 % (13,29)	0,082	19,14
	5,70	5,67	107	53 % (13,66)	2 % (2,59)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	45 % (12,54)	0,081	18,80
	6,70	6,71	105	50 % (11,66)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	5 % (3,82)	44 % (10,92)	0,071	16,48
	7,70	7,41	108	55 % (13,08)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	4 % (3,59)	40 % (11,18)	0,076	17,65
	8,70	8,41	107	51 % (12,52)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	10 % (5,61)	38 % (10,75)	0,075	17,51

-	HBV DNA-koncentration (log ₁₀ IE/ml)		-	Bidrag til samlet variation (lognormal CV (%))					Samlet præcision	
Genotype	Forventet	Observeret gennemsnit ^a	Antal tests ^b	Lot	Bruger	Dag	Kørsel	Intraseriel kørsel	SD ^c	Lognormal CV (%) ^d
C	1,48	1,49	107	23 % (13,62)	1 % (2,83)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	76 % (25,26)	0,124	29,05
	2,70	2,71	105	53 % (13,92)	2 % (2,63)	3 % (3,48)	0 % (0,00)	41 % (12,27)	0,082	19,16
	3,70	3,64	107	61 % (11,67)	0 % (0,00)	0 % (0,80)	0 % (0,00)	39 % (9,37)	0,065	15,02
	4,70	4,65	106	47 % (11,44)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	53 % (12,25)	0,073	16,82
	5,70	5,69	107	60 % (14,76)	0 % (0,00)	1 % (1,51)	0 % (0,00)	39 % (11,86)	0,082	19,08
	6,70	6,69	107	48 % (11,79)	0 % (0,00)	2 % (2,31)	0 % (0,00)	50 % (12,13)	0,074	17,14
	7,70	7,38	107	51 % (11,22)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	1 % (1,57)	48 % (10,94)	0,068	15,80
	8,70	8,42	106	56 % (13,92)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	4 % (3,54)	40 % (11,72)	0,080	18,62

Bemærk! Resultater med detekterbar virusbelastning er inkluderet i denne tabel. Resultater fra 1,0E+01 IE/ml til 1,0E+09 IE/ml er inden for analysens område.

^a Beregnet ved hjælp af SAS MIXED-proceduren.

^b Antal valide tests med detekterbar virusbelastning.

^c Beregnet ved brug af den samlede variabilitet fra SAS MIXED-proceduren.

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

CV (%) = variationskoefficient i procent; DNA = deoxyribonukleinsyre; HBV = hepatitis B-virus; SD = standardafvigelse; sqrt = kvadratrodd.

I Tabel 30 nedenfor var den negative procentoverensstemmelse (NPA) for cobas® 6800-systemet 100 % ved brug af negative tests fra panelmedlemmer.

Tabel 30 Negativ procentoverensstemmelse ved brug af det negative panelmedlem (lot-til-lot)

Forventet HBV DNA-koncentration	Antal valide test	Positive resultater	Negative resultater	Negativ procent-overensstemmelse ^a	95 % CI ^b
Negativt	106	0	106	100,00	(96,58, 100,00)

^a NPA = (antal negative resultater/samlet antal valide tests fra negativt panelmedlem) × 100.

^b Beregnet ved hjælp af metode med nøjagtigt Clopper-Pearson-binomialt konfidensinterval.

CI = konfidensinterval; DNA = deoxyribonukleinsyre; HBV = hepatitis B-virus; NPA = negativ procentoverensstemmelse.

Reproducerbarhed

Test af reproducerbarhed blev udført på tre lokaliteter for genotyperne A og C ved brug af ét reagenslot. To brugere i hvert laboratorium testede hvert lot over 6 dage. Der blev udført to kørsler hver dag.

Tabel 31 herunder viser tildelte totale variationsprocenter, samlede præcisions-SD'er og lognormale CV's efter genotype og forventet log₁₀ HBV DNA-koncentration på cobas® 6800-systemet.

Tabel 31 Tildelt total variationsprocent, samlet præcisionsstandardafvigelse og lognormal CV (%) for HBV DNA-koncentration (log₁₀ IE/ml) efter genotype og positivt panelmedlem (reproducerbarhed)

-	HBV DNA-koncentration (log ₁₀ IE/ml)		-	Bidrag til samlet variation (lognormal CV (%))					Samlet præcision	
Genotype	Forventet	Observeret gennemsnit ^a	Antal tests ^b	Sted	Bruger	Dag	Kørsel	Intraseriel kørsel	SD ^c	Lognormal CV (%) ^d
A	1,48	1,48	107	1 % (4,21)	0 % (0,00)	5 % (7,75)	1 % (3,56)	93 % (34,98)	0,153	36,41
	2,70	2,66	108	34 % (9,53)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	16 % (6,40)	50 % (11,52)	0,070	16,33
	3,70	3,60	108	34 % (7,49)	2 % (1,90)	7 % (3,42)	0 % (0,00)	56 % (9,58)	0,055	12,80
	4,70	4,62	107	13 % (5,40)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	12 % (5,28)	75 % (13,05)	0,065	15,12
	5,70	5,63	107	37 % (7,82)	1 % (1,26)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	62 % (10,04)	0,055	12,81
	6,70	6,67	106	20 % (5,99)	3 % (2,16)	4 % (2,57)	15 % (5,16)	60 % (10,48)	0,059	13,59
	7,70	7,37	108	3 % (2,70)	2 % (2,06)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	95 % (15,12)	0,067	15,50
	8,70	8,36	107	12 % (4,32)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	2 % (1,53)	86 % (11,46)	0,053	12,36

-	HBV DNA-koncentration (log ₁₀ IE/ml)		-	Bidrag til samlet variation (lognormal CV (%))					Samlet præcision	
Genotype	Forventet	Observeret gennemsnit ^a	Antal tests ^b	Sted	Bruger	Dag	Kørsel	Intraseriel kørsel	SD ^c	Lognormal CV (%) ^d
C	1,48	1,48	107	2 % (11,79)	1 % (7,06)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	97 % (84,30)	0,324	86,20
	2,70	2,67	105	19 % (5,94)	3 % (2,22)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	79 % (12,27)	0,060	13,84
	3,70	3,61	107	14 % (4,49)	0 % (0,00)	7 % (3,15)	0 % (0,00)	78 % (10,48)	0,051	11,84
	4,70	4,62	106	24 % (6,45)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	76 % (11,59)	0,057	13,29
	5,70	5,65	107	18 % (5,96)	0 % (0,00)	3 % (2,29)	0 % (0,00)	80 % (12,68)	0,061	14,22
	6,70	6,65	107	23 % (6,35)	6 % (3,26)	0 % (0,00)	1 % (1,33)	70 % (11,10)	0,057	13,29
	7,70	7,34	106	0 % (0,00)	3 % (2,38)	0 % (0,00)	13 % (5,12)	84 % (13,11)	0,062	14,30
	8,70	8,36	107	4 % (2,24)	0 % (0,00)	16 % (4,35)	10 % (3,46)	70 % (9,09)	0,047	10,91

Bemærk! Resultater med detekterbar virusbelastning er inkluderet i denne tabel. Resultater fra 1,0E+01 IE/ml til 1,0E+09 IE/ml er inden for analysens område.

^a Beregnet ved hjælp af SAS MIXED-proceduren.

^b Antal valide tests med detekterbar virusbelastning.

^c Beregnet ved brug af den samlede variabilitet fra SAS MIXED-proceduren.

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

CV (%) = variationskoefficient i procent; HBV = hepatitis B-virus; DNA = deoxyribonukleinsyre; SD = standardafvigelse; sqrt = kvadratrodd.

NPA var 100 % (106/106; 95 % CI: 96,58 % til 100 %) ved brug af tests fra negative panelmedlemmer på cobas® 6800-systemet som vist i Tabel 32 nedenfor.

Tabel 32 Negativ procentoverensstemmelse ved brug af det negative panelmedlem (reproducerbarhed) på cobas® 6800-systemet

Forventet HBV DNA-koncentration	Antal tests	Positive resultater	Negative resultater	Negativ procent-overensstemmelse ^a	95 % CI ^b
Negativt	106	0	106	100,00	(96,58, 100,00)

^a NPA = (antal negative resultater / samlet antal valide tests fra negativt panelmedlem) × 100.

^b Beregnet ved hjælp af metoden med nøjagtigt Clopper-Pearson-binomialt konfidensinterval.

CI = konfidensinterval; DNA = deoxyribonukleinsyre; HBV = hepatitis B-virus; NPA = negativ procentoverensstemmelse.

Klinisk anvendelighed

Undersøgelsen blev udviklet til at evaluere analysens evne til at forudsige det kliniske resultat.

Resterende prøver fra ca. 300 forsøgspersoner, som var randomiseret til at modtage behandling med entecavir og tenofovir eller kun entecavir i 100 uger under et farmaceutisk klinisk forsøg, blev testet. Derudover blev prøver fra ca. 70 kronisk HBV-inficerede forsøgspersoner med HBeAg (-) fra rutinemæssig klinisk praksis, som modtog behandling med tenofovir-monoterapi, testet (Tabel 33).

Tabel 33 Behandlingsgrupper

Klinisk undersøgelse	Status for HBeAg	Behandling	Behandlingsarm
Farmaceutisk klinisk forsøg ²¹	HBeAg (+)	entecavir-monoterapi	Arm I
		entecavir + tenofovir	Arm II
	HBeAg (-)	entecavir-monoterapi	Arm III (inkluderer op til 17 forsøgspersoner fra klinisk praksis)
		entecavir + tenofovir	Arm IV
Klinisk praksis	HBeAg (-)	tenofovir-monoterapi	Arm V

HBeAg = hepatitis B e-antigen.

Testningen med **cobas®** HBV blev udført på tre lokaliteter. Hver lokalitet var udstyret med ét **cobas®** 6800-system. Tre kitlot af reagenser blev brugt i undersøgelsen; hver prøve blev testet med ét kitlot. Tabel 34 herunder viser de demografiske egenskaber og baseline-egenskaberne for forsøgspersoner, hvis prøver blev testet på **cobas®** 6800-systemet, både HBeAg (+)- og HBeAg (-)-forsøgspersoner var inkluderet i denne undersøgelse, og data for disse populationer blev analyseret separat.

Tabel 34 Demografiske egenskaber og baseline-egenskaber for forsøgspersoner

Egenskaber	Statistik
Samlet, N	396
Alderskategori (år), n (%)	-
< 40	186 (47,0 %)
≥ 40	210 (53,0 %)
Alder (år)	-
Gennemsnit ± SD	42 ± 15,2
Median	42
Område	17-81
Køn, n (%)	-
Mænd	276 (69,7 %)
Kvinder	120 (30,3 %)

Egenskaber	Statistik
Race, n (%)	-
Asiatisk	204 (51,5 %)
Sort/afroamerikansk	14 (3,5 %)
Hvid/kaukasisk	169 (42,7 %)
Andet	9 (2,3 %)
Genotype, n (%)	-
A	64 (16,2 %)
A og G	1 (0,3 %)
B	62 (15,7 %)
C	74 (18,7 %)
D	105 (26,5 %)
E	4 (1,0 %)
F	10 (2,5 %)
Blandet	1 (0,3 %)
Ukendt	75 (18,9 %)
Normal ALAT ved baseline, n (%)	-
Ja	23 (5,8 %)
Nej	361 (91,2 %)
Ukendt	12 (3,0 %)
Baseline-ALAT (IE/I)	-
Gennemsnit ± SD	140 ± 169,9
Median	96
Område	14-1583
HBV DNA (log₁₀ IE/ml) ved baseline	-
Gennemsnit ± SD	6,6 ± 2,38
Median	7,4
Område	-0,0-10,1
HBV DNA-kategori, n (%)	-
< 2,0 × 10 ³ IE/ml	41 (10,4 %)
2,0 × 10 ³ til 2,0 × 10 ⁴ IE/ml	13 (3,3 %)
> 2,0 × 10 ⁴ IE/ml	330 (83,3 %)
Ukendt	12 (3,0 %)

ALAT = alaninaminotransferase; HBV = hepatitis B-virus; DNA = deoxyribonukleinsyre; SD = standardafvigelse.

Forudsigelse af respons på antiviralbehandling

Definitioner:

- Uge 12, virologisk respons (VR) = HBV DNA 2 log₁₀ fald fra baseline
- Uge 24, VR = HBV DNA < 2000 IE/ml (HBeAg (+)) eller < 50 IE/ml (HBeAg (-))
- Uge 48, VR = HBV DNA < 2000 IE/ml (HBeAg (+)) eller < 50 IE/ml (HBeAg (-))
- Uge 96, VR = HBV DNA < 50 IE/ml (VR endpoint)
- Intet VR endpoint = HBV DNA > 50 IE/ml i uge 96
- Biokemisk respons (BR) = normalisering af ALAT sammenlignet med baseline; ALAT for mænd < 30 IE/l og ALAT for kvinder < 19 IE/l
- HBeAg-tab = konvertering fra HBeAg (+)- til HBeAg (-)-status under terapi

Forudsigelse af virologisk respons i uge 96

I denne undersøgelse blev baseline-HBV DNA-koncentrationen og VR'er i uge 12, 24 og 48 af behandlingen brugt til at evaluere evnen til at forudsige resultatet (VR, BR eller HBeAg-tab) i uge 96 af terapien. VR96 (HBV DNA < 50 IE/ml) blev vurderet ved hjælp af HBV DNA-resultater fra en godkendt test.

Når cobas® HBV blev brugt til at måle HBV DNA, viste en baseline-HBV DNA-koncentration på < 10⁸ IE/ml og VR'er i uge 12, 24 og 48 sig at være yderst prædiktiv for VR96 for alle behandlingsarme i denne undersøgelse (PPV'er 79,6 % til 100 %) (Tabel 35 og Tabel 36 nedenfor).

Tabel 35 Sandsynlighed for at opnå virologisk respons i uge 96 ved baseline-HBV DNA < 10⁸ IE/ml efter behandlingsarm

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

Bemærkninger: Positiv prædiktiv værdi (PPV) = $SP / (SP + FP)$ eller sandsynligheden for at være VR96, hvis forsøgspersonen udviste virologisk respons under et specifikt besøg.

Negativ prædiktiv værdi (NPV) = $SN / (FN + SN)$ eller sandsynligheden for ikke at være VR96, hvis forsøgspersonen ikke udviste virologisk respons under et specifikt besøg.

Odds-forhold (OF) = $(SP \times SN) / (FP \times FN)$.

95 % CI'er for PPV og NPV beregnes på baggrund af Wilson Score-CI.

0,5 blev tilføjet til tomme celler (SP, SN, FP eller FN = 0) før beregning af OF og tilsvarende 95 % CI.

Uge 96 VR = HBV DNA < 50 IE/ml (VR endpoint) fra COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV Test, version 2.

Baseline-HBV DNA-koncentration < 1E8 IE/ml som bestemt på cobas® 6800-systemet.

Arm I: entecavir-monoterapi (HBeAg (+)).

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

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

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

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

CI = konfidensinterval; DNA = deoxyribonukleinsyre; FN = falsk negativ; FP = falsk positiv; HBeAg = hepatitis B e-antigen; HBV = hepatitis B-virus; IB = ikke beregnelig (da der ikke var nogen forsøgspersoner med virologisk ikke-respons ved det pågældende besøg); SN = sand negativ; SP = sand positiv; VR = virologisk respons; VR96 = virologisk respons i uge 96.

Tabel 36 Sandsynlighed for at opnå virologisk respons i uge 96 ved virologisk respons ved et specifikt behandlingsbesøg efter behandlingsarm

-			PPV (%)		NPV (%)		OF
Ved behandlingsbesøg	Behandlingsarm	Kvalificerede forsøgspersoner	Estimat (95 % CI)	n / N	Estimat (95 % CI)	n / N	Estimat (95 % CI)
Uge 12	Arm I	103	79,6 (70,8, 86,3)	82 / 103	IB	0	3,90 (0,08, 202,63)
-	Arm II	100	97,0 (91,5, 99,0)	97 / 100	IB	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	IB	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)
Uge 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)
Uge 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	IB	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)

Bemærkninger: Positiv prædiktiv værdi (PPV) = $SP / (SP + FP)$ eller sandsynligheden for at være VR96, hvis forsøgspersonen udviste virologisk respons under et specifikt besøg.

Negativ prædiktiv værdi (NPV) = $SN / (FN + SN)$ eller sandsynligheden for ikke at være VR96, hvis forsøgspersonen ikke udviste virologisk respons under et specifikt besøg.

Odds-forhold (OF) = $(SP \times SN) / (FP \times FN)$.

95 % CI'er for PPV og NPV beregnes på baggrund af Wilson Score-CI.

0,5 blev tilføjet til tomme celler (SP, SN, FP eller FN = 0) før beregning af OF og tilsvarende 95 % CI.

VR96 opnås, hvis forsøgspersonen har HBV DNA < 50 IE/ml fra COBAS® TaqMan® HBV-testen til brug med High Pure-systemet i uge 96.

Uge 12, VR = HBV DNA > 2 log₁₀ fald fra baseline; uge 24 VR = HBV DNA < 2000 IE/ml (HBeAg (+)) eller < 50 IE/ml (HBeAg (-)); uge 48

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

Arm I: entecavir-monoterapi (HBeAg (+)).

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

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

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

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

09198946001-05DA

CI = konfidensinterval; DNA = deoxyribonukleinsyre; FN = falsk negativ; FP = falsk positiv; HBeAg = hepatitis B e-antigen; HBV = hepatitis B-virus; IB = ikke beregnelig (da der ikke var nogen forsøgspersoner med virologisk ikke-respons ved det pågældende besøg); SN = sand negativ; SP = sand positiv; VR = virologisk respons; VR96 = virologisk respons i uge 96.

Forudsigelse af biokemisk respons i uge 96

Sandsynligheden for at opnå en biokemisk respons i uge 96 ved behandlings-VR i uge 12, uge 24 eller uge 48 er opsummeret i Tabel 37.

Værdien af VR i uge 12, uge 24 eller uge 48 som en forudsigelse af BR96 varieret efter VR-uge og behandlingsarm.

Tabel 37 Sandsynlighed for at opnå biokemisk respons i uge 96 ved virologisk respons ved et specifikt behandlingsbesøg efter behandlingsarm

-			PPV (%)		NPV (%)		OF
Ved behandlingsbesøg	Behandlingsarm	Kvalificerede forsøgspersoner	Estimat (95 % CI)	n / N	Estimat (95 % CI)	n / N	Estimat (95 % CI)
Uge 12	Arm I	101	62,4 (52,6, 71,2)	63 / 101	IB	0	1,66 (0,03, 85,30)
-	Arm II	100	43,0 (33,7, 52,8)	43 / 100	IB	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	IB	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)
Uge 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)
Uge 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	IB	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)

Bemærkninger: Positiv prædiktiv værdi (PPV) = $SP / (SP + FP)$ eller sandsynligheden for at være BR96, hvis forsøgspersonen udviste virologisk respons under et specifikt besøg.

Negativ prædiktiv værdi (NPV) = $SN / (FN + SN)$ eller sandsynligheden for ikke at være BR96, hvis forsøgspersonen ikke udviste virologisk respons under et specifikt besøg.

Odds-forhold (OF) = $(SP \times SN) / (FP \times FN)$.

95 % CI'er for PPV og NPV beregnes på baggrund af Wilson Score-CI.

0,5 blev tilføjet til tomme celler (SP, SN, FP eller FN = 0) før beregning af OF og tilsvarende 95 % CI.

Arm I: entecavir-monoterapi (HBeAg (+)).

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

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

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

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

Biokemisk respons er defineret som normaliseringen af ALAT (ALAT < 30 IE/l for mænd og ALAT < 19 IE/l for kvinder) i uge 96 som sammenlignet med baseline for forsøgspersoner med forhøjet ALAT ved baseline.

Uge 12, VR = HBV DNA > 2 log₁₀ fald fra baseline. Uge 24, VR = HBV DNA < 2000 IE/ml (HBeAg (+)) eller < 50 IE/ml (HBeAg (-)). Uge 48, VR = HBV DNA < 2000 IE/ml (HBeAg (+)) eller < 50 IE/ml (HBeAg (-)).

ALAT = alaninaminotransferase; CI = konfidensinterval; DNA = deoxyribonukleinsyre; FN = falsk negativ; FP = falsk positiv; HBeAg = hepatitis B e-antigen; HBV = hepatitis B-virus; IB = ikke beregnelig (da der ikke var nogen forsøgspersoner med virologisk ikke-respons ved det pågældende besøg); SN = sand negativ; SP = sand positiv; VR = virologisk respons; BR96 = biokemisk respons i uge 96.

Forudsigelse af HBeAg-tab

HBeAg-tab kunne kun evalueres hos forsøgspersoner, som var HBeAg (+) ved baseline.

Fravær af VR i uge 24 var yderst prædiktiv for vedvarende HBeAg (NPV'er var ≥ 80,0 % for både Arm I og II), og fravær af VR i uge 48 forudsagde også vedvarende HBeAg i Arm I (NPV var 100 %) (Tabel 38). Da alle forsøgspersoner i kombinationsbehandlingen (Arm II) havde opnået VR'er i uge 48, var det ikke muligt at beregne NPV på dette tidspunkt for denne gruppe.

Tabel 38 Sandsynlighed for HBeAg-tab i uge 96 ved virologisk respons ved et specifikt behandlingsbesøg efter behandlingsarm

-			PPV (%)		NPV (%)		OF
Ved behandlingsbesøg	Behandlingsarm	Kvalificerede forsøgspersoner	Estimat (95 % CI)	n / N	Estimat (95 % CI)	n / N	Estimat (95 % CI)
Uge 12	Arm I	102	46,1 (36,7, 55,7)	47 / 102	IB	0	0,85 (0,02, 43,91)
-	Arm II	101	41,6 (32,5, 51,3)	42 / 101	IB	0	0,71 (0,01, 36,60)
Uge 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)
Uge 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	IB	0	0,69 (0,01, 35,48)

Bemærk! Positiv prædiktiv værdi (PPV) = $SP / (SP + FP)$ eller sandsynligheden for HBeAg-tab i uge 96, hvis forsøgspersonen udviste virologisk respons under et specifikt besøg.

Negativ prædiktiv værdi (NPV) = $SN / (FN + SN)$ eller sandsynligheden for, at der ikke er HBeAg-tab i uge 96, hvis forsøgspersonen ikke udviste virologisk respons under et specifikt besøg.

Odds-forhold (OF) = $(SP \times SN) / (FP \times FN)$.

95 % CI'er for PPV og NPV beregnes på baggrund af Wilson Score-CI.

0,5 blev tilføjet til tomme celler (SP, SN, FP eller FN = 0) før beregning af OF og tilsvarende 95 % CI.

Arm I: entecavir-monoterapi (HBeAg (+)).

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

HBeAg-tab opnås, hvis der er tab af HBeAg under terapi.

Uge 12 VR = HBV DNA > 2 log₁₀ fald fra baseline; uge 24 VR = HBV DNA < 2000 IE/ml (HBeAg (+)); uge 48 VR = HBV DNA < 2000 IE/ml (HBeAg (+)).

CI = konfidensinterval; DNA = deoxyribonukleinsyre; FN = falsk negativ; FP = falsk positiv; HBeAg = hepatitis B e-antigen; HBV = hepatitis B-virus; IB = ikke beregnelig (da der ikke var nogen forsøgspersoner med virologisk ikke-respons ved det pågældende besøg); SN = sand negativ; SP = sand positiv; VR = virologisk respons; BR96 = biokemisk respons i uge 96.

Resultaterne viste, at **cobas® HBV** er nyttig til monitorering af virusbelastningen hos forsøgspersoner med kronisk HBV-infektion ved starten af og under antiviral behandling. Denne undersøgelse viste, at HBV DNA-koncentrationsmålinger ved baseline, et fald i HBV DNA-koncentration i uge 12 eller HBV DNA-koncentrationer under specifikke tærskler i uge 24 eller 48 under behandlingens forventede respons på terapien; undersøgelsen identificerede forsøgspersoner, som opnåede virologisk respons, biokemisk respons eller tab af HBeAg i uge 96 af terapien.

Konklusion

cobas® HBV kan kvantificere niveauet af HBV DNA for at monitorere og forudsige responsen på antiviral terapi. Resultaterne af denne undersøgelse påviste den kliniske anvendelighed af denne test til bestemmelse af tidlig behandlingsrespons på terapi i behandlingen af patienter med kronisk HBV-infektion.

Yderligere oplysninger

Vigtige testfunktioner

Prøvetype	EDTA-plasma, serum		
Mindste påkrævede prøvemængde	650 µl eller 350 µl		
Prøvebehandlingsvolumen	500 µl eller 200 µl		
Analytisk sensitivitet	-	<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
Lineært interval	500 µl: 10 IE/ml-1,0E+09 IE/ml		
	200 µl: 25 IE/ml-1,0E+09 IE/ml		
Specificitet	100 % (ensidet 95 % konfidensinterval: 99,5 %)		
Genotyper påvist	HBV-genotype A-H samt den mest udbredte præ-core-mutant		

Symboler

Følgende symboler anvendes på etiketter til Roche PCR-diagnostiske produkter.

Tabel 39 Symboler, der er anvendt på etiketter til Roche PCR-diagnostiske produkter

Age/DOB	Alder eller fødselsdato		Udstyr, der ikke er til patientnær testning	QS IU/PCR	QS IE pr. PCR-reaktion. Brug QS internationale enheder (IE) pr. PCR-reaktion til beregning af resultaterne.
	Hjælpesoftware		Udstyr, der ikke er til selvtestning	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
	Stregkodedataark		Kun til evaluering af IVD-performance		Opbevares mørkt
LOT	Lotnummer	GTIN	Global Trade Item Number		Temperaturbegrænsning
	Biologisk fare		Importør		Testdefinitionsfil
REF	Katalognummer	IVD	Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik		Denne side op
	CE-overensstemmelsesmærkning: Denne enhed stemmer overens med de gældende krav for CE-mærkning af medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik	LLR	Nedre grænse for tildelt interval	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 -	Negativ kontrol	Urine Fill Line	Urinpåfyldningslinje
CONTENT	Indhold i pakning		Usteril	Rx Only	For USA: Forsigtig: 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 testning		Riv her		
	Udstyr til selvtestning	CONTROL +	Positiv kontrol		
		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 og importør

Tabel 40 Producent og importør



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

Fremstillet i USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Varemærker og patenter

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

Copyright

©2025 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referencer

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.

Dokumentrevision

Oplysninger om dokumentrevision	
Doc Rev. 3.1 12/2024	Tilføjet oplysninger om systemsoftwareversion 2.0 til cobas ® 6800/8800-systemerne. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.
Doc Rev. 4.0 03/2025	Revideret for at leve op til IVDR-kravene, herunder brug af EU-importør samt oversigten over sikkerhed og performance. Rx Only er fjernet fra forsiden. Opdateret fareoplysninger om HxV Control-kit. Siden med harmoniserede symboler er opdateret. Der er tilføjet cobas ® 5800-specifikke oplysninger. Der er rettet typografiske fejl i tabel 25 og tabel 26 . Tilføjet tilsigtet brug for cobas ® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit. cobas ®-branding er opdateret. Tilføjet oplysninger om systemsoftwareversion 2.0 til cobas ® 6800/8800-systemerne. P/N'er for forbrugsartikler er fjernet, der henvises til detaljerede oplysninger om forbrugsartikler i bruger-assistancen til cobas ® 5800-systemet og cobas ® 6800/8800-systemerne. 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>