

cobas[®] HCV

Teste quantitativo de ácidos nucleicos para uso no sistemas cobas[®] 4800

Para uso em diagnóstico *in vitro*

cobas[®] HCV	120 Tests	P/N: 06979602190
cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	10 Sets	P/N: 06979572190
cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit 2	240 Tests 960 Tests	P/N: 06979513190 P/N: 06979521190
cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit	240 Tests 960 Tests	P/N: 05235863190 P/N: 05235871190
cobas[®] 4800 System Specimen Diluent 2	240 Tests	P/N: 06979556190
cobas[®] 4800 System Lysis Kit 2	240 Tests 960 Tests	P/N: 06979530190 P/N: 06979548190

ÍNDICE

Intenção de uso

Resumo e explicação do teste

Enquadramento	4
Fundamentação para testes de HCV	4
Explicação do teste	5
Princípios do procedimento	5

Materiais e reagentes

Reagentes	6
Requisitos de manuseio e armazenagem de reagentes.....	12
Materiais adicionais necessários.....	12
Instrumentos e software necessários mas não fornecidos.....	13
Tubos de amostra suportados.....	13

Precauções e requisitos de manuseamento

Alertas e precauções.....	14
Boas práticas de laboratório.....	14
Manuseio de reagentes.....	15
Contaminação.....	15
Integridade	15
Descarte	16
Derrames e limpeza.....	16
Coleta, transporte e armazenagem de amostras.....	16
Coleta de amostras	16
Transporte, armazenagem e estabilidade das amostras.....	16

Instruções de uso

Execução do teste.....	17
Volume de processamento de amostras.....	17
Tamanho da corrida.....	17
Fluxo de trabalho.....	18

Resultados

Controle de qualidade e validade dos resultados.....	20
Interpretação dos resultados de controle.....	21
Interpretação dos resultados.....	21
Lista de alarmes de resultados	22
Limitações processuais	23

Avaliação do desempenho não clínico

Principais características do desempenho	24
Padrão Internacional da OMS	24
Faixa linear	26
Precisão – em laboratório	28
Verificação de genótipos	29
Especificidade	31
Correlação de métodos	32
Equivalência de matrizes – plasma EDTA versus soro	33
Falha global do sistema	34
Contaminação cruzada	34

Informações adicionais

Principais características do teste	35
Símbolos	36
Suporte técnico	37
Fabricante	37
Marcas registradas e patentes	37
Direito autoral	37
Referências	38
Revisão do documento	40

Intenção de uso

O cobas® HCV é um teste *in vitro* de amplificação de ácidos nucleicos para a quantificação do RNA do vírus da hepatite C (HCV) em soro ou plasma EDTA humano de indivíduos infectados com o HCV. Amostras contendo os genótipos 1 a 6 do HCV são validadas para detecção e quantificação no ensaio.

O teste foi concebido para ser usado como ajuda no diagnóstico da infecção por HCV nas seguintes populações: indivíduos com evidência de anticorpos do HCV com evidência de doença hepática, indivíduos dos quais se suspeita que estejam ativamente infectados com o HCV com evidência de anticorpos e indivíduos com risco de infecção por HCV com anticorpos contra o HCV. A detecção de RNA do HCV indica que o vírus está em replicação e, portanto, é uma evidência de infecção ativa.

O teste foi concebido para ser usado como ajuda no controle de pacientes infectados com o HCV que estejam realizando terapia antiviral. O ensaio mede os níveis de RNA do HCV na linha de base e durante o tratamento e pode ser usado para prever a resposta virológica sustentada e não sustentada ao tratamento do HCV. Os resultados devem ser interpretados no contexto de todas as conclusões clínicas e laboratoriais.

Resumo e explicação do teste

Enquadramento

O HCV é considerado o principal agente etiológico responsável por 90% a 95% dos casos de hepatite pós-transfusional.¹⁻⁴ O HCV é um vírus RNA de senso positivo e de estirpe única com um genoma de aproximadamente 9500 nucleótidos codificando 3000 aminoácidos. Enquanto vírus de transmissão por via sanguínea, o HCV pode ser transmitido pelo sangue e por produtos sanguíneos. A adoção generalizada de medidas de rastreamento sanguíneo de HCV reduziu drasticamente o risco de hepatite associada a transfusões. A incidência de infecção com HCV é mais elevada quando associada ao uso de drogas por via intravenosa e, em menor grau, a outras exposições percutâneas.⁴

A quantificação de RNA de HCV para medição de carga viral basal e para monitoração da terapia está bem documentada relativo à demonstração da eficácia da resposta antiviral à terapia de combinação de interferon peguilado e de ribavirina (IFN-Peg/RBV).⁵⁻⁹ As diretrizes para o gerenciamento e tratamento de HCV recomendam a realização de testes quantitativos de RNA de HCV^{10,11} antes do início da terapia antiviral, em intervalos de tempo específicos durante a terapia (terapêutica determinada pela resposta) e 12 semanas ou mais após a conclusão da terapia.

O objetivo da terapia é a ausência de detecção de RNA de HCV por um teste sensível 12 semanas após a conclusão da terapia, indicando que foi alcançada uma resposta virológica sustentada (SVR).¹⁰

A determinação da cinética viral durante a terapia é usada para personalizar a duração da terapia com os recém aprovados agentes antivirais de ação direta (AAD), os inibidores de protease Teleprevir e Boceprevir.¹²⁻¹⁵

Fundamentação para testes de HCV

A presença de anticorpos de HCV indica que uma pessoa está infectada por HCV. No entanto, o status positivo anti-HCV não diferencia entre uma infecção aguda, uma infecção crônica e uma infecção resolvida. A detecção de RNA de HCV no soro ou no plasma indica replicação viral contínua e portanto é usada para identificar pacientes com infecção por HCV persistente.

Com a crescente disponibilidade de DAAs específicos do HCV muito eficazes, incluindo inibidores de protease de segunda geração, inibidores de polimerase e inibidores de NS5A, e com o muito dinâmico e vasto processo de descoberta

de fármacos para futuras terapias de HCV, a monitoração da carga viral continua sendo o teste laboratorial principal para confirmar que a SVR foi conseguida com os regimes terapêuticos à base de DAA.¹⁶⁻²¹

Resumidamente, o **cobas**® HCV é um teste quantitativo de detecção de RNA de HCV, usado para diagnóstico de infecção ativa e determinação da cinética viral, para uso em laboratórios que suportem ensaios clínicos, assim como a prática médica de rotina no gerenciamento de pacientes com HCV.

Explicação do teste

O **cobas**® HCV é um teste quantitativo executado no sistema **cobas**® 4800. O **cobas**® HCV permite a detecção e quantificação do RNA do HCV em plasma EDTA ou soro de pacientes infectados. São usadas sondas duplas para detectar e quantificar, mas não discriminar, os genótipos 1 a 6 de HCV. A carga viral é quantificada em comparação com um padrão de quantificação de armored RNA (RNA QS) sem HCV, que é introduzido em cada amostra durante a preparação da amostra. O RNA QS também funciona como um controle interno para monitorar toda a preparação de amostras e o processo de amplificação por PCR. Além disso, o teste usa três controles externos: um positivo de título elevado, um positivo de título baixo e um controle negativo.

Princípios do procedimento

O teste **cobas**® HCV se baseia na preparação totalmente automatizada da amostra (extração e purificação do ácido nucleico) seguida de amplificação por PCR e detecção. O sistema **cobas**® 4800 é constituído pelo instrumento **cobas**® x 480 e o analisador **cobas**® z 480. O gerenciamento automático de dados é executado pelo software **cobas**® 4800, que atribui resultados de teste a todos os testes como alvo não detectado, < LLoQ (limite inferior de quantificação), > ULoQ (limite superior de quantificação) ou RNA de HCV detectado, um valor na faixa linear $LLoQ \leq x \leq ULoQ$. Os resultados podem ser revisados diretamente na tela do sistema, exportados ou impressos como um relatório.

Os ácidos nucleicos de amostras de pacientes, de controles externos e de moléculas de armored RNA QS adicionadas são extraídos simultaneamente. Resumidamente, os ácidos nucleicos virais são liberados mediante a adição de proteinase e reagente de lise à amostra. Os ácidos nucleicos liberados ligam-se à superfície de sílica das partículas magnéticas de vidro adicionadas. Substâncias não ligadas e impurezas, como proteínas desnaturadas, detritos celulares e potenciais inibidores da PCR, são removidas com os passos seguintes do tampão de lavagem e os ácidos nucleicos purificados são eluídos das partículas de vidro magnéticas com tampão de eluição a elevada temperatura.

A amplificação seletiva dos ácidos nucleicos alvo da amostra do paciente é conseguida mediante uso de primers senso e anti-senso específicos do vírus-alvo que são selecionados de regiões altamente conservadas do HCV. A amplificação seletiva de RNA QS é obtida mediante o uso de primers senso e anti-senso específicos da sequência-alvo que são selecionados para que não tenham qualquer homologia com o genoma do HCV. É usada uma polimerase do DNA termoestável para a transcrição reversa e para a amplificação por PCR. As misturas principais incluem trifosfato de desoxiuridina (dUTP), em vez de trifosfato de desoxitimidina (dTTP), que é incorporado no DNA acabado de sintetizar (amplicon).²²⁻²⁴ Quaisquer amplicons contaminantes de corridas de PCR anteriores são desativados como modelos de PCR por AmpErase, que está presente nas misturas principais, antes do primeiro passo de desnaturação da PCR. A AmpErase catalisa a remoção de uracila do DNA, mas não tem atividade no RNA ou no DNA natural, que não contém uracila. Os amplicons formados durante os ciclos subsequentes de PCR não são desativados, porque a AmpErase está inativa às temperaturas de ligação e de desnaturação da PCR.

A mistura principal do **cobas**® HCV contém sondas duplas de detecção específicas para as sequências-alvo de HCV e uma sonda de detecção para o RNA QS. As sondas estão identificadas com corantes sinalizadores fluorescentes específicos do alvo, que permitem a detecção simultânea de alvo de HCV e de RNA QS em dois canais de detecção diferentes.^{25,26}


Quando não ligados à sequência-alvo, os sinais fluorescentes das sondas intactas são suprimidos por um corante supressor. Durante o passo de amplificação por PCR, a hibridização das sondas com o DNA alvo específico em cadeia simples resulta em sua clivagem pela atividade exonuclease 5' a -3' da DNA polimerase, resultando na separação dos corantes de sinalização e de supressão e a geração de um sinal fluorescente. Em cada ciclo da PCR, são geradas quantidades crescentes de sondas clivadas e o sinal cumulativo do corante sinalizador aumenta concomitantemente. A detecção e a discriminação em tempo real dos produtos da PCR são conseguidas medindo a fluorescência dos corantes sinalizadores liberados para os alvos virais e para o RNA QS.

Materiais e reagentes

Reagentes

Todos os reagentes e controles não abertos devem ser armazenados conforme recomendado na tabela Requisitos de manuseio e armazenagem de reagentes.



Kit	Ingredientes de reagentes e componentes	Quantidade por kit	Símbolo e alerta de segurança ^a
cobas® HCV 120 testes (P/N: 06979602190)	MMX R1 (Reagente 1 de mistura principal cobas®) Acetato de manganês, hidróxido de potássio, < 0,1% de azida de sódio	10 × 1,75 ml	N/A
	HCV MMX R2 (Reagente 2 de mistura principal cobas® HCV) Tampão de tricina, acetato de potássio, 18% de dimetil sulfóxido, glicerol, < 0,1% de Tween 20, EDTA, < 0,12% de dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% de primers de HCV, < 0,01% primers senso e anti-senso do padrão de quantificação, < 0,01% de sondas de oligonucleótido marcadas com fluorescência específicas do HCV e do padrão de quantificação, < 0,01% aptâmero de oligonucleotídeo, < 0,01% de DNA polimerase Z05D (de origem microbiana), < 0,01% de enzima AmpErase (uracil-N- glicosilase) (de origem microbiana), < 0,1% de azida de sódio	10 × 0,5 ml	N/A
	RNA QS (Padrão de quantificação de RNA cobas®) Tampão Tris, < 0,05% de EDTA, < 0,001% de regiões de sequências específicas de sondas e primer que contém construção de armored RNA não relacionado com HCV (RNA não infeccioso em bacteriófago MS2), < 0,1% de azida de sódio	10 × 1,75 ml	N/A



Kit	Ingredientes de reagentes e componentes	Quantidade por kit	Símbolo e alerta de segurança ^a
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit 10 conjuntos (P/N: 06979572190)	HBV/HCV/HIV-1 L(+)C (Controle positivo baixo do cobas® HBV/HCV/HIV-1) < 0,001% de (armored) RNA sintético do HIV-1 grupo M, encapsulado na proteína do envelope de bacteriófago MS2, < 0,001% de ADN (de plasmídeo) sintético do HBV, encapsulado na proteína do envelope de bacteriófago Lambda, < 0,001% de (armored) RNA sintético do HCV, encapsulado na proteína do envelope de bacteriófago MS2, plasma humano normal, não-reativo em testes aprovados para anticorpos do HIV-1/2, anticorpos do HCV, HBsAg, anticorpos do HBc; RNA do HIV-1, RNA do HIV-2, RNA do HCV e ADN do HBV não detectáveis por métodos de PCR 0,1% de conservante ProClin® 300 ^b	10 × 0,75 ml	 <p>ALERTA</p> <p>H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea.</p> <p>P261: Evite respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.</p> <p>P272: A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho.</p> <p>P280: Use luvas de proteção.</p> <p>P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.</p> <p>P362 + P364: Dispa a roupa contaminada e lave antes de usar novamente.</p> <p>P501: Elimine o conteúdo/recipiente em uma instalação de eliminação de resíduos aprovada.</p>
	HBV/HCV/HIV-1 H(+)C (Controle positivo alto do cobas® HBV/HCV/HIV-1) < 0,001% de (armored) RNA sintético do HIV-1 grupo M, encapsulado na proteína do envelope de bacteriófago MS2, < 0,001% de ADN (de plasmídeo) sintético do HBV, encapsulado na proteína do envelope de bacteriófago Lambda, < 0,001% de (armored) RNA sintético do HCV, encapsulado na proteína do envelope de bacteriófago MS2, plasma humano normal, não-reativo em testes aprovados para anticorpos do HIV-1/2, anticorpos do HCV, HBsAg, anticorpos do HBc; RNA do HIV-1, RNA do HIV-2, RNA do HCV e ADN do HBV não detectáveis por métodos de PCR 0,1% de conservante ProClin® 300 ^b	10 × 0,75 ml	55965-84-9 Mistura de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona [n.º EC 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º EC 220-239-6] (3:1).
	(-) C (Controle negativo cobas®) Plasma humano normal, não-reativo em testes aprovados para anticorpos do HIV-1/2, anticorpos do HCV, HBsAg, anticorpos do HBc; RNA do HIV-1, RNA do HIV-2, RNA do HCV e ADN do HBV não detectável por métodos de PCR < 0,1% de conservante ProClin® 300 ^b	10 × 0,75 ml	



^a A rotulagem relativa à segurança de produtos tem como base principalmente a diretriz GHS da UE

^b Substância perigosa

Kit	Ingredientes de reagentes e componentes	Quantidade por kit	Símbolo e alerta de segurança ^a
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 240 testes (P/N: 06979513190)	MGP 2 (Reagente 2 cobas® 4800 MGP) Partículas de vidro magnéticas, tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida de sódio	10 × 8 ml	N/A
	EB 2 (Tampão de eluição 2 cobas® 4800) Tampão Tris, 0,2% de 4-hidroxibenzoato de metilo	10 × 17 ml	
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 960 testes (P/N: 06979521190)	MGP 2 (Reagente 2 cobas® 4800 MGP) Partículas de vidro magnéticas, tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida de sódio	10 × 16 ml	N/A
	EB 2 (Tampão de eluição 2 cobas® 4800) Tampão Tris, 0,2% de 4-hidroxibenzoato de metilo	10 × 17 ml	

Kit	Ingredientes de reagentes e componentes	Quantidade por kit	Símbolo e alerta de segurança ^a
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 testes (P/N: 05235863190)	WB Citrato de sódio desidratado, 0,05% de metil-N isotiazolinona HCl ^b	10 × 55 ml	 <p>ALERTA</p> <p>H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. P261: Evite respirar névoas ou vapores. P272: A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho. P280: Use luvas de proteção. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P362 + P364: Dispa a roupa contaminada e lave antes de usar novamente. P501: Elimine o conteúdo/recipiente em uma instalação de eliminação de resíduos aprovada. 26172-54-3 Cloreto de 2-metil-2H-isotiazol-3-ona</p>
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 testes (P/N: 05235871190)	WB Citrato de sódio desidratado, 0,05% de metil-N isotiazolinona HCl ^b	10 × 200 ml	 <p>ALERTA</p> <p>H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. P261: Evite respirar névoas ou vapores. P272: A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho. P280: Use luvas de proteção. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P362 + P364: Dispa a roupa contaminada e lave antes de usar novamente. P501: Elimine o conteúdo/recipiente em uma instalação de eliminação de resíduos aprovada. 26172-54-3 Cloreto de 2-metil-2H-isotiazol-3-ona</p>
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2 240 testes (P/N: 06979556190)	SD 2 Tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida de sódio	10 × 8 ml	N/A

Kit	Ingredientes de reagentes e componentes	Quantidade por kit	Símbolo e alerta de segurança ^a
	<p>P 2 (Protease 2 cobas® 4800) Tampão Tris, < 0,05% de EDTA, cloreto de cálcio, acetato de cálcio, 8% (p/v) de proteinase^b</p>	10 × 1,0 ml	 <p>PERIGO H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. H334: Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias. P261: Evite respirar névoas ou vapores. P280: Use luvas de proteção. P284: Use proteção respiratória. P304 + P340: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la em uma posição confortável para a respiração. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P342 + P311: Im caso de sintomas respiratórios: Contate um CENTRO DE INFORMAÇÕES ANTI-VENENO/médico. 39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i> serine</p>
<p>cobas® 4800 System Lysis Kit 2 240 testes (P/N: 06979530190)</p>	<p>LYS 2 (Tampão de lise 2 cobas® 4800) 43% (p/p) de tiocianato de guanidina^b, 5% (p/v) de polidocanol^b, 2% (p/v) de ditiotreitol^b, citrato de sódio dihidratado</p>	10 × 27 ml	 <p>PERIGO H302: Nocivo se ingerido. H314: Provoca queimaduras graves na pele e lesões oculares graves. H411: Tóxico para organismos aquáticos com efeitos duradouros. EUH032: Em contato com ácidos liberta gás muito tóxico. EUH071: Corrosivo para as vias respiratórias. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Use luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial/proteção auditiva. P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTATO COM A PELE (ou o cabelo): dispa toda a roupa contaminada imediatamente. Enxague a pele com água. P304 + P340 + P310: EM CASO DE INALAÇÃO: Retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la em uma posição confortável para a respiração. Contate imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÕES ANTIVENENO/médico. P305 + P351 + P338 + P310: SE ENTRAR EM CONTATO COM OS OLHOS: enxague com água cuidadosamente durante vários minutos. Se usar lentes de contato, retire-as, se possível. Continue enxaguando. Contate imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÕES ANTIVENENO/médico. P391: Colete o produto derramado. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p>

Kit	Ingredientes de reagentes e componentes	Quantidade por kit	Símbolo e alerta de segurança ^a
	<p>P 2 (Protease 2 cobas® 4800) Tampão Tris, < 0,05% de EDTA, cloreto de cálcio, acetato de cálcio, 8% (p/v) de proteinase^b</p>	10 × 1,0 ml	 <p>PERIGO H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. H334: Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias. P261: Evite respirar névoas ou vapores. P280: Use luvas de proteção. P284: Use proteção respiratória. P304 + P340: EM CASO DE INALAÇÃO: Retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la em uma posição confortável para a respiração. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P342 + P311: Im caso de sintomas respiratórios: Contate um CENTRO DE INFORMAÇÕES ANTI-VENENO/médico. 39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i> serine</p>
<p>cobas® 4800 System Lysis Kit 2 960 testes (P/N: 06979548190)</p>	<p>LYS 2 (Tampão de lise 2 cobas® 4800) 43% (p/p) de tiocianato de guanidina^b, 5% (p/v) de polidocanol^b, 2% (p/v) de ditiotreitól^b, citrato de sódio dihidratado</p>	10 × 84 ml	 <p>PERIGO H302: Nocivo se ingerido. H314: Provoca queimaduras graves na pele e lesões oculares graves. H411: Tóxico para organismos aquáticos com efeitos duradouros. EUH032: Em contato com ácidos liberta gás muito tóxico. EUH071: Corrosivo para as vias respiratórias. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Use luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial/proteção auditiva. P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTATO COM A PELE (ou o cabelo): dispa toda a roupa contaminada imediatamente. Enxague a pele com água. P304 + P340 + P310: EM CASO DE INALAÇÃO: Retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la em uma posição confortável para a respiração. Contate imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÕES ANTIVENENO/médico. P305 + P351 + P338 + P310: SE ENTRAR EM CONTATO COM OS OLHOS: enxague com água cuidadosamente durante vários minutos. Se usar lentes de contato, retire-as, se possível. Continue enxaguando. Contate imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÕES ANTIVENENO/médico. P391: Colete o produto derramado. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p>

^a A rotulagem relativa à segurança de produtos tem como base principalmente a diretriz GHS da UE

^b Substância perigosa

Requisitos de manuseio e armazenagem de reagentes

Reagente	Temperatura de armazenagem	Tempo de armazenagem
cobas ® HCV	2-8 °C	Estável até à data de expiração indicada
cobas ® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	2-8 °C	Estável até à data de expiração indicada
cobas ® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2-8 °C	Estável até à data de expiração indicada
cobas ® 4800 System Wash Buffer Kit	15-25 °C	Estável até à data de expiração indicada
cobas ® 4800 System Specimen Diluent 2	2-8 °C	Estável até à data de expiração indicada
cobas ® 4800 System Lysis Kit 2	2-8 °C	Estável até à data de expiração indicada

Não congele os reagentes.

Materiais adicionais necessários

Materiais	P/N
Placa de extração (poços profundos) do sistema cobas ® 4800 2,0 ml	06884008001
Placa AD (micro poços) do sistema cobas ® 4800 0,3 ml	05232724001
Aplicador de película vedante	04900383001
Ponteiras CORE, 1000 µl, rack de 96	04639642001
Reservatório de reagente de 200 ml	05232759001
Reservatório de reagente de 50 ml	05232732001
Suporte de 24 posições	04639502001
Suporte de 32 posições	04639529001
Saco de resíduos sólidos	05530873001 (pequeno) ou 04691989001 (grande)
Manga plástica Hamilton STAR	04639669001
Luvas de laboratório, sem pó	São aceitáveis quaisquer luvas de laboratório sem pó.
Misturador Vortex (tubo único)	É aceitável qualquer misturador Vortex.
Centrífuga equipada com um rotor de cestos oscilantes com um RCF mínimo de 1500	Qualquer centrífuga adequada é aceitável.

Para mais informações sobre materiais vendidos em separado, contate o representante local da Roche.

Instrumentos e software necessários mas não fornecidos

Instrumentos e software necessários, não fornecidos
Sistema cobas ® 4800 Instrumento cobas ® x 480 Analisador cobas ® z 480 Unidade de controle
Software de aplicação (Core) do sistema cobas ® 4800, versão 2.2.0 ou superior
Sistema cobas ® 4800 cobas ® HCV AP v1.1.0 ou superior

Nota: contate o representante local da Roche para obter uma lista detalhada de pedidos de racks de amostras, racks de ponteiras, racks de reagentes e suportes de placas aceitos nos instrumentos.

Tubos de amostra suportados

O teste aceita tubos primários e secundários normalmente usados.

São suportados os seguintes tubos de amostra:

Tubos primários

Diâmetro nominal (mm)	Volume de entrada de amostra – sangue total processado (centrifugado)		Aditivo do tubo	
	400 µl de volume de processamento	200 µl de volume de processamento	Plasma EDTA	Soro
11-14	1800 µl ou mais	1000 µl ou mais	Com ou sem gel	Com gel
14,5-16	Mais de 4000 µl	Mais de 4000 µl	Com ou sem gel	Com gel

Para informações sobre pedidos de tubos de amostra específicos e os volumes de entrada de amostra mínimos para tubos primários específicos, contate o representante local da Roche.

Tubos secundários

Diâmetro nominal (mm)	Volume de entrada de amostra	
	400 µl de volume de processamento	200 µl de volume de processamento
11-16	1000 µl ou mais (tubos secundários específicos têm um volume de entrada mínimo inferior a 1000 µl)	750 µl ou mais (tubos secundários específicos têm um volume de entrada mínimo inferior a 750 µl)

Para informações sobre pedidos de tubos de amostra específicos e os volumes de entrada de amostra mínimos para tubos secundários específicos, contate o representante local da Roche.

Precauções e requisitos de manuseamento

Alertas e precauções

Tal como com qualquer procedimento de teste, boas práticas de laboratório são essenciais para o desempenho adequado deste ensaio. Devido à elevada sensibilidade analítica deste teste, deve-se tomar cuidado para manter reagentes, amostras e misturas de amplificação isentas de contaminação.

- Apenas para diagnóstico *in vitro*.
- O teste **cobas**® HCV não foi avaliado para uso como teste de rastreio da presença de HCV em sangue ou em produtos sanguíneos.
- Todas as amostras de pacientes devem ser manuseadas como se fossem infecciosas, utilizando boas práticas laboratoriais, conforme descrito em Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e no Documento M29-A4 do CLSI.^{27,28} Somente pessoal experiente no manuseio de materiais com risco biológico e no uso do **cobas**® HCV e no sistema **cobas**® 4800 devem executar esse procedimento.
- Todos os materiais de origem humana devem ser considerados potencialmente infecciosos e devem ser manipulados com precauções universais.
- O **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit contém plasma derivado de sangue humano. O material de origem foi submetido a um teste aprovado de anticorpos e foi considerado não-reativo para a presença de anticorpos do HCV, anticorpos do HIV-1/2, HBsAg e anticorpos do HBc. Os testes mediante métodos PCR não detectaram qualquer RNA de HIV-1, RNA de HIV-2, RNA de HCV e ADN de HBV. Nenhum método de teste conhecido pode oferecer uma garantia completa de que os produtos derivados do sangue humano não transmitirão agentes infecciosos.
- Evite a exposição de MGP a fontes de campos magnéticos.
- **Não congele sangue total ou quaisquer amostras armazenadas em tubos primários.**
- Para garantir o desempenho ideal do teste, use somente consumíveis necessários fornecidos ou especificados.
- Estão disponíveis Fichas de Dados de Segurança (FDS) que podem ser pedidas ao representante local da Roche.
- Para garantir que o teste é executado corretamente, siga os procedimentos e diretrizes fornecidos rigorosamente. Qualquer desvio destes procedimentos e diretrizes poderá afetar o desempenho ideal do teste.
- Poderão ocorrer resultados falsos positivos se a contaminação por arraste de amostras não for controlada de forma adequada durante o manuseio e processamento da amostra.
- Para mais alertas, precauções e procedimentos para reduzir o risco de contaminação do instrumento **cobas**® x 480 ou do analisador **cobas**® z 480, consulte a Assistência ao usuário do sistema **cobas**® 4800. Se houver suspeita de contaminação, efetue a limpeza e manutenção semanais, conforme descrito na Assistência ao usuário do sistema **cobas**® 4800.

Nota: *para instruções específicas, veja “Coleta, transporte e armazenagem de amostras”.*

Boas práticas de laboratório

- Não execute a pipetagem com a boca.
- Não coma, beba nem fume em áreas de trabalho no laboratório.
- Lave as mãos muito bem após manusear amostras e reagentes do kit e após retirar as luvas de laboratório.

- Ao manusear quaisquer reagentes, use sempre proteção ocular, jaleco de laboratório e luvas de laboratório. Evite o contato destes materiais com a pele, os olhos ou membranas mucosas. Se ocorrer contato, lave imediatamente com água em abundância. Se não for feito um tratamento, poderão ocorrer queimaduras. Se ocorrer derrame, dilua com água antes de limpar com um pano seco.
- Limpe e desinfete cuidadosamente todas as superfícies de trabalho do laboratório com uma solução preparada de fresco de hipoclorito de sódio a 0,5% em água deionizada ou destilada (diluir alvejante doméstico a 1:10). Seguidamente, esfregue a superfície com um pano com etanol a 70%.
- Mantenha uma temperatura consistente no laboratório que esteja em conformidade com as especificações ambientais do sistema, conforme indicado na Assistência ao usuário do sistema **cobas**® 4800.

Manuseio de reagentes

- Para evitar a contaminação por arraste de amostras ou controles, manuseie todos os reagentes, controles e amostras conforme as boas práticas de laboratório.
- Antes de usar, inspecione visualmente cada frasco de reagente para garantir que não existem sinais de vazamento. Se existir qualquer indício de vazamento, não use esse material para testes.
- O tampão de lise 2 **cobas**® 4800 contém tiocianato de guanidina, um produto químico potencialmente perigoso. Evite o contato de reagentes com a pele, os olhos ou membranas mucosas. Em caso de contato, lave imediatamente a zona afetada com água abundante, caso contrário poderão ocorrer queimaduras.
- O **cobas**® HCV, o **cobas**® 4800 Sample Preparation Kit 2 e o **cobas**® 4800 System Specimen Diluent 2 contêm azida de sódio como conservante. Evite o contato de reagentes com a pele, os olhos ou membranas mucosas. Em caso de contato, lave imediatamente a zona afetada com água abundante, caso contrário poderão ocorrer queimaduras. No caso de derrame destes reagentes, dilua com água antes de passar com um pano para secar.
- Não permita que o tampão de lise 2 **cobas**® 4800, que contém tiocianato de guanidina, entrem em contato com solução de hipoclorito de sódio (alvejante). Esta mistura pode produzir um gás altamente tóxico.

Contaminação

- Para evitar contaminação, devem ser usadas luvas de laboratório que devem ser trocadas entre o manuseio de amostras e de reagentes do **cobas**® HCV. Evite contaminar as luvas manuseando amostras e controles. Use luvas de laboratório, jalecos de laboratório e proteção ocular ao manusear amostras e reagentes do kit.
- Evite a contaminação microbiana e por ribonucleases dos reagentes.
- Poderão ocorrer resultados falsos-positivos se a contaminação por arraste de amostras não for prevenida durante o manuseio da amostra.

Integridade

- Não use kits fora das respectivas datas de expiração.
- Não junte reagentes.
- Não use artigos descartáveis depois das respectivas datas de expiração.
- Todos os artigos descartáveis são de utilização única. Não reutilizar.
- Todos os equipamentos devem ser mantidos adequadamente, de acordo com as instruções do fabricante.

Descarte

- O cobas® HCV, o cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 e o cobas® 4800 System Specimen Diluent 2 contêm azida de sódio (veja “Alertas e precauções”). A azida de sódio pode reagir com tubulações de chumbo e de cobre, formando azidas metálicas altamente explosivas. Ao descartar soluções contendo azida de sódio em pia do laboratório, lave os canos com um grande volume de água fria para prevenir a formação de azidas.
- Descarte reagentes não usados e resíduos em conformidade com a legislação local, estadual, federal e nacional.

Nota: *para o descarte de resíduos líquidos, consulte a Assistência ao usuário do sistema cobas® 4800.*

Derrames e limpeza

- O tampão de lise 2 cobas® 4800 contém tiocianato de guanidina. Se for derramado líquido que contenha tiocianato de guanidina, limpe com detergente laboratorial adequado e água. Se o líquido derramado contiver agentes potencialmente infecciosos, PRIMEIRO limpe a área afetada com detergente laboratorial e água e depois com hipoclorito de sódio a 0,5%.
- Se o derrame ocorrer no instrumento cobas® x 480, siga as instruções de limpeza apresentadas na Assistência ao usuário do sistema cobas® 4800.
- Não use solução de hipoclorito de sódio (alvejante) para limpar o instrumento cobas® x 480 ou o analisador cobas® z 480. Limpe o instrumento cobas® x 480 ou o analisador cobas® z 480 de acordo com os procedimentos descritos na Assistência ao usuário do sistema cobas® 4800.

Coleta, transporte e armazenagem de amostras

Nota: *manuseie todas as amostras como se elas possam transmitir agentes infecciosos.*

Armazene todas as amostras às temperaturas especificadas.

A estabilidade da amostra é afetada por temperaturas elevadas.

Se usar amostras congeladas em tubos secundários, coloque as amostras à temperatura ambiente (entre 15 e 30 °C) até ficarem completamente descongeladas e, em seguida, misture brevemente (p. ex., com agitação forte durante 3 a 5 segundos) e centrifugue para coletar todo o volume de amostra no fundo do tubo.

Coleta de amostras

O sangue deve ser coletado em tubos de separação de soro SST™, em tubos de preparação de plasma para métodos de teste de diagnóstico molecular BD Vacutainer® PPT™ ou em tubos esterilizados que usem EDTA como anticoagulante.

Nota: *para a preparação de soro/plasma, o usuário deve seguir as orientações fornecidas pelo fabricante do tubo.*

Transporte, armazenagem e estabilidade das amostras

- O sangue total coletado em tubos de separação de soro SST™, em tubos de preparação de plasma para métodos de teste de diagnóstico molecular BD Vacutainer® PPT™ ou em tubos esterilizados que usem EDTA como anticoagulante pode ser armazenado e/ou transportado até 24 horas entre 2 °C e 25 °C antes da preparação do plasma/soro e testes subsequentes.
- As amostras de plasma/soro podem ser armazenadas em tubos secundários até 24 horas entre 2 °C e 25 °C, até 72 horas entre 2 °C e 8 °C ou até 6 semanas a ≤ -18 °C. As amostras de plasma/soro separadas em tubos secundários mantêm a estabilidade após até três ciclos de congelamento/descongelamento quando congeladas a ≤ -18 °C.

- Se as amostras tiverem de ser enviadas, estas devem ser embaladas e rotuladas em conformidade com os regulamentos locais e/ou internacionais aplicáveis ao transporte de amostras e agentes etiológicos.

Instruções de uso

Execução do teste

Volume de processamento de amostras

O volume de processamento de amostras predefinido do **cobas® HCV** é 400 µl. Para amostras de baixo volume, poderá ser escolhido um volume de processamento de amostras de 200 µl. Apenas neste caso, tem de ser carregado **cobas® 4800 System Specimen Diluent 2** no sistema como um reagente adicional. O assistente do software lembrará o usuário para executar isso, se durante a criação de pedidos tiver sido escolhido o tipo de amostra “Diluted serum or plasma”.

Figura 1: Fluxo de trabalho **cobas® HCV**

1	Iniciar o sistema
2	Executar a manutenção do instrumento
3	Retirar amostras e reagentes da armazenagem
4	Iniciar a corrida
5	Efetuar a leitura dos cartões de parâmetros
6	Carregar amostras
7	Com LIS: confirmar pedido de trabalho Sem LIS: criar pedido de trabalho
8	Carregar consumíveis (placa de poços profundos, placa de micro poços, racks de ponteiras)
9	Carregar reagentes
10	Iniciar corrida de preparação da amostra
11	Descarregar e selar placa de micro poços
12	Carregar placa de micro poços no analisador
13	Retirar amostras, reagentes usados e placa de poços profundos
14	Revisar resultados
15	Com LIS: enviar resultados para o LIS
16	Descarregar analisador

Nota: para instruções de operação detalhadas, consulte a Assistência ao usuário do sistema **cobas® 4800**.

Tamanho da corrida

Os reagentes genéricos de preparação de amostras (**cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2**, **cobas® 4800 System Lysis Kit 2** e **cobas® 4800 System Wash Buffer Kit**) estão disponíveis em dois tamanhos de kit, cada um suficiente para 10 corridas de até 24 ou até 96 amostras, incluindo os controles e as amostras a executar. O **cobas® HCV** está disponível em apenas um tamanho de kit, suficiente para testar até 120 (10 × 12) amostras, incluindo controles e amostras. O **cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit** está disponível em apenas um tamanho de kit e pode suportar todas as configurações de corridas. Para cada bateria de testes, tem de ser usado um controle positivo baixo de HBV/HCV/HIV-1, um controle positivo alto de HBV/HCV/HIV-1 e um controle negativo. Para uma única corrida de teste, o número máximo permitido de amostras é 93 amostras e 3 controles.

Figura 1 resume o procedimento.

Nota: *para uma utilização ideal dos reagentes, os reagentes genéricos de preparação de amostras podem ser usados em uma corrida contendo um total de 1 a 21 amostras (kit de 10 × 24 testes) ou um total de 1 a 93 amostras (kit de 10 × 96 testes). No entanto, não podem ser combinados tamanhos diferentes do cobas® 4800 System Wash Buffer Kit, cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 e cobas® 4800 System Lysis Kit 2. Por exemplo, se for registrado um frasco de reagente de tampão de lavagem para 96 testes no início da corrida, também devem ser usados reagentes para 96 testes dos outros kits de reagentes de preparação de amostras.*

Fluxo de trabalho

O teste cobas® HCV é executado usando o fluxo de trabalho completo no software cobas® 4800. Ele consiste na preparação da amostra no instrumento cobas® x 480, seguida de amplificação/deteção no analisador cobas® z 480. O cobas® HCV pode ser executado sozinho ou em modo de bateria mista com testes que compartilham o mesmo processo de extração automatizada de amostras e perfil de PCR para amplificação e deteção. No passo de seleção de testes, o software apresentará testes compatíveis para o modo de bateria mista com o cobas® HCV. Para obter detalhes, consulte a Assistência ao usuário do sistema cobas® 4800.

1. Efetue a inicialização do sistema e seguindo as instruções da Assistência ao usuário do sistema cobas® 4800.
2. Efetue ações de manutenção, seguindo as instruções da Assistência ao usuário do sistema cobas® 4800.
3. Colete todos os reagentes e consumíveis necessários. Todos os reagentes, exceto os HCV MMX R2 e MMX R1, devem estar à temperatura ambiente antes de serem carregados no instrumento cobas® x 480. Os reagentes HCV MMX R2 e MMX R1 podem ser retirados diretamente da armazenagem entre os 2 e 8 °C, porque na altura que forem usados no processo a bordo do instrumento cobas® x 480 já estarão à temperatura ambiente.

Nota: *todos os reagentes e reservatórios de reagentes têm códigos de barras e foram concebidos para serem usados uma única vez. O software cobas® 4800 detecta o uso dos reagentes e dos reservatórios de reagentes e rejeita os reagentes ou reservatórios de reagentes utilizados anteriormente.*

4. Inicie uma nova corrida e selecione o tipo de fluxo de trabalho como HCV. Para executar uma corrida de bateria mista, para além de HCV, selecione outros tipos de fluxos de trabalho aplicáveis (p. ex., HIV-1, CMV ou HCV GT).
5. Siga o guia do assistente do software e efetue a leitura dos códigos de barras nos cartões de parâmetros de coeficientes de calibração e dos intervalos de controle.

Nota: *efetue a leitura dos cartões de parâmetros dos reagentes não expirados. O software não controla as datas de expiração dos reagentes nos cartões de parâmetros. Verifique a data de expiração impressa no cartão de parâmetros ou nos kits de reagente antes de efetuar a leitura da ID do código de barras correspondente.*

6. Carregue as amostras. Os tubos de amostra primários ou secundários podem ser carregados e o volume mínimo de amostra depende do tipo e tamanho do tubo. Para mais detalhes, consulte a seção “Tubos de amostra suportados”.
7. Crie o pedido de trabalho. Existem três maneiras de criar um pedido de trabalho:
 - Usando o editor de amostras antes de carregar a rack de amostras no instrumento cobas® x 480 (botão “Editor” à direita do menu principal). Os pedidos de trabalho podem ser salvos, editados e recarregados, se necessário. Ao selecionar os resultados desejados, selecione “HCV”.

- Seguindo o assistente do software para a nova corrida e carregando as amostras no instrumento **cobas**® x 480 quando o sistema solicitar. Os códigos de barras das amostras serão lidos automaticamente e deve ser definido o tipo de amostra para cada amostra. Ao selecionar os resultados desejados, selecione “HCV”.
- Usando o sistema LIS de sua instituição.

Para mais detalhes, consulte a Assistência ao usuário do sistema **cobas**® 4800. Carregue amostras e defina/selecione o pedido de trabalho ou use o LIS, conforme adequado.

8. Carregue os consumíveis conforme as instruções do assistente do software. Não coloque nem retire ponteiras individuais de uma rack de ponteiras parcialmente usada, uma vez que o software registra o número de ponteiras que sobra. Se não houver ponteiras suficientes para executar a corrida, o software alerta o usuário.
9. Carregue os reagentes.

Carregue os reagentes de preparação da amostra nos reservatórios de reagentes com códigos de barras. Os reservatórios de reagentes estão disponíveis em dois tamanhos: 200 ml e 50 ml. Siga as indicações do assistente do software para selecionar o tamanho correto do reservatório de reagente. Os códigos de barras dos reservatórios de reagentes devem estar virados para a direita do suporte. Use o método “ler-ler-verter-colocar” para carregar os reagentes de preparação da amostra:

- Faça a leitura do código de barras do frasco de reagente
- Faça a leitura do código de barras do reservatório de reagente
- Verta o reagente no reservatório
- Coloque o reservatório de reagente cheio no suporte de reagentes na posição indicada

Nota: *o sistema cobas® 4800 dispõe de um relógio interno para monitorar o intervalo de tempo que os reagentes estão a bordo do equipamento. Assim que a leitura do LYS 2 ou do WB for executada, tem 1 hora para concluir o processo de carregamento e clicar no botão “Start”. Um temporizador de contagem decrescente é exibido na guia “Workplace”. O sistema não permite o início da corrida, se tiver expirado o tempo a bordo do equipamento.*

Nota: *para garantir uma transferência precisa de MGP, proceda à agitação forte do frasco de MGP imediatamente antes de dispensar o reagente no reservatório de reagente.*

10. Carregue os frascos de reagentes de amplificação/detecção [HCV MMX R2, MMX R1 e RNA QS], os frascos de controles [HBV/HCV/HIV-1 L(+)C, HBV/HCV/HIV-1 H(+)C e (-) C] e os frascos de reagentes genéricos [P2 e SD2 conforme necessário] diretamente no suporte de reagentes.

Nota: *para evitar contaminação e corridas canceladas desnecessariamente, é necessário mover os frascos de reagente rapidamente para baixo para evitar a formação de bolhas/películas líquidas. Os controles deverão ser abertos começando pelos mais próximos do usuário (da posição 24 para a 1). Mude de luvas de laboratório após manusear controles positivos.*

11. Inicie a corrida de preparação da amostra. Depois de uma corrida de preparação da amostra bem-sucedida, os botões “Sample Preparation results” e “Unload” ficam disponíveis. Se desejar, pressione o botão “Sample Preparation results” para revisar os resultados e depois selecione “Unload” para descarregar os suportes de placas. Alternativamente, selecione “Unload” para descarregar o suporte de placas sem revisar os resultados. Veja a Assistência ao usuário do sistema **cobas**® 4800.

12. Depois de descarregar a placa de micro poços, siga as instruções da Assistência ao usuário do sistema **cobas**® 4800 para selar e transferir a placa para o analisador **cobas**® z 480.
13. Carregue a placa de micro poços no analisador e inicie a corrida de amplificação e detecção conforme as instruções da Assistência ao usuário do sistema **cobas**® 4800.

Nota: *o sistema **cobas**® 4800 dispõe de um relógio interno para monitorar o intervalo de tempo após a adição das amostras preparadas à mistura principal ativada. A amplificação e detecção deverão ser iniciadas o mais cedo possível, mas nunca após 40 minutos depois do final da corrida no instrumento **cobas**® x 480. Um temporizador de contagem decrescente é exibido na guia “Workplace”. O sistema cancela a corrida, se tiver expirado o tempo a bordo do equipamento.*

14. Retire as amostras, os reagentes usados e a placa de poços profundos, conforme as instruções da Assistência ao usuário do sistema **cobas**® 4800.
15. Após concluída a corrida de amplificação e detecção, siga as instruções da Assistência ao usuário do sistema **cobas**® 4800 para revisar e aceitar resultados.
16. Se estiver trabalhando com o LIS, envie os resultados para o LIS.
17. Siga as instruções da Assistência ao usuário do sistema **cobas**® 4800 para descarregar a placa de micro poços do analisador **cobas**® z 480.

Resultados

O sistema **cobas**® 4800 determina automaticamente a concentração de RNA de HCV para as amostras e os controles. A concentração de RNA de HCV é expressa em unidades internacionais por mililitro (UI/ml).

Controle de qualidade e validade dos resultados

- Com cada bateria são processados um controle negativo (-) C e dois controles positivos, um controle positivo baixo de HBV/HCV/HIV-1 L(+)C e um controle positivo alto de HBV/HCV/HIV-1 H(+)C.
- Verifique a validade da bateria no software **cobas**® 4800 e/ou no relatório.
- A invalidação dos resultados é feita automaticamente pelo software **cobas**® 4800, com base nas falhas dos controles negativo e positivo.

Interpretação dos resultados de controle

Tabela 1: Interpretação dos resultados de controles negativo e positivo

Controle negativo	Resultado	Interpretação
(-) C	Target Not Detected	O controle é válido. RNA de HCV não detectado.
	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado do título calculado do controle negativo não é negativo.
Controle positivo	Resultado	Interpretação
HBV/HCV/HIV-1 L(+)C	Título	O controle é válido. O título calculado está dentro da faixa de controle.
	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado de título calculado do controle positivo baixo não está dentro da faixa atribuída.
HBV/HCV/HIV-1 H(+)C	Título	O controle é válido. O título calculado está dentro da faixa de controle.
	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado do título calculado do controle positivo alto não está dentro da faixa atribuída.

Interpretação dos resultados

Nota: a validação de todos os ensaios e baterias é determinada pelo software cobas® 4800.

Nota: uma bateria válida pode incluir resultados de amostra válidos e inválidos.

Para uma bateria válida, os resultados de amostra são interpretados conforme exibido em Tabela 2.

Tabela 2: Resultados alvo para a interpretação de resultados individuais

cobas® HCV	Relatório e interpretação de resultados
Target Not Detected	RNA de HCV não detectado. Reportar resultados como “HCV não detectado”.
< Titer Min	O título calculado está abaixo do limite inferior de quantificação (LLoQ) do ensaio. Reportar resultados como “HCV detectado, inferior a (título mín.)”. Título mín. = 1,50E+01 UI/ml (400 µl) Título mín. = 2,50E+01 UI/ml (200 µl)
Título	O título calculado está dentro da faixa linear do ensaio – superior ou igual ao título mín. e inferior ou igual ao título máx. Reportar resultados como “(Título) de HCV detectado”.
> Titer Max ^a	O título calculado está acima do limite superior de quantificação (ULoQ) do ensaio. Reportar resultados como “HCV detectado, superior a (título máx.)”. Título máx. = 1,00E+08 UI/ml (400 µl e 200 µl)

^a Resultado de amostra > Titer Max refere-se às amostras positivas de HCV detectadas com títulos acima do limite superior de quantificação (ULoQ). Caso se deseje um resultado quantitativo, a amostra original deve ser diluída com plasma EDTA ou soro com HCV negativo, dependendo do tipo da amostra original e o teste deve ser repetido. Multiplique o resultado reportado pelo fator de diluição.

Lista de alarmes de resultados

A seguinte tabela exhibe todos os alarmes que são relevantes para a interpretação de resultados.

Tabela 3: Lista de alarmes

Código do alarme	Descrição	Ação recomendada
R4800	O alvo é inválido devido a falha de cálculo.	O alvo é inválido devido a falha de cálculo. 1. Execute a amostra novamente. 2. Se o problema persistir, contate o serviço de assistência da Roche.
R4801	O padrão de quantificação é inválido.	O padrão de quantificação é inválido para uma amostra. 1. Execute a amostra novamente. 2. Se o problema persistir, contate o serviço de assistência da Roche.
R4802	Um controle externo é inválido.	Um controle externo é inválido. ^a 1. Repita a corrida com reagentes frescos. 2. Se o problema persistir, contate o serviço de assistência da Roche.
R4803	O padrão de quantificação é inválido.	O padrão de quantificação é inválido para um controle externo. 1. Repita a corrida com reagentes frescos. 2. Se o problema persistir, contate o serviço de assistência da Roche.
R4804	O controle externo está fora da faixa.	O controle externo está fora da faixa. ^b 1. Repita a corrida com reagentes frescos. 2. Se o problema persistir, contate o serviço de assistência da Roche.
X3	Erro: foi detectado um coágulo. A amostra não foi processada.	Certifique-se de que as amostras foram manuseadas de acordo com a descrição do fluxo de trabalho. 1. Verifique se a amostra tem coágulos. 2. Execute a amostra novamente.
X4	Erro: ocorreu um erro de pipetagem. A amostra não foi processada.	Um volume de amostra insuficiente ou um erro mecânico durante a pipetagem é o motivo mais provável. 1. Certifique-se de que há volume de amostra suficiente. 2. Verifique se a placa de ejeção de ponteiros está colocada corretamente. 3. Execute a amostra novamente.

^a Este é um alarme de amostra que ocorre quando um controle externo da corrida é definido como inválido.

^b Este alarme inclui todos os cenários em que o controle externo é inválido (título ou determinação do alvo).

Nota: para todos os alarmes do sistema, consulte a *Assistência ao usuário do sistema cobas® 4800*.

Limitações processuais

1. O teste **cobas**® HCV foi avaliado apenas para uso em combinação com o **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, o **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2, o **cobas**® 4800 System Lysis Kit 2, o **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit e o **cobas**® 4800 System Specimen Diluent 2.
2. Resultados confiáveis dependem da coleta, do transporte, da armazenagem e do processamento adequados das amostras. Siga os procedimentos deste documento de instruções de utilização (também designado como folheto informativo) e da Assistência ao usuário do sistema **cobas**® 4800.
3. Este teste foi validado apenas para uso com plasma EDTA ou soro. Testar outros tipos de amostra pode originar resultados imprecisos.
4. A quantificação do RNA do HCV depende do número de partículas virais presentes nas amostras e pode ser afetada pelos métodos de coleta de amostra, por fatores inerentes ao próprio paciente (p. ex., a idade, a presença de sintomas) e/ou a fase da infecção.
5. Embora raras, as mutações dentro de regiões altamente conservadas de um genoma viral abrangidas pelo **cobas**® HCV podem afetar a ligação de primers e/ou sonda, resultando na subquantificação do vírus ou na não detecção da presença do vírus.
6. O valor preditivo de um ensaio depende da prevalência da doença em uma determinada população.
7. A adição de enzima AmpErase à mistura principal **cobas**® HCV permite a amplificação seletiva do ácido nucleico alvo; no entanto, para evitar a contaminação dos reagentes e das misturas de amplificação, é necessário observar boas práticas de laboratório e cumprir cuidadosamente os procedimentos especificados neste documento de instruções de uso.
8. O uso deste produto deve estar limitado a pessoal treinado em técnicas de PCR e no uso do sistema **cobas**® 4800.
9. Apenas o instrumento **cobas**® x 480 e o analisador **cobas**® z 480 foram validados para uso com este produto. Nenhum outro equipamento de preparação da amostra ou sistema de PCR pode ser usado com este produto.
10. Devido a diferenças inerentes entre tecnologias, recomenda-se que, antes de mudarem de uma tecnologia para outra, os usuários realizem estudos de correlação de métodos em seus laboratórios, para qualificar diferenças tecnológicas. Os usuários devem seguir suas próprias políticas/procedimentos específicos.
11. A contaminação cruzada pode causar resultados falsos-positivos. Um estudo não clínico determinou que a taxa de contaminação cruzada de amostra para amostra do **cobas**® HCV foi de 0,0%. Não foi observada contaminação cruzada de corrida para corrida.
12. O **cobas**® HCV não foi concebido como teste de rastreamento da presença de HCV em sangue ou em produtos sanguíneos.

Avaliação do desempenho não clínico

Principais características do desempenho

Limite de detecção (LoD)

Padrão Internacional da OMS

O limite de detecção do **cobas**® HCV foi determinado mediante análise de diluições em série do padrão internacional da OMS para o RNA do HCV relativo a ensaios com tecnologia de amplificação de ácidos nucleicos (4.º padrão internacional da OMS) do genótipo 1a obtido a partir de NIBSC, plasma EDTA humano negativo para o HCV, usando volumes de processamento de amostras de 400 µl e 200 µl. Painéis de seis níveis de concentração mais um negativo foram testados em três lotes de reagentes **cobas**® HCV, várias corridas, dias, operadores e instrumentos.

Os resultados de soro e plasma EDTA com ambos os volumes de processamento de amostras estão indicados da Tabela 4 a Tabela 7. O estudo demonstra que o **cobas**® HCV detectou RNA de HCV em uma concentração de 9,2 UI/ml em plasma EDTA e de 7,6 UI/ml em soro com uma taxa de positividade de $\geq 95\%$ conforme determinado por PROBIT relativo ao volume de processamento de amostras de 400 µl e a uma concentração de 15,2 UI/ml em plasma EDTA e de 15,3 UI/ml em soro com uma taxa de positividade de $\geq 95\%$ conforme determinado por PROBIT relativo ao volume de processamento de amostras de 200 µl.

Tabela 4: Limite de detecção em plasma EDTA (400 µl)

Concentração de título de entrada (RNA de HCV UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade
42,0	125	125	100,0%
21,0	124	124	100,0%
15,0	125	123	98,4%
9,0	124	117	94,4%
5,0	126	103	81,8%
3,0	125	80	64,0%
0,0	36	0	0,0%
LoD por PROBIT com taxa de positividade de 95%	9,2 UI/ml Faixa de confiança de 95%: 7,8-11,5 UI/ml		

Tabela 5: Limite de detecção em soro (400 µl)

Concentração de título de entrada (RNA de HCV UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade
42,0	125	125	100,0%
21,0	126	126	100,0%
15,0	126	126	100,0%
9,0	126	120	95,2%
5,0	126	110	87,3%
3,0	126	86	68,3%
0,0	36	0	0,0%
LoD por PROBIT com taxa de positividade de 95%	7,6 UI/ml Faixa de confiança de 95%: 6,5-9,5 UI/ml		

Tabela 6: Limite de detecção em plasma EDTA (200 µl)

Concentração de título de entrada (RNA de HCV UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade
60,0	126	126	100,0%
45,0	125	125	100,0%
25,0	125	125	100,0%
18,0	124	119	96,0%
10,0	126	106	84,1%
5,0	124	69	55,7%
0,0	36	0	0,0%
LoD por PROBIT com taxa de positividade de 95%	15,2 UI/ml Faixa de confiança de 95%: 13,1-18,5 UI/ml		

Tabela 7: Limite de detecção em soro (200 µl)

Concentração de título de entrada (RNA de HCV UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade
60,0	126	126	100,0%
45,0	126	126	100,0%
25,0	126	123	97,6%
18,0	126	125	99,2%
10,0	126	106	84,1%
5,0	125	73	58,4%
0,0	36	0	0,0%
LoD por PROBIT com taxa de positividade de 95%	15,3 UI/ml Faixa de confiança de 95%: 13,1-18,7 UI/ml		

Faixa linear

Foi determinada a linearidade do **cobas**® HCV por análise de uma série de diluições, usando um painel de 13 membros com o genótipo do HCV predominante (GT 1a) abrangendo a faixa linear do ensaio. Os membros do painel de título elevado foram preparados a partir de um estoque de armored RNA (arRNA) de título elevado, enquanto que os membros do painel de título baixo foram preparados a partir de uma amostra clínica (AC). O painel de linearidade foi concebido para ter uma sobreposição de título de aproximadamente $2 \log_{10}$ entre estes dois materiais de origens diferentes.

Com volume de processamento de amostra de 400 μ l, o **cobas**® HCV é linear para soro e plasma EDTA de 15,0 UI/ml a $1,0E+08$ UI/ml e apresenta um desvio máximo da regressão linear mais adequada inferior a $\pm 0,08 \log_{10}$. Ao longo da faixa linear, a exatidão do teste estava dentro de $\pm 0,20 \log_{10}$ para plasma EDTA e dentro de $\pm 0,23 \log_{10}$ para soro.

Com volume de processamento de amostra de 200 μ l, o **cobas**® HCV é linear para soro e plasma EDTA de 25 UI/ml a $1,0E+08$ UI/ml e apresenta um desvio máximo da regressão linear mais adequada inferior a $\pm 0,09 \log_{10}$. Ao longo da faixa linear, a exatidão do teste estava dentro de $\pm 0,20 \log_{10}$ para plasma EDTA e dentro de $\pm 0,25 \log_{10}$ para soro.

Veja Figura 2 a Figura 5 para obter resultados representativos.

Figura 2: Linearidade em plasma EDTA (400 μ l)

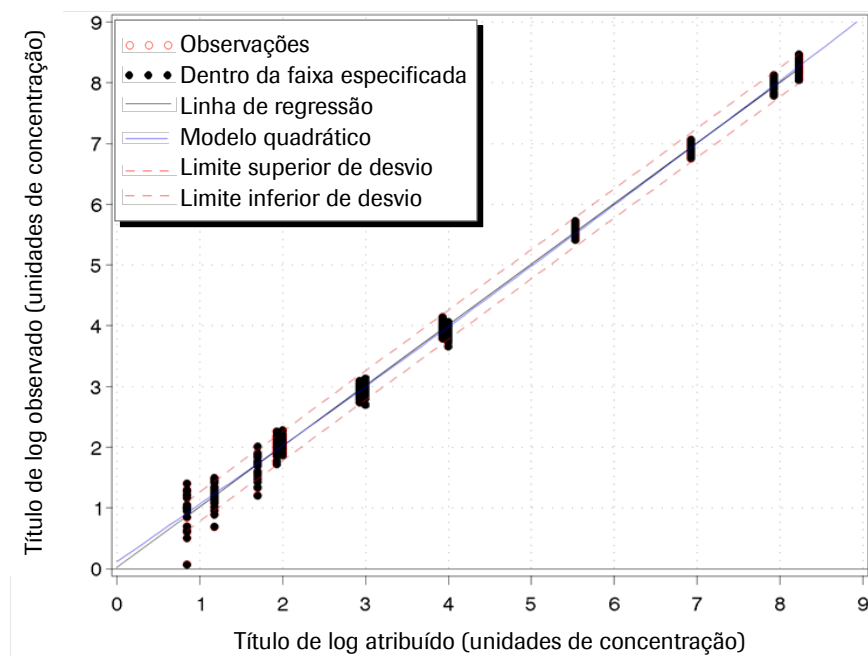


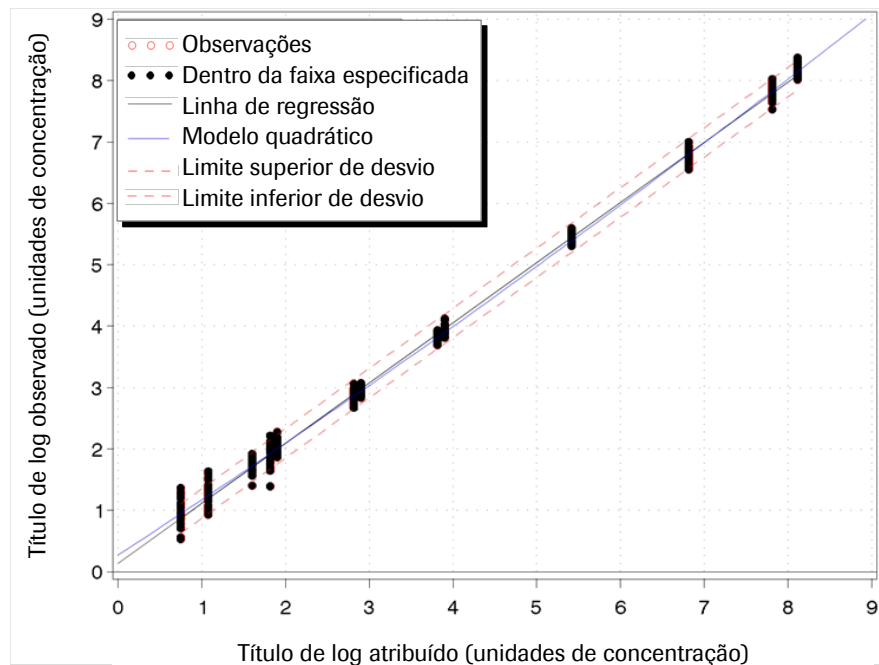
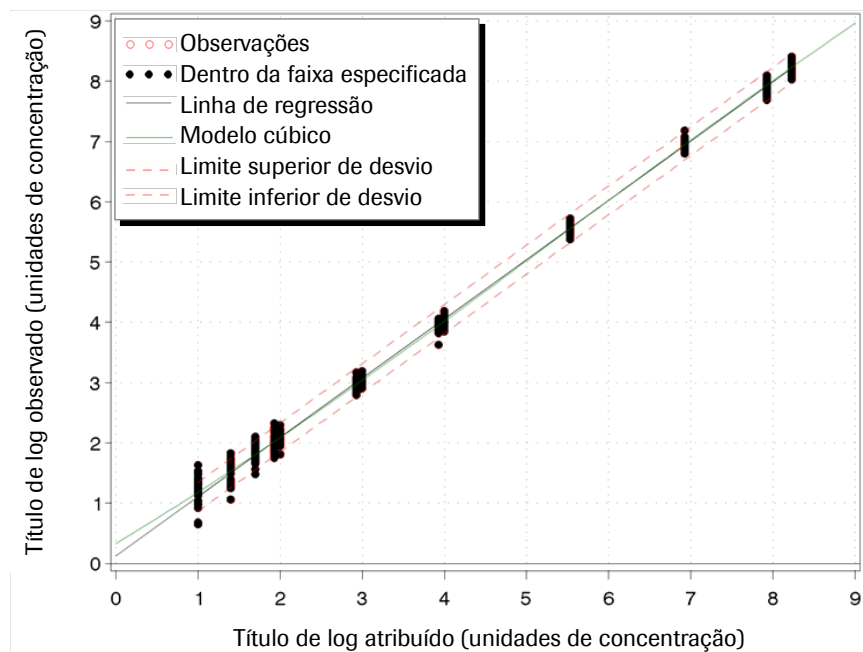
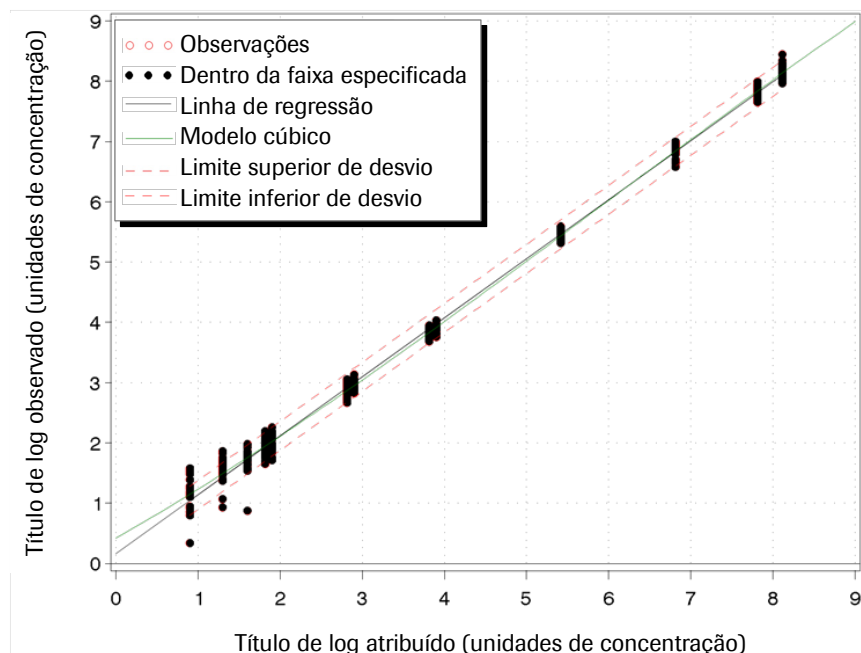
Figura 3: Linearidade em soro (400 µl)**Figura 4:** Linearidade em plasma EDTA (200 µl)

Figura 5: Linearidade em soro (200 µl)

Precisão – em laboratório

A precisão do **cobas**® HCV foi determinada mediante análise de diluições em uma série de amostras clínicas (AC) de HCV (genótipo 1a) e de HCV com armored RNA (arRNA) em soro e plasma EDTA com HCV negativo. Foram testados cinco níveis de diluição em 72 réplicas para cada nível, matriz e volume de processamento de amostra em três lotes de reagentes de **cobas**® HCV, usando dois instrumentos e três operadores ao longo de 12 dias. Cada amostra foi sujeita ao procedimento completo do **cobas**® HCV no sistema **cobas**® 4800. Portanto, a precisão aqui reportada representa todos os aspectos do procedimento de teste. Os resultados são exibidos nas Tabela 8 a Tabela 11.

O **cobas**® HCV demonstrou alta precisão em três lotes de reagentes testados em uma faixa de concentração de 1,0E+03 UI/ml a 1,0E+08 UI/ml com ambos os volumes de processamento de amostras de 200 µl e 400 µl.

Tabela 8: Precisão em laboratório do **cobas**® HCV (amostras de plasma EDTA – volume de processamento de amostras de 400 µl)*

Concentração nominal (UI/ml)	Concentração atribuída (UI/ml)	Material de origem	Plasma EDTA			
			Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos os lotes
			DP	DP	DP	DP junto
1,0E+08	8,5E+07	arRNA	0,05	0,06	0,05	0,06
1,0E+07	8,5E+06	arRNA	0,06	0,06	0,06	0,06
4,0E+05	3,4E+05	arRNA	0,06	0,05	0,06	0,06
1,0E+04	9,9E+03	AC	0,10	0,10	0,10	0,10
1,0E+03	9,9E+02	AC	0,09	0,08	0,07	0,08

* Os dados de título são considerados como tendo distribuição log-normal e são analisados de acordo com transformação \log_{10} . As colunas de desvio padrão (DP) apresentam a totalidade dos títulos com transformação logarítmica para cada um dos três lotes de reagente.

Tabela 9: Precisão em laboratório do **cobas®** HCV (amostras de soro – volume de processamento de amostras de 400 µl)*

Concentração nominal (UI/ml)	Concentração atribuída (UI/ml)	Material de origem	Soro			
			Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos os lotes
			DP	DP	DP	DP junto
1,0E+08	6,5E+07	arRNA	0,07	0,12	0,14	0,12
1,0E+07	6,5E+06	arRNA	0,07	0,07	0,09	0,08
4,0E+05	2,6E+05	arRNA	0,07	0,06	0,07	0,07
1,0E+04	7,9E+03	AC	0,07	0,05	0,08	0,07
1,0E+03	7,9E+02	AC	0,07	0,05	0,06	0,06

*Os dados de título são considerados como tendo distribuição log-normal e são analisados de acordo com transformação \log_{10} . As colunas de desvio padrão (DP) apresentam a totalidade dos títulos com transformação logarítmica para cada um dos três lotes de reagente.

Tabela 10: Precisão em laboratório do **cobas®** HCV (amostras de plasma EDTA – volume de processamento de amostras de 200 µl)*

Concentração nominal (UI/ml)	Concentração atribuída (UI/ml)	Material de origem	Plasma EDTA			
			Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos os lotes
			DP	DP	DP	DP junto
1,0E+08	8,5E+07	arRNA	0,07	0,09	0,06	0,07
1,0E+07	8,5E+06	arRNA	0,05	0,05	0,05	0,05
4,0E+05	3,4E+05	arRNA	0,04	0,05	0,07	0,05
1,0E+04	9,9E+03	AC	0,06	0,06	0,07	0,06
1,0E+03	9,9E+02	AC	0,06	0,07	0,05	0,06

*Os dados de título são considerados como tendo distribuição log-normal e são analisados de acordo com transformação \log_{10} . As colunas de desvio padrão (DP) apresentam a totalidade dos títulos com transformação logarítmica para cada um dos três lotes de reagente.

Tabela 11: Precisão em laboratório do **cobas®** HCV (soro – volume de processamento de amostras de 200 µl)*

Concentração nominal (UI/ml)	Concentração atribuída (UI/ml)	Material de origem	Soro			
			Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos os lotes
			DP	DP	DP	DP junto
1,0E+08	6,5E+07	arRNA	0,05	0,06	0,06	0,06
1,0E+07	6,5E+06	arRNA	0,07	0,07	0,05	0,06
4,0E+05	2,6E+05	arRNA	0,08	0,05	0,07	0,07
1,0E+04	7,9E+03	AC	0,04	0,04	0,04	0,04
1,0E+03	7,9E+02	AC	0,04	0,06	0,05	0,05

*Os dados de título são considerados como tendo distribuição log-normal e são analisados de acordo com transformação \log_{10} . As colunas de desvio padrão (DP) apresentam a totalidade dos títulos com transformação logarítmica para cada um dos três lotes de reagente.

Verificação de genótipos

O desempenho do **cobas®** HCV em genótipos HCV foi avaliado por:

- Verificação do limite de detecção dos genótipos 1b a 6
- Verificação da linearidade dos genótipos 1b a 6
- A atribuição de títulos foi executada com o **cobas®** HCV.

Verificação do limite de detecção dos genótipos 1b a 6

Foram diluídas amostras clínicas de RNA de HCV para seis genótipos diferentes (1b, 2, 3, 4, 5, 6) em plasma EDTA e soro para a concentração de LoD de plasma EDTA do genótipo predominante (HCV GT 1a) com base em análises LoD a uma taxa de positividade de 95% (15,0 UI/ml). A análise da taxa de positividade foi executada com 42 réplicas para cada genótipo e matriz de amostra. Estes resultados demonstram que o **cobas**® HCV detectou HCV dos genótipos de HCV 1b, 2, 3, 4, 5 e 6 à concentração de 15 UI/ml, com uma faixa de confiança superior unilateral de 95% superior à taxa de positividade esperada de 95%.

Tabela 12: Verificação do LoD dos genótipos 1b a 6 do HCV em plasma EDTA 400 µl

Genótipo	Taxa de positividade	Faixa de confiança superior unilateral de 95%
GT 1b	95,2%	99,1%
GT 2	100,0%	100,0%
GT 3	100,0%	100,0%
GT 4	100,0%	100,0%
GT 5	100,0%	100,0%
GT 6	97,6%	99,9%

Tabela 13: Verificação do LoD dos genótipos 1b a 6 do HCV em soro 400 µl

Genótipo	Taxa de positividade	Faixa de confiança superior unilateral de 95%
GT 1b	100,0%	100,0%
GT 2	100,0%	100,0%
GT 3	100,0%	100,0%
GT 4	100,0%	100,0%
GT 5	100,0%	100,0%
GT 6	100,0%	100,0%

Verificação da faixa linear dos genótipos 1b a 6

A série de diluições usada na verificação do estudo de linearidade dos genótipos do **cobas**® HCV consiste em um painel de nove membros abrangendo a faixa linear desejada. Os membros do painel de título elevado foram preparados a partir de um estoque de arRNA de título elevado, enquanto que os membros do painel de título baixo foram preparados a partir de uma amostra clínica (AC) de título elevado. O painel de linearidade foi concebido para ter uma sobreposição mínima de título de 2 log₁₀ entre as duas fontes de material. A faixa linear do **cobas**® HCV estendeu-se desde o LLoQ (15,0 UI/ml para um volume de processamento de amostras de 400 µl) até ao ULoQ (1,0E+08 UI/ml) e incluiu, pelo menos, dois pontos de decisão clínica. Foram testadas 12 réplicas por nível em plasma EDTA.

A faixa linear do **cobas**® HCV foi verificado para todos os seis genótipos (1b, 2, 3, 4, 5 e 6). O desvio máximo entre a regressão linear e a regressão não linear mais adequada foi igual ou inferior a 0,14 log₁₀.

Especificidade

A especificidade do **cobas**® HCV foi determinada mediante análise de amostras de soro e plasma EDTA negativo para HCV de dadores individuais. Foram testadas 612 amostras individuais de plasma EDTA e 613 amostras individuais de soro (1225 resultados no total) com três lotes de reagentes do **cobas**® HCV. Tiveram resultado negativo relativo a RNA de HCV 609 amostras em plasma EDTA e 613 amostras em soro. No painel de teste, a especificidade do **cobas**® HCV foi de 99,5% em plasma (limite de confiança de 95%: $\geq 98,7\%$) e de 100,0% (limite de confiança de 95%: $\geq 99,5\%$) em soro.

Especificidade analítica

A especificidade analítica do **cobas**® HCV foi avaliada mediante a diluição de um painel de agentes patogênicos (Tabela 14) com RNA de HCV positivo e com plasma EDTA com RNA de HCV negativo. Os agentes patogênicos foram adicionados a plasma EDTA negativo e testados com e sem RNA de HCV. Foram obtidos resultados negativos com o **cobas**® HCV em todas as amostras de agentes patogênicos sem alvo de HCV e resultados positivos em todas as amostras de agentes patogênicos com alvo de HCV. Além disso, o título médio de \log_{10} de cada uma das amostras de HCV positivo contendo organismos com potencial de reatividade cruzada estava dentro de $\pm 0,09 \log_{10}$ do título médio de \log_{10} do respectivo controle positivo.

Tabela 14: Agentes patogênicos testados a reatividade cruzada

Vírus		Bactérias	Leveduras
Adenovírus tipo 5	Vírus do herpes simples, tipos 1 e 2	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida albicans</i>
Citomegalovírus	Papilomavírus humano	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Vírus da dengue, tipos 1, 2, 3 e 4	Vírus da influenza A		
Vírus de Epstein Barr	Vírus da encefalite de Murray Valley		
Vírus da encefalite por carraça (estirpe HYPR)	Vírus da encefalite de São Luís		
Vírus da hepatite A	Vírus Varicela-Zoster		
Vírus da hepatite B	Vírus da Febre do Nilo Ocidental		
Vírus da imunodeficiência humana 1	Vírus da febre amarela		
Vírus T-linfotrópico humano, tipos 1 e 2	Vírus Zika		
Vírus do herpes humano tipo 6			

Especificidade analítica – substâncias interferentes

Níveis elevados de triglicéridos (27,9 a 29,0 g/l), de bilirrubina conjugada (0,18 a 0,22 g/l), de bilirrubina não conjugada (0,19 a 0,2 g/l), de albumina (57,8 a 60,6 g/l), de hemoglobina (1,8 a 2,3 g/l) e de DNA humano (2 mg/l) nas amostras foram testados na presença e ausência de RNA de HCV. Foi demonstrado que as substâncias testadas não interferem com o desempenho do teste **cobas**® HCV. Além disso, foi testada a presença de marcadores para as doenças autoimunes lúpus eritematoso sistêmico (LES), artrite reumatóide (AR) e anticorpos antinucleares (ANA).

Adicionalmente, os compostos de fármacos listados na Tabela 15 foram testados com três vezes a C_{max} com e sem RNA de HCV.

Ficou demonstrado que todas substâncias potencialmente interferentes não interferem com o desempenho do teste. Foram obtidos resultados negativos com o **cobas**® HCV em todas as amostras sem alvo de HCV e resultados positivos em todas as amostras com alvo de HCV. Além disso, o título médio de \log_{10} de cada uma das amostras de HCV positivo contendo substâncias potencialmente interferentes estava a $\pm 0,04 \log_{10}$ dentro do título médio de \log_{10} do respectivo controle positivo.

Tabela 15: Compostos de fármacos testados à potencial interferência com a quantificação de RNA de HCV pelo cobas® HCV

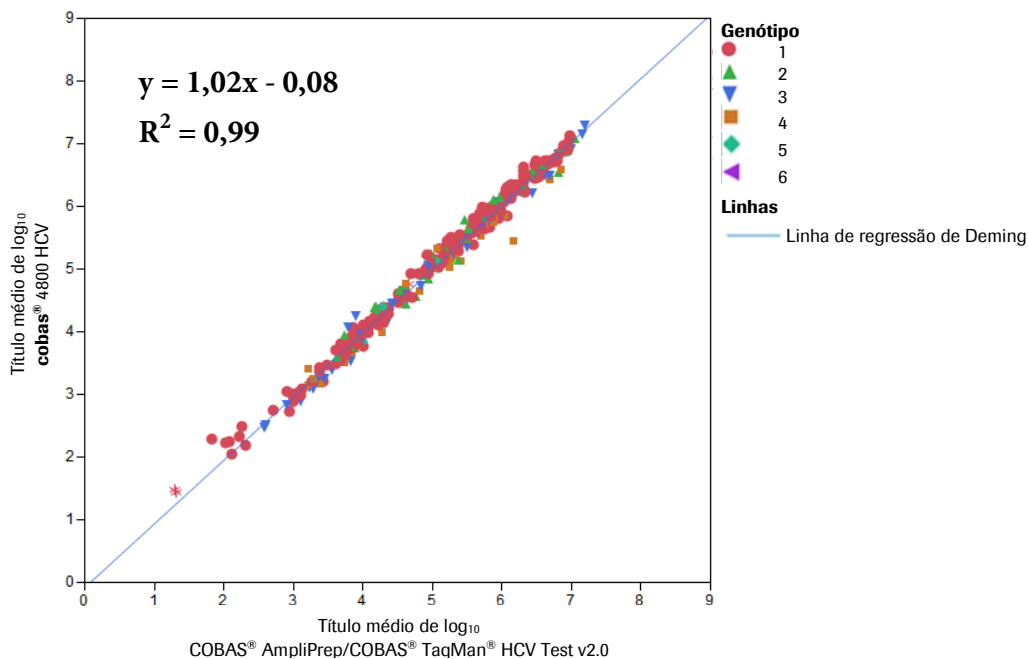
Classe do fármaco	Nome genérico do fármaco	
Moduladores de imunidade	Peginterferon α -2a	Ribavirina
	Peginterferon α -2b	
Inibidor de fusão de HIV	Maraviroc	
Inibidores da integrase de HIV	Elvitegravir/Cobicistat	Raltegravir
Inibidores da transcriptase reversa não nucleosídeos de HIV	Efavirenz	Nevirapina
	Etravirina	Rilpivirina
Inibidores de protease de HIV	Atazanavir	Nelfinavir
	Darunavir	Ritonavir
	Fosamprenavir	Saquinavir
	Lopinavir	Tipranavir
Inibidores de protease de HCV	Boceprevir	Telaprevir
	Simeprevir	
Inibidores de transcriptase reversa ou de DNA polimerase	Abacavir	Ganciclovir
	Aciclovir	Lamivudina
	Adefovir dipivoxil	Sofosbuvir
	Cidofovir	Telbivudina
	Emtricitabina	Tenofovir
	Entecavir	Valganciclovir
	Foscarnet	Zidovudina
Compostos para o tratamento de infecções oportunistas	Azitromicina	Pirazinamida
	Claritromicina	Rifabutina
	Etambutol	Rifampicina
	Fluconazol	Sulfametoxazol
	Isoniazida	Trimetoprima

Correlação de métodos

Avaliação do desempenho do cobas® HCV em comparação com o teste COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative, v2.0

O desempenho do cobas® HCV e do teste quantitativo COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 (teste TaqMan® HCV, v2.0) foi comparado mediante análise de amostras de soro e de plasma EDTA de pacientes infectados com HCV. Um total de 176 amostras de plasma EDTA e de 176 amostras de soro de todos os genótipos de HCV, analisadas em duplicado, foram validadas e estavam dentro da faixa de quantificação dos dois testes. Foi executada a análise de regressão de Deming. O desvio médio de título das amostras testadas com os dois testes foi de 0,0 log₁₀ (faixa de confiança de 95%: -0,01; 0,01).

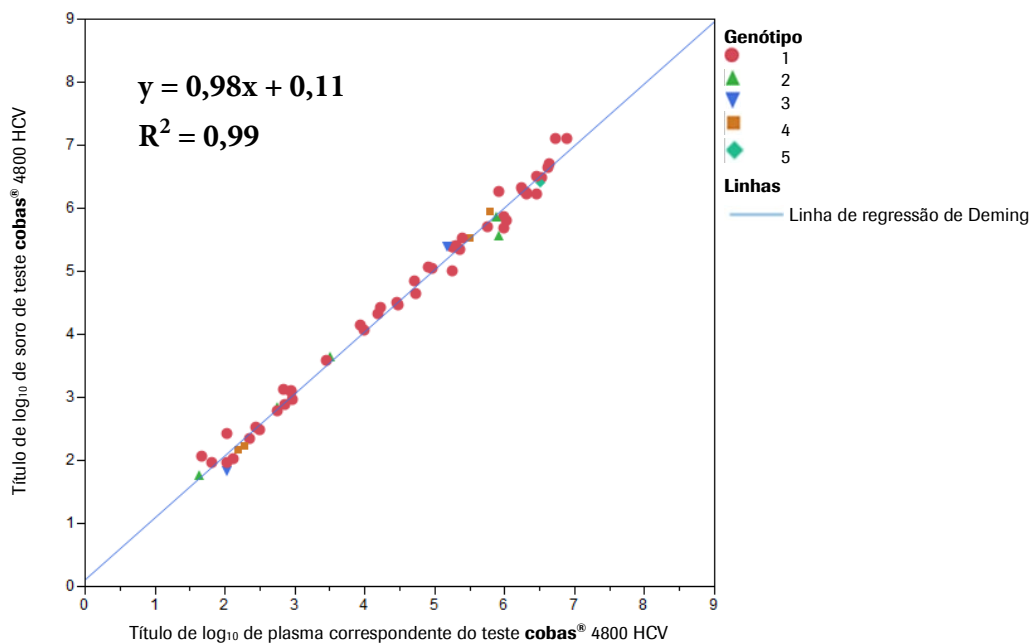
Os resultados da regressão de Deming são exibidos na Figura 6. O símbolo * nas figuras indica determinação individual. A cor representa o genótipo.

Figura 6: Análise de regressão do cobas® HCV vs teste TaqMan® HCV, v2.0, amostras de plasma EDTA e de soro

Equivalência de matrizes – plasma EDTA versus soro

Foram analisadas quanto à equivalência de matrizes 114 amostras emparelhadas de plasma EDTA e soro. Das mesmas, 59 amostras emparelhadas tinham HCV positivo. As amostras com HCV positivo abrangiam os genótipos 1 a 5 ao longo da faixa linear.

O desvio médio de título das amostras medido nas amostras correspondentes de plasma EDTA e de soro foi de $0,04 \log_{10}$ (faixa de confiança de 95%: 0,00; 0,08) (Figura 7).

Figura 7: Desempenho de equivalência de matrizes entre plasma EDTA e soro

Falha global do sistema

Foi determinada a taxa de falha global do sistema do **cobas**® HCV testando 100 réplicas de plasma EDTA adulterado com o alvo de HCV. Estas amostras foram testadas com uma concentração alvo de aproximadamente $3 \times \text{LLoQ}$ (45,0 UI/ml).

Os resultados deste estudo determinaram que todas as réplicas eram válidas e positivas para o HCV, originando uma taxa de falha do sistema global de 0,0%. A faixa de confiança bilateral exato de 95% foi de 0,0% para o limite inferior e de 3,6% para o limite superior [0,0%: 3,6%].

Contaminação cruzada

A taxa de contaminação cruzada para o **cobas**® HCV foi determinada testando 230 réplicas de amostras de plasma EDTA negativo para o HCV e 235 réplicas de uma amostra de HCV de título elevado a $1,8\text{E}+08$ UI/ml. No total, foram executadas cinco corridas com amostras positivas e negativas em uma configuração de “tabuleiro de xadrez”.

229 das 230 réplicas de amostras negativas foram válidas e determinadas negativas, originando uma taxa de contaminação cruzada de 0,0%, com uma faixa de confiança unilateral a 95% de 1,3%.

Informações adicionais





















































Principais características do teste

Tipo de amostra	Plasma EDTA, soro
Volume de processamento de amostras	400 µl ou 200 µl
Sensibilidade analítica	9,2 UI/ml (400 µl) 15,3 UI/ml (200 µl)
Faixa linear	400 µl: 15,0 UI/ml - 1,0E+08 UI/ml 200 µl: 25,0 UI/ml - 1,0E+08 UI/ml
Especificidade	99,5% (faixa de confiança unilateral de 95%: 98,7%)
Genótipos detectados	Genótipos 1 a 6 de HCV

Símbolos

Os seguintes símbolos são usados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche.

Tabela 16: Símbolos usados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche

 Idade ou data de nascimento	 Dispositivo não adequado para testes executados próximo dos pacientes	 UI QS por reação PCR, use as Unidades Internacionais QS (UI) por reação PCR no cálculo dos resultados.
 Software auxiliar	 Dispositivo não adequado para autotestes	 Número de série
 Faixa atribuída (cópias/ml)	 Distribuidor <i>(Nota: o país/região aplicável poderá estar exibido abaixo do símbolo)</i>	 Local
 Faixa atribuída (UI/ml)	 Não reutilizar	 Procedimento padrão
 Representante autorizado na Comunidade Europeia	 Mulher	 Esterilizado com óxido de etileno
 Código de barras da Ficha de dados	 Apenas para avaliação do desempenho IVD	 Guardar em lugar escuro
 Número da bateria	 Global Trade Item Number	 Limite de temperatura
 Riscos biológicos	 Importador	 Arquivo de definição de teste
 Número de catálogo	 Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Este lado para cima
 Marcação de conformidade CE; este dispositivo está em conformidade com os requisitos aplicáveis para marcação CE de m dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	 Limite inferior da faixa atribuída	 Procedimento ultrasensível
 Data da coleta	 Homem	 Identificador Único de Dispositivo
 Consulte as instruções de uso	 Fabricante	 Limite superior da faixa atribuída
 Conteúdo suficiente para <n> testes	 Controle negativo	 Linha de enchimento da urina
 Conteúdo do kit	 Não esterilizado	 Apenas nos EUA: a Lei federal dos Estados Unidos restringe a venda deste dispositivo a um profissional licenciado ou a pedido deste.
 Controle	 Nome do paciente	 Usar até
 Data do fabricaço	 Número do paciente	
 Dispositivo para testes executados próximo dos pacientes	 Abrir aqui	
 Dispositivo para autotestes	 Controle positivo	
	 Cópia QS por reação PCR, use as cópias QS por reação PCR no cálculo dos resultados.	

Suporte técnico

Para obter suporte técnico (assistência), contate sua filial local:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricante

Tabela 17: Fabricante



Fabricado nos Estados Unidos

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

Fabricado nos EUA

Marcas registradas e patentes

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

Direito autoral

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Referências

1. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 1989;244(4902):359-362.
2. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, McQuillan GM, Kuhnert WL, Alter MJ. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med*. 2006;144(10):705-714.
3. Rustgi VK. The epidemiology of hepatitis C infection in the United States. *J Gastroenterol*. 2007;42(7):513-521.
4. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2001;345(1):41-52.
5. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med*. 1998;339(21):1485-1492.
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med*. 1998;339(21):1493-1499.
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet*. 2001;358(9286):958-965.
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2002;347(13):975-982.
9. Hadziyannis SJ, Sette H, Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med*. 2004;140(5):346-355.
10. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. American Association for the Study of Liver Disease (AASLD) Practice Guidelines. Diagnosis, Management, and Treatment of Hepatitis C: An Update *Hepatology*. 2009;49(4):1335-1374.
11. Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; American Association for Study of Liver Diseases. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2011;54(4):1433-1444.
12. Poordad F, McCone J, Jr, Bacon BR, et al. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*. 2011;364(13):1195-1206.
13. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2011;364(25):2405-2416.
14. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*. 2011;364(13):1207-1217.
15. Zeuzem S, Andreone P, Pol S, et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med*. 2011;364(25):2417-2428.
16. Lawitz E, Mangia A, Wyles D, t al. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *N Engl J Med*. 2013;368(20):1878-1887.
17. Jacobson IM, Gordon SC, Kowdley KV, et al. Sofosbuvir for hepatitis C genotype 2 or 3 in patients without treatment options. *N Engl J Med*. 2013;368(20):1867-1877.

18. Liang TJ, Ghany MG. Current and future therapies for hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2013;368(20):1907-1917.
19. Rutter K, Hofer H, Beinhardt S, et al. Durability of SVR in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon-alpha2a/ribavirin in combination with a direct-acting anti-viral. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013;38(2):118-123.
20. European Association for the Study of the Liver (EASL) Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2014. Available at: http://www.easl.eu/_newsroom/latest-news/easl-recommendations-on-treatment-of-hepatitis-c-2014.
21. Pawlotsky JM. Use and interpretation of hepatitis C virus diagnostic assays. *Clin Liver Dis.* 2003; 7:127-137.
22. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene.* 1990;93:125-128.
23. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature.* 1995;373:487-493.
24. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell.* 1995;80:869-878.
25. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY).* 1992;10:413-417.
26. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996;6:986-994.
27. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
28. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Revisão do documento

Informações sobre a revisão do documento	
Doc Rev. 7.0 02/2024	<p>Atualizadas as informações sobre perigos dos kits Lysis Kit 2.</p> <p>Atualizada a página de símbolos harmonizados.</p> <p>Seção de Suporte técnico adicionada.</p> <p>Seção Marcas registradas e patentes atualizada, incluindo o link.</p> <p>Atualização para os Operadores Econômicos atuais.</p> <p>Adicionada indicação do local de fabricação.</p> <p>Marca cobas® atualizada.</p> <p>Símbolo "Rx Only" adicionado.</p> <p>Em caso de dúvidas, contate seu representante local da Roche.</p>
Doc Rev. 8.0 08/2024	<p>Rx Only removido da primeira página.</p> <p>Informações de perigos dos kits de Wash Buffer.</p> <p>Atualizada a página de símbolos harmonizados.</p> <p>Em caso de dúvidas, contate seu representante local da Roche.</p>