

cobas[®] HCV

Test quantitativo degli acidi nucleici per l'uso sui cobas[®] 6800/8800 Systems

Per uso diagnostico in vitro

cobas[®] HCV	P/N: 06997732190
cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	P/N: 06997767190
cobas[®] NHP Negative Control Kit	P/N: 07002220190

Indice generale

Uso previsto	4
Riassunto e spiegazione del test	4
Reagenti e materiali	6
Reagenti e controlli cobas® HCV.....	6
Reagenti cobas omni per la preparazione dei campioni.....	9
Requisiti per la conservazione e la manipolazione dei reagenti.....	10
Materiali aggiuntivi necessari	11
Strumentazione e software necessari	11
Precauzioni e requisiti per l'uso.....	12
Avvertimenti e precauzioni.....	12
Manipolazione dei reagenti.....	13
Buone pratiche di laboratorio.....	13
Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni	13
Campioni.....	14
Istruzioni per l'uso.....	15
Note sulla procedura.....	15
Esecuzione del test cobas® HCV	15
Risultati	16
Controllo di qualità e validità dei risultati	16
Interpretazione dei risultati	17
Limiti della procedura	17

Valutazione delle prestazioni non cliniche..... 18

Caratteristiche delle prestazioni	18
Limite di sensibilità (LoD).....	18
Intervallo lineare	20
Precisione intra-laboratorio	23
Verifica del genotipo	25
Specificità.....	28
Specificità analitica	28
Specificità analitica e sostanze interferenti.....	29
Correlazione tra i metodi.....	31
Equivalenza tra matrici – Plasma EDTA e siero.....	32
Tasso globale d'errore del sistema	32
Contaminazione crociata.....	32

Informazioni supplementari..... 33

Caratteristiche del test	33
Simboli.....	34
Assistenza tecnica.....	35
Produttore e distributori	35
Marchi e brevetti.....	35
Copyright.....	35
Bibliografia	36
Revisione del documento	38

Uso previsto

Il test cobas® HCV consente l'amplificazione in vitro degli acidi nucleici sia per la rilevazione, sia per la quantificazione dell'RNA del virus dell'epatite C (HCV), genotipi 1-6, in siero o in plasma umano con EDTA prelevati a soggetti infetti da HCV.

cobas® HCV è destinato all'uso come ausilio per la diagnosi dell'infezione da HCV nelle seguenti popolazioni: soggetti con evidenza di anticorpo anti-HCV e con evidenza di patologia epatica; soggetti con sospetta infezione attiva e con evidenza di anticorpo anti-HCV; soggetti a rischio di infezione da HCV con anticorpi anti-HCV. La rilevazione dell'RNA di HCV indica che il virus si sta replicando e dimostra pertanto che è in atto un'infezione.

Il test è destinato all'uso per la gestione dei pazienti con HCV cronica, contestualmente ad altri marker dell'infezione di tipo clinico e di laboratorio. Il test può essere usato per prevedere precocemente la probabilità di risposta virologica sostenuta (Sustained Virologic Response, SVR) nel corso di una terapia antivirale e per valutare la risposta virale al trattamento antivirale (terapia guidata dalla risposta), che viene misurata in base alle variazioni dei livelli di RNA di HCV nel siero o nel plasma EDTA. I risultati devono essere interpretati contestualmente a tutti i dati clinici correlati e ai riscontri di laboratorio.

Riassunto e spiegazione del test

Premessa

Il virus dell'epatite C (HCV) è considerato il principale agente eziologico nel 90-95% dei casi di epatite post-trasfusionale.¹⁻⁴ L'HCV è un virus con RNA a singolo filamento a senso positivo, con un genoma di circa 9.500 nucleotidi codificanti per 3.000 aminoacidi. Essendo un virus ematogeno, l'HCV può essere trasmesso dal sangue e dagli emoderivati. L'ampia adozione di misure di screening anti-HCV del sangue ha abbassato in modo significativo il rischio di epatite associata a trasfusioni. L'incidenza dell'infezione da HCV aumenta se è associata ad abuso di stupefacenti per via endovenosa e, in misura minore, ad altre esposizioni percutanee.⁴

La quantificazione dell'RNA di HCV per la misurazione delle cariche virali di base e per il monitoraggio costante della terapia si è affermata come un valido metodo per dimostrare l'efficacia della risposta antivirale alla terapia combinata con interferone pegilato (PegIFN) e ribavirina (RBV).⁵⁻⁹ Le attuali linee guida per la gestione e il trattamento dell'HCV^{10,11} suggeriscono di eseguire l'analisi quantitativa dell'RNA di HCV prima di iniziare la terapia antivirale, a intervalli precisi durante la terapia (terapia guidata dalla risposta, RGT) e dopo 12 settimane o più tardi, dopo la fine della terapia.

L'obiettivo della terapia è la conferma dell'assenza di RNA di HCV con un test sensibile dopo 12 settimane dalla fine del trattamento. Tale assenza indica che si è ottenuta una risposta virologica sostenuta (Sustained Virologic Response, SVR).¹⁰

La determinazione della cinetica virale durante la terapia viene utilizzata per favorire una maggiore personalizzazione della durata del trattamento con gli agenti antivirali ad azione diretta (DAA) di recente approvazione, che sono gli inibitori della proteasi telaprevir e boceprevir.¹²⁻¹⁵

Perché utilizzare i test HCV

In futuro è previsto uno sviluppo massiccio e dinamico di nuove terapie farmacologiche contro l'HCV. Il monitoraggio della carica virale continuerà ad essere il principale test di laboratorio per confermare il raggiungimento dell'obiettivo SVR con i farmaci DAA, ad esempio gli inibitori della proteasi di seconda generazione, gli inibitori nucleosidici della polimerasi HCV e gli altri meccanismi ad azione antivirale.¹⁶⁻¹⁹

In sintesi, il test **cobas**® HCV per l'uso sui **cobas**® 6800/8800 Systems è un esame quantitativo dell'RNA di HCV e della cinetica virale, destinato all'uso nei laboratori di supporto ai trial clinici e nella gestione dei pazienti con HCV nella pratica clinica di routine.

Spiegazione del test

Il test quantitativo **cobas**® HCV può essere eseguito sul **cobas**® 6800 System e sul **cobas**® 8800 System. Il test **cobas**® HCV supporta la rilevazione e la quantificazione dell'RNA di HCV nel siero o nel plasma EDTA prelevati a pazienti infetti. Vengono utilizzate sonde doppie per rilevare e quantificare, ma non per discriminare, i genotipi 1-6. La carica virale viene quantificata rispetto a uno standard di quantificazione costituito da Armored RNA non HCV (RNA-QS), che viene introdotto in ogni campione nella fase di preparazione. L'RNA-QS funge inoltre da controllo interno per monitorare l'intero processo di preparazione dei campioni e amplificazione PCR. Il test utilizza inoltre tre controlli esterni: un controllo positivo a titolo alto, un controllo positivo a titolo basso e un controllo negativo.

Principi della procedura

Il test **cobas**® HCV si basa sulla completa automazione della preparazione dei campioni completamente (estrazione e purificazione dell'acido nucleico) e sulla successiva amplificazione e rilevazione mediante PCR. I **cobas**® 6800/8800 Systems sono costituiti dal modulo di inserimento dei campioni, dal modulo di trasferimento, dal modulo di preparazione e dal modulo analitico. Il software **cobas**® 6800/8800 si occupa della gestione automatica dei dati, assegnando i seguenti risultati dei test: "target not detected" (target non rilevato), "< LLoQ" (minore del limite inferiore di quantificazione), "> ULoQ" (maggiore del limite superiore di quantificazione) o "HCV RNA detected" (RNA di HCV rilevato), un valore compreso nell'intervallo lineare "LLoQ < x < ULoQ". I risultati possono essere visualizzati direttamente sullo schermo del sistema, esportati o stampati in un report.

Gli acidi nucleici ottenuti dai campioni dei pazienti, dai controlli esterni e dalle molecole di Armored RNA-QS vengono estratti simultaneamente. In sintesi, gli acidi nucleici virali vengono liberati con l'aggiunta della proteinasi e del reagente di lisi nel campione. L'acido nucleico liberato si lega quindi alla superficie di silice delle biglie di vetro magnetiche aggiunte. Le sostanze che non formano legami e le impurità (ad esempio le proteine denaturate, i detriti cellulari e i potenziali inibitori della PCR) vengono rimosse con il tampone di lavaggio nei passaggi successivi e l'acido nucleico purificato viene eluito dalle biglie di vetro magnetiche con il tampone di eluizione a temperature elevate.

È possibile ottenere l'amplificazione selettiva dell'acido nucleico target estratto dal campione utilizzando dei primer forward e reverse virus-specifici, che vengono selezionati da regioni altamente conservate del genoma dell'HCV. È possibile ottenere l'amplificazione selettiva dello standard di quantificazione RNA-QS utilizzando dei primer forward e reverse sequenza-specifici, che vengono selezionati in modo tale da non presentare nessuna omologia con il genoma dell'HCV. Un enzima DNA polimerasi termostabile viene utilizzato sia per la trascrizione inversa che per l'amplificazione PCR. Le sequenze del target virale e dello standard di quantificazione RNA-QS vengono amplificate simultaneamente, utilizzando un profilo di amplificazione PCR universale con valori predefiniti per temperatura e numero di cicli. La soluzione Master Mix contiene trifosfato di deossiuridina (dUTP) anziché trifosfato di deossitimidina (dTTP), che è incorporato nel DNA appena sintetizzato (amplicone).²⁰⁻²² Tutti gli ampliconi contaminanti che sono stati prodotti da sessioni di PCR precedenti vengono eliminati dall'enzima AmpErase [uracil-N-glicosilasi], che è contenuto nella Master Mix per PCR, durante il primo passaggio del ciclo termico. Gli ampliconi che si sono appena formati non vengono invece eliminati perché l'enzima AmpErase si inattiva dopo l'esposizione a temperature superiori a 55°C.

La soluzione Master Mix **cobas® HCV** contiene due sonde di rilevazione specifiche per le sequenze target di HCV e una sonda specifica per l'RNA-QS. Le sonde sono marcate con fluorocromi reporter specifici per i target, in modo da consentire la rilevazione simultanea del target HCV e dell'RNA-QS in due diversi canali.^{23,24} Quando non è legato alla sequenza target, il segnale fluorescente delle sonde intatte viene soppresso dal fluorocromo quencher. Nella fase di amplificazione mediante PCR, l'ibridizzazione delle sonde con lo stampo specifico di DNA a filamento unico determina la scissione della sonda ad opera dell'attività nucleasica in direzione 5'→3' della DNA polimerasi, con la conseguente separazione dei fluorocromi reporter e quencher e la produzione di un segnale fluorescente. Ad ogni ciclo di PCR vengono generate quantità crescenti di sonde scisse e, in concomitanza, il segnale cumulativo del fluorocromo reporter aumenta. È possibile ottenere la rilevazione real-time e la discriminazione dei prodotti della PCR misurando la fluorescenza dei fluorocromi reporter liberati, che rappresentano rispettivamente i target virali e l'RNA-QS.

Reagenti e materiali

Reagenti e controlli cobas® HCV

Tutti i reagenti e i controlli non ancora aperti devono essere conservati rispettando le condizioni indicate dalla Tabella 1 alla Tabella 4.

Tabella 1 cobas® HCV

cobas® HCV Conservare a 2-8°C Cassetta per 96 test (P/N 06997732190)		
Componenti del kit	Ingredienti del reagente	Quantità per kit 96 test
Soluzione proteinasi (PASE)	Tampone Tris, < 0,05% EDTA, cloruro di calcio, acetato di calcio, 8% proteinasi (p/v) EUH210: Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta. EUH208: Contiene subtilisina. Può provocare una reazione allergica.	13 ml
Standard di quantificazione RNA (RNA-QS)	Tampone Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% Costrutto di Armored RNA non correlato ad HCV contenente regioni di sequenze di legame specifiche per primer e sonda (RNA non infettivo in batteriofago MS2), < 0,1% sodio azide	13 ml
Tampone di eluizione (EB)	Tampone Tris, 0,2% metil-4 idrossibenzoato	13 ml
Master Mix Reagente 1 (MMX-R1)	Acetato di manganese, idrossido di potassio, < 0,1% sodio azide	5,5 ml
HCV Master Mix Reagente 2 (HCV MMX-R2)	Tampone tricina, acetato di potassio, 18% dimetil sulfoxide, glicerolo, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP e dUTP, < 0,01% primer upstream e downstream di HCV, < 0,01% primer forward e reverse QS, < 0,01% sonde oligonucleotidiche fluorescenti specifiche per HCV e per QS di HCV, < 0,01% aptamero oligonucleotidico, < 0,01% DNA polimerasi Z05D, < 0,1% enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasi) (batterico), < 0,1% sodio azide	6 ml

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

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

Conservare a 2-8°C

(P/N 06997767190)

Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
Controllo positivo basso HBV/HCV/HIV-1 (HBV/HCV/HIV-1 L(+))C)	< 0,001% RNA di HIV-1 gruppo M incapsulato in proteina di rivestimento del batteriofago MS2, < 0,001% DNA sintetico (plasmide) di HBV incapsulato in proteina di rivestimento del batteriofago Lambda, < 0,001% RNA sintetico (armored) di HCV incapsulato in proteina di rivestimento del batteriofago MS2, plasma umano normale, non reattivo in base ai test brevettati per gli anticorpi anti-HCV, anti-HIV-1/2, HBsAg, anti-HBc; RNA di HIV-1, RNA di HIV-2, RNA di HCV e DNA di HBV non rilevabili con i metodi PCR 0,1% conservante ProClin® 300**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  AVVERTIMENTO H317: Può provocare una reazione allergica cutanea. H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/ la nebbia/i vapori/gli aerosol. P273: Non disperdere nell'ambiente. P280: Indossare guanti protettivi. P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. P362 + P364: Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente. P501: Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione dei rifiuti autorizzato. 55965-84-9 Massa di reazione di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [N. CE 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-one [N. CE 220-239-6] (3:1).
Controllo positivo alto HBV/HCV/HIV-1 (HBV/HCV/HIV-1 H(+))C)	< 0,001% RNA sintetico (armored), ad alto titolo, di HIV-1 gruppo M incapsulato in proteina di rivestimento del batteriofago MS2, < 0,001% DNA sintetico (plasmide) di HBV incapsulato in proteina di rivestimento del batteriofago Lambda, < 0,001% RNA sintetico (armored) di HCV incapsulato in proteina di rivestimento del batteriofago MS2, plasma umano normale, non reattivo in base ai test brevettati per gli anticorpi anti-HCV, anti-HIV-1/2, HBsAg, anti-HBc; RNA di HIV-1, RNA di HIV-2, RNA di HCV e DNA di HBV non rilevabili con i metodi PCR 0,1% conservante ProClin® 300**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  AVVERTIMENTO H317: Può provocare una reazione allergica cutanea. P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/ la nebbia/i vapori/gli aerosol. P272: Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. P280: Indossare guanti protettivi. P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. P362 + P364: Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente. P501: Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione dei rifiuti autorizzato. 55965-84-9 Massa di reazione di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [N. CE 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-one [N. CE 220-239-6] (3:1).

* L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

** Sostanza pericolosa.

07941714001-04IT

Doc Rev. 4.0 (Mfg-US)

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

Conservare a 2-8°C

(P/N 07002220190)

Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
Controllo negativo di plasma umano normale (NHP-NC)	Plasma umano normale, non reattivo ai test brevettati per gli anticorpi anti-HCV, anti-HIV-1/2, anti-HBc e antigene HBsAg; RNA di HIV-1, RNA di HIV-2, RNA di HCV e DNA di HBV non rilevabili con i metodi PCR. < 0,1% Conservante ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	  AVVERTIMENTO H317: Può provocare una reazione allergica cutanea. P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P272: Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. P280: Indossare guanti protettivi. P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. P362 + P364: Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente. P501: Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione dei rifiuti autorizzato. 55965-84-9 miscela di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [N. CE 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-one [N. CE 220-239-6] (3:1)

* L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

** Sostanza pericolosa.

Reagenti cobas omni per la preparazione dei campioni

Tabella 4 Reagenti **cobas omni** per la preparazione dei campioni*

Reagenti	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Conservare a 2-8°C (P/N: 06997546190)	Biglie di vetro magnetiche, tampone Tris, 0,1% metil-4 idrossibenzoato, < 0,1% sodio azide	480 test	Non applicabile
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Conservare a 2-8°C (P/N: 06997511190)	Tampone Tris, 0,1% metil-4 idrossibenzoato, < 0,1% sodio azide	4 × 875 ml	Non applicabile
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Conservare a 2-8°C (P/N: 06997538190)	43% (p/p) guanidina tiocianato***, 5% (p/v) polidocanolo***, 2% (p/v) ditiotreitolo***, citrato di sodio diidrato	4 × 875 ml	  PERICOLO H302 + H332: Nocivo se ingerito o inalato. H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. EUH032: A contatto con acidi libera gas molto tossici. P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/ i vapori/gli aerosol. P273: Non disperdere nell'ambiente. P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso. P303 + P361 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle. P304 + P340 + P310: IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/ un medico. P305 + P351 + P338 + P310: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico. 593-84-0 Guanidina tiocianato 9002-92-0 Polidocanolo 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercapto-2,3-butandiolo
cobas omni Wash Reagent (WASH) Conservare a 15-30°C (P/N: 06997503190)	Citrato di sodio diidrato, 0,1% metil-4 idrossibenzoato	4,2 l	Non applicabile

* Questi reagenti non sono inclusi nel kit del test **cobas®** HCV. Consultare l'elenco dei materiali aggiuntivi necessari (Tabella 7).

** L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

*** Sostanza pericolosa.

Requisiti per la conservazione e la manipolazione dei reagenti

I reagenti devono essere conservati e manipolati rispettando le condizioni indicate dalla Tabella 5 alla Tabella 6.

I reagenti che non sono ancora stati caricati sui cobas® 6800/8800 Systems devono essere conservati alla temperatura indicata nella Tabella 5.

Tabella 5 Conservazione dei reagenti (non ancora caricati sul sistema)

Reagente	Temperatura di conservazione
cobas® HCV	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

Dopo il caricamento sui cobas® 6800/8800 Systems, i reagenti sono conservati alla temperatura appropriata e la loro data di scadenza viene monitorata dal sistema. I cobas® 6800/8800 Systems consentono l'uso dei reagenti solo se sono rispettate tutte le condizioni descritte nella Tabella 6. Il sistema impedisce automaticamente l'uso dei reagenti scaduti. La Tabella 6 fornisce all'utente informazioni utili sulle condizioni di manipolazione dei reagenti previste per i cobas® 6800/8800 Systems.

Tabella 6 Scadenza dei reagenti sui cobas® 6800/8800 Systems

Reagente	Data di scadenza del kit	Stabilità del kit aperto	Numero di sedute per cui il kit può essere usato	Stabilità a bordo (tempo cumulativo a bordo fuori dal frigorifero)
cobas® HCV	Data non superata	30 giorni dal primo utilizzo	Max 10 sedute	Max 8 ore
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Data non superata	Non applicabile	Non applicabile	Max 8 ore
cobas® NHP Negative Control Kit	Data non superata	Non applicabile	Non applicabile	Max 10 ore
cobas omni Lysis Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni MGP Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni Specimen Diluent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni Wash Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile

* Il calcolo inizia dalla prima volta che il reagente viene caricato sui cobas® 6800/8800 Systems.

Materiali aggiuntivi necessari

Tabella 7 Materiali e consumabili da utilizzare sui **cobas®** 6800/8800 Systems

Materiale	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Sacchetto per rifiuti solidi	07435967001
Contenitore per rifiuti solidi	07094361001

Strumentazione e software necessari

Il software **cobas®** 6800/8800 e il pacchetto di analisi **cobas®** HCV verranno installati sugli strumenti. Il server IG (Instrument Gateway) verrà fornito con il sistema.

Tabella 8 Strumentazione

Apparecchiatura	P/N
cobas® 6800 System (opzione mobile)	05524245001 e 06379672001
cobas® 6800 System (fisso)	05524245001 e 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Modulo di inserimento dei campioni	06301037001

Per ulteriori informazioni sui tubi primari e secondari compatibili con gli strumenti, consultare il Manuale Operatore dei **cobas®** 6800/8800 Systems.

Nota: contattare il rappresentante Roche locale per richiedere un listino dettagliato dei rack per campioni, dei rack per puntali otturati e dei vassoi portarack accettati dagli strumenti.

Precauzioni e requisiti per l'uso

Avvertimenti e precauzioni

Come richiesto per qualsiasi procedura di analisi, per lo svolgimento di questo test è necessario attenersi alle buone pratiche di laboratorio. Data l'elevata sensibilità di questo test, fare attenzione ad evitare la contaminazione dei reagenti e delle miscele di amplificazione.

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Il test **cobas®** HCV non è approvato per l'uso come test di screening per la presenza di HCV in sangue ed emoderivati.
- Tutti i campioni dei pazienti devono essere manipolati come materiale a rischio biologico, seguendo le buone procedure di laboratorio descritte in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e nel documento M29-A4 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).^{25,26} Questa procedura deve essere eseguita esclusivamente da personale esperto nella manipolazione di materiale a rischio biologico e nell'uso sia del test **cobas®** HCV, sia dei **cobas®** 6800/8800 Systems.
- Tutti i materiali di origine umana devono essere considerati a rischio biologico e quindi manipolati adottando precauzioni universalmente valide. In caso di fuoriuscita accidentale, disinfettare immediatamente l'area con una soluzione fresca a base di ipoclorito di sodio allo 0,5% in acqua distillata o deionizzata (diluire la candeggina domestica 1:10) oppure seguire le procedure previste dal proprio laboratorio.
- I prodotti **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 Control Kit e **cobas®** NHP Negative Control Kit contengono plasma derivato da sangue umano. Il materiale di provenienza è stato analizzato con test degli anticorpi brevettati ed è risultato non reattivo agli anticorpi anti-HCV, anti-HIV-1/2, HBsAg e anti-HBc. I test basati sui metodi PCR eseguiti sul plasma umano normale hanno inoltre confermato l'assenza di RNA dei virus HIV-1 (gruppi M e O), HIV-2 e HCV e DNA del virus HBV. Allo stato attuale, tuttavia, nessun metodo di analisi garantisce con assoluta certezza che i prodotti derivati da sangue umano non trasmettano agenti infettivi.
- **Non congelare il sangue intero o i campioni conservati in tubi primari.**
- Per garantire prestazioni ottimali del test, utilizzare soltanto i consumabili forniti o consigliati.
- Le schede di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) possono essere richieste al rappresentante Roche locale.
- Per un corretto svolgimento del test, attenersi scrupolosamente alle procedure e alle linee guida approvate. Qualunque deviazione dalle procedure e dalle linee guida approvate potrebbe compromettere le prestazioni del test.
- Potrebbero essere generati risultati falsi positivi senza un'adeguata prevenzione dell'effetto carryover durante la manipolazione e la preparazione dei campioni.
- Non utilizzare un campione con un volume iniziale di 200 µl se si prevede una carica virale < 100 UI/ml.

Manipolazione dei reagenti

- Manipolare tutti i reagenti, i controlli e i campioni seguendo le buone pratiche di laboratorio, al fine di prevenire il carryover dei campioni e dei controlli.
- Prima dell'uso ispezionare visivamente ogni cassetta dei reagenti, del diluente, del reagente di lisi e del reagente di lavaggio per confermare l'assenza di perdite. In caso di perdite accertate, non utilizzare il materiale per il test.
- Il reagente di lisi **cobas omni** contiene guanidina tiocianato, una sostanza chimica potenzialmente pericolosa. Evitare che i reagenti entrino in contatto con la pelle, gli occhi o le mucose. In caso di contatto, lavare immediatamente con abbondante acqua per prevenire possibili ustioni.
- I kit **cobas® HCV**, **cobas omni** MGP Reagent e **cobas omni** Specimen Diluent contengono sodio azide come conservante. Evitare che i reagenti entrino in contatto con la pelle, gli occhi o le mucose. In caso di contatto, lavare immediatamente con abbondante acqua per prevenire possibili ustioni. In caso di fuoriuscita dei reagenti, diluire il liquido con acqua prima di asciugare.
- Evitare che il reagente di lisi **cobas omni**, contenente guanidina tiocianato, entri in contatto con la soluzione di ipoclorito di sodio (candeggina). L'eventuale miscela potrebbe produrre gas altamente tossici.
- Smaltire tutti i materiali entrati in contatto con i campioni e i reagenti nel rispetto dei regolamenti previsti a livello locale, nazionale e internazionale.

Buone pratiche di laboratorio

- Non pipettare con la bocca.
- Non mangiare, bere o fumare nelle aree di lavoro designate.
- Indossare guanti, camici da laboratorio e protezioni per gli occhi durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti del kit. Per prevenire eventuali contaminazioni, è necessario sostituire i guanti durante la manipolazione dei campioni, dei kit **cobas® HCV** e dei reagenti **cobas omni**. Evitare di contaminare i guanti durante la manipolazione dei campioni e dei controlli.
- Lavare accuratamente le mani dopo avere manipolato i reagenti dei kit e dopo aver rimosso i guanti.
- Pulire e disinfettare accuratamente tutte le superfici di lavoro del laboratorio con una soluzione fresca a base di ipoclorito di sodio allo 0,5% e acqua deionizzata o distillata (candeggina per uso domestico diluita 1:10). Successivamente pulire la superficie con etanolo al 70%.
- In caso di fuoriuscita di liquidi sui **cobas® 6800/8800 Systems**, seguire le istruzioni contenute nel Manuale Operatore dei **cobas® 6800/8800 Systems** per pulire accuratamente e decontaminare la superficie degli strumenti.

Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni

Nota: manipolare tutti i campioni e i controlli come se fossero in grado di trasmettere agenti infettivi.

Conservare tutti i campioni alle temperature indicate.

La stabilità dei campioni risente delle temperature elevate.

Se si utilizzano campioni congelati in tubi secondari, mantenere i campioni a temperatura ambiente (15-30°C) finché non si saranno scongelati completamente, quindi miscelare brevemente (ad esempio, in vortex per 3-5 secondi) e centrifugare in modo da raccogliere tutto il volume del campione sul fondo della provetta.

Campioni

Raccogliere il sangue nelle provette SST™ destinate alla separazione di siero, nelle provette BD Vacutainer® PPT™ destinate alla preparazione di plasma per i metodi di analisi di diagnostica molecolare, oppure in provette sterili con l'anticoagulante EDTA. Attenersi alle istruzioni fornite dal produttore delle provette.

- Il sangue intero raccolto nelle provette SST™ destinate alla separazione di siero, nelle provette BD Vacutainer® PPT™ destinate alla preparazione di plasma per i metodi di analisi di diagnostica molecolare oppure nelle provette sterili con l'anticoagulante EDTA può essere conservato e/o trasportato fino a 24 ore tra 2°C e 25°C prima della preparazione del plasma. Per la centrifugazione, seguire le istruzioni fornite dal produttore.
- Dopo la separazione, i campioni di siero o plasma EDTA possono essere conservati nei tubi secondari fino a 6 giorni tra 2°C e 8°C o fino a 12 settimane a $\leq -18^{\circ}\text{C}$. Per la conservazione a lungo termine si consigliano temperature $\leq -60^{\circ}\text{C}$.
- I campioni di plasma/siero sono stabili per un massimo di quattro cicli di congelamento/scongelo quando sono congelati a $\leq -18^{\circ}\text{C}$.
- Assicurarsi di prelevare una quantità di sangue intero che consenta di disporre di 500 µl di siero o plasma EDTA per l'analisi (volume minimo del campione: 650 µl).
- Per un'eventuale spedizione, imballare ed etichettare i campioni come previsto dai regolamenti nazionali e/o internazionali per il trasporto di campioni e agenti eziologici.

Istruzioni per l'uso

Note sulla procedura

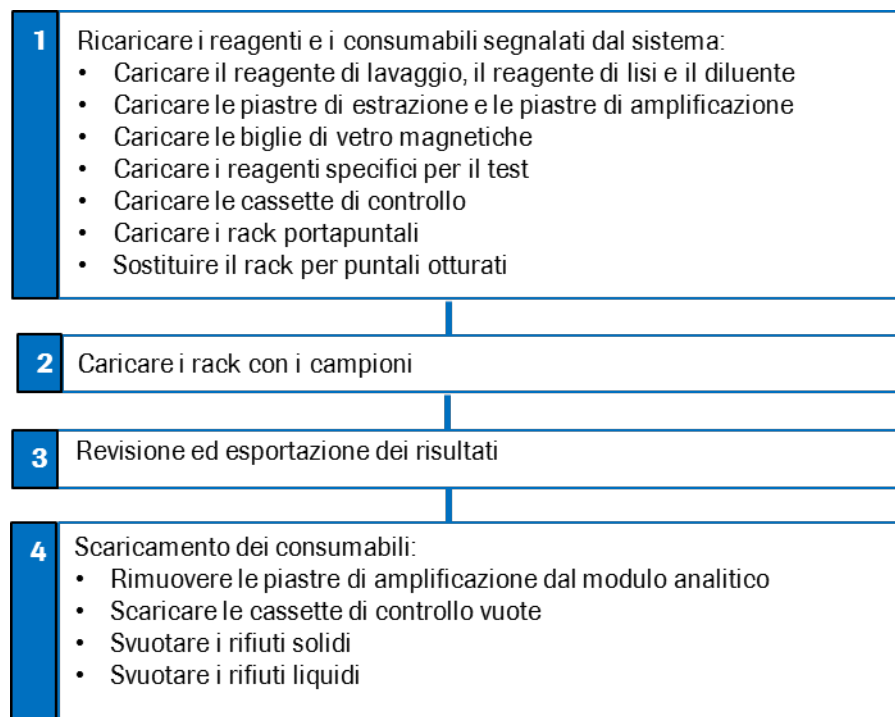
- Non utilizzare i reagenti **cobas® HCV**, i kit **cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit**, **cobas® NHP Negative Control Kit** e i reagenti **cobas omni** oltre la data di scadenza.
- Non riutilizzare i consumabili. Sono esclusivamente monouso.
- Per informazioni sulla corretta manutenzione degli strumenti, consultare il Manuale Operatore dei **cobas® 6800/8800 Systems**.

Esecuzione del test cobas® HCV

È possibile eseguire il test **cobas® HCV** con due diversi volumi: 350 µl (per il flusso di lavoro con 200 µl di campione) o 650 µl (per il flusso di lavoro con 500 µl di campione). La procedura del test è descritta dettagliatamente nel Manuale Operatore dei **cobas® 6800/8800 Systems**. Nella Figura 1 è illustrata una sintesi della procedura.

- **Nota: non utilizzare il flusso di lavoro con 200 µl di campione se la carica virale prevista è ≤ 100 UI/ml. Assicurarsi di prelevare una quantità di sangue che consenta di disporre di 500 µl di siero o plasma EDTA per l'analisi (volume minimo del campione: 650 µl).**

Figura 1 Procedura del test **cobas® HCV**



Risultati

I cobas® 6800/8800 Systems rilevano automaticamente la concentrazione di RNA di HCV per campioni e controlli. La concentrazione di RNA di HCV si esprime in unità internazionali per millilitro (UI/ml).

Controllo di qualità e validità dei risultati

- In ogni batch vengono inclusi un controllo negativo (-) C e due controlli positivi, un controllo positivo basso HCV L(+)C e un controllo positivo alto HCV H(+)C.
- Controllare il software cobas® 6800/8800 e/o il report per verificare la validità del batch.
- Il batch è valido se non viene generato nessun flag per i tre controlli, che includono un controllo negativo e due controlli positivi: HCV L(+)C, HCV H(+)C. Il risultato del controllo negativo è visualizzato come (-) C e i controlli positivi alto e basso sono visualizzati come HxV L(+)C e HxV H(+)C.

Il software cobas® 6800/8800 considera automaticamente non validi i risultati in caso di fallimento del controllo negativo e dei controlli positivi.

Flag dei controlli

Tabella 9 Flag per i controlli positivi e negativi

Controllo negativo	Flag	Risultato	Interpretazione
(-) C	Q02 (Batch di controllo non riuscito)	Invalid	Un risultato non valido, oppure il risultato del titolo calcolato per il controllo negativo non è negativo.
Controllo positivo	Flag	Risultato	Interpretazione
HxV L(+)C	Q02 (Batch di controllo non riuscito)	Invalid	Un risultato non valido, oppure il risultato del titolo calcolato per il controllo positivo basso non rientra nell'intervallo assegnato.
HxV H(+)C	Q02 (Batch di controllo non riuscito)	Invalid	Un risultato non valido, oppure il risultato del titolo calcolato per il controllo positivo alto non rientra nell'intervallo assegnato.

Se il batch non è valido, è necessario ripetere il test sull'intero batch, compresi campioni e controlli.

Nel software cobas® 6800/8800, la sigla HxV L(+)C significa controllo positivo basso cobas® HBV/HCV/HIV-1 e la sigla HxV H(+)C significa controllo positivo alto cobas® HBV/HCV/HIV-1.

Interpretazione dei risultati

Se un batch è valido, verificare nel software **cobas**® 6800/8800 e/o nel report se sono presenti flag per ogni singolo campione. I risultati dovranno essere interpretati applicando i seguenti criteri:

- Un batch valido può includere risultati dei campioni validi e non validi.

Tabella 10 Risultati per i singoli target e relativa interpretazione

Risultati	Interpretazione
Target Not Detected	RNA di HCV non rilevato. Segnalare i risultati nel report come "HCV non rilevato".
< Titer Min	Il titolo calcolato è al di sotto del limite inferiore di quantificazione (LLoQ) del saggio. Segnalare i risultati nel report come "HCV rilevato, minore di (Titer Min)" Titer min = 15 UI/ml (500 µl) Titer min = 40 UI/ml (200 µl)
Titer	Il titolo calcolato rientra nell'intervallo lineare del saggio: maggiore o uguale al valore "Titer Min" e minore o uguale al valore "Titer Max". Segnalare i risultati come "(Titolo) di HCV rilevato".
> Titer Max ^a	Il titolo calcolato è al di sopra del limite superiore di quantificazione (ULOQ) del saggio. Segnalare i risultati nel report come "HCV rilevato, maggiore di (Titer Max)" Titer max = 1,00E+08 UI/ml (500 µl e 200 µl)

a Se il risultato del campione è > Titer Max, si riferisce ai campioni HCV-positivi con titoli al di sopra del limite di quantificazione superiore (ULOQ). Se si desidera ottenere un risultato quantitativo, diluire il campione originale in siero o plasma EDTA HCV-negativo (a seconda del tipo di campione di partenza) quindi ripetere il test. Moltiplicare il risultato ottenuto per il fattore di diluizione.

Limiti della procedura

- Il test **cobas**® HCV è stato approvato soltanto in associazione con i prodotti **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, **cobas**® NHP Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent e **cobas omni** Wash Reagent per l'uso sui **cobas**® 6800/8800 Systems.
- L'affidabilità dei risultati è influenzata dal metodo di raccolta, conservazione e manipolazione dei campioni.
- Questo test è stato approvato esclusivamente per l'uso con campioni di siero e plasma EDTA. L'uso del test con altri tipi di campioni può generare risultati non accurati.
- La quantificazione dell'RNA di HCV dipende dal numero di particelle virali presenti nei campioni e può essere influenzata dal metodo di prelievo del campione, da fattori legati al paziente (ad esempio, età e presenza di sintomi) e/o dallo stadio dell'infezione.
- Anche se rare, le mutazioni nelle regioni altamente conservate di un genoma virale coperte dal test **cobas**® HCV possono alterare i legami dei primer e/o delle sonde e causare una quantificazione per difetto del virus o impedire l'identificazione del virus.
- A causa delle differenze intrinseche tra le tecnologie, è consigliabile che gli utenti, prima di passare da una tecnologia a un'altra, svolgano studi sulla correlazione tra i metodi nei propri laboratori allo scopo di qualificare tali differenze. Si consiglia agli utenti di elaborare norme/procedure specifiche.
- Il test **cobas**® HCV non è destinato all'uso nello screening per la presenza di HCV nel sangue e negli emoderivati.

Valutazione delle prestazioni non cliniche

Caratteristiche delle prestazioni

Limite di sensibilità (LoD)

Standard Internazionale OMS

Per determinare il limite di sensibilità del test **cobas® HCV** è stato utilizzato lo Standard Internazionale dell'Organizzazione Mondiale della Sanità per l'RNA del virus dell'epatite C destinato ai test basati sulla tecnologia di amplificazione dell'acido nucleico (4° Standard Internazionale OMS), genotipo 1a, ottenuto dal NIBSC. Lo standard è stato diluito in serie in campioni di plasma EDTA umano HCV-negativo, per volumi di analisi di 500 µl e 200 µl. Il campione minimo richiesto era di 650 µl e 350 µl rispettivamente, da analizzare sui **cobas® 6800/8800 Systems**. I pannelli, costituiti da un campione negativo e sei livelli di concentrazione per il campione di analisi di 500 µl e sette livelli di concentrazione per il campione di analisi di 200 µl, sono stati analizzati con tre lotti di reagenti del test **cobas® HCV**, utilizzando più sedute, più giorni, più operatori e più strumenti.

I risultati relativi ai campioni di siero e plasma EDTA nei due volumi preparati sono riportati rispettivamente nella Tabella 11 e nella Tabella 14. Lo studio dimostra che il test **cobas® HCV** ha rilevato l'RNA di HCV ad una concentrazione di 8,46 UI/ml, con un intervallo di confidenza al 95% compreso tra 7,50 e 9,79 UI/ml per 500 µl di plasma EDTA; ad una concentrazione di 9,61 UI/ml con un intervallo di confidenza al 95% compreso tra 8,70 e 10,95 UI/ml per 500 µl di siero. Lo studio dimostra che il test **cobas® HCV** ha rilevato l'RNA di HCV ad una concentrazione di 24,93 UI/ml con un intervallo di confidenza al 95% compreso tra 22,51 e 28,35 UI/ml per 200 µl di plasma EDTA; ad una concentrazione di 33,25 UI/ml con un intervallo di confidenza al 95% compreso tra 29,94 e 37,94 UI/ml per 200 µl di siero. La differenza tra i volumi di analisi 500 µl e 200 µl per i campioni di plasma EDTA e di siero non è risultata significativa dal punto di vista statistico.

Tabella 11 Limite di sensibilità per il plasma EDTA (500 µl)

Concentrazione iniziale del titolo (UI/ml di RNA di HCV)	N. ripetizioni valide	Numero positivi	Tasso di successo %
30	189	189	100,00
20	188	186	98,94
15	189	187	98,94
10	189	183	96,83
8	188	182	96,81
5	188	155	82,45
0	189	1*	0,53
LoD tramite analisi PROBIT con tasso di successo al 95%	8,46 UI/ml Intervallo di confidenza al 95%: 7,50-9,79 UI/ml		

*Campioni confermati negativi da metodi analitici alternativi.

Tabella 12 Limite di sensibilità per il siero (500 µl)

Concentrazione iniziale del titolo (UI/ml di RNA di HCV)	N. ripetizioni valide	Numero positivi	Tasso di successo %
30	188	187	99,47
20	189	189	100,00
15	189	187	98,94
10	189	184	97,35
8	189	171	90,48
5	189	141	74,60
0	189	0	0,00
LoD tramite analisi PROBIT con tasso di successo al 95%	9,61 UI/ml Intervallo di confidenza al 95%: 8,70-10,95 UI/ml		

Tabella 13 Limite di sensibilità per il plasma EDTA (200 µl)

Concentrazione iniziale del titolo (UI/ml di RNA di HCV)	N. ripetizioni valide	Numero positivi	Tasso di successo %
80	189	189	100,00
60	189	189	100,00
50	188	187	99,47
40	189	185	97,88
25	189	179	94,71
20	189	177	93,65
12	188	136	72,34
0	189	1*	0,53
LoD tramite analisi PROBIT con tasso di successo al 95%	24,93 UI/ml Intervallo di confidenza al 95%: 22,51-28,35 UI/ml		

*Campioni confermati negativi da metodi analitici alternativi.

Tabella 14 Limite di sensibilità per il siero (200 µl)

Concentrazione iniziale del titolo (UI/ml di RNA di HCV)	N. ripetizioni valide	Numero positivi	Tasso di successo %
80	189	189	100,00
60	189	188	99,47
50	189	186	98,41
40	189	184	97,35
25	189	167	88,36
20	189	156	82,54
12	189	125	66,14
0	189	0	0,00
LoD tramite analisi PROBIT con tasso di successo al 95%	33,25 UI/ml Intervallo di confidenza al 95%: 29,94-37,94 UI/ml		

Intervallo lineare

Lo studio di linearità del test **cobas**® HCV è stato eseguito utilizzando una serie di diluizioni costituita da un pannello di 16 campioni a copertura dell'intero intervallo lineare previsto per il genotipo predominante (GT 1). I campioni del pannello con titolo alto sono stati preparati a partire da uno stock di Armored RNA (arRNA) positivo con titolo alto, mentre i campioni del pannello con titolo basso sono stati preparati a partire da un campione clinico (clinical sample, CS). Il pannello dello studio di linearità è stato concepito prevedendo una sovrapposizione del titolo di $2 \log_{10}$ tra i due materiali di origine. L'intervallo lineare atteso per il test **cobas**® HCV era compreso tra un limite minimo LLoQ (15 UI/ml per 500 µl di campione e 40 UI/ml per 200 µl di campione) e un limite massimo ULoQ (1,00E+08 UI/ml per entrambi i campioni). Il pannello dello studio di linearità è stato concepito tenendo conto di una concentrazione inferiore al limite minimo LLoQ (ad esempio, 7,5 UI/ml) e di una concentrazione superiore al limite massimo ULoQ (ad esempio, 2,0E+08 UI/ml) e includendo alcune concentrazioni significative per decisioni mediche. Inoltre il pannello dello studio di linearità supporta parzialmente incrementi di $1,0 \log_{10}$ lungo tutto l'intervallo lineare. Per ogni campione del pannello sono state indicate la concentrazione nominale in UI/ml e l'origine dell'RNA di HCV.

Con un campione di 500 µl, il test **cobas**® HCV è lineare per il plasma EDTA e per il siero tra 15 UI/ml e 1,00E+08 UI/ml e mostra una deviazione assoluta dalla regressione nonlineare di migliore adattamento inferiore a $\pm 0,24 \log_{10}$. Lungo l'intervallo lineare, l'accuratezza del test è compresa entro $\pm 0,24 \log_{10}$.

Con un campione di 200 µl, il test **cobas**® HCV è lineare per il plasma EDTA e per il siero tra 40 UI/ml e 1,00E+08 UI/ml e mostra una deviazione assoluta dalla regressione nonlineare di migliore adattamento inferiore a $\pm 0,24 \log_{10}$. Lungo l'intervallo lineare, l'accuratezza del test è compresa entro $\pm 0,24 \log_{10}$ per il plasma e $\pm 0,27 \log_{10}$ per il siero.

Vedere dalla Figura 2 alla Figura 5 per una rappresentazione dei risultati.

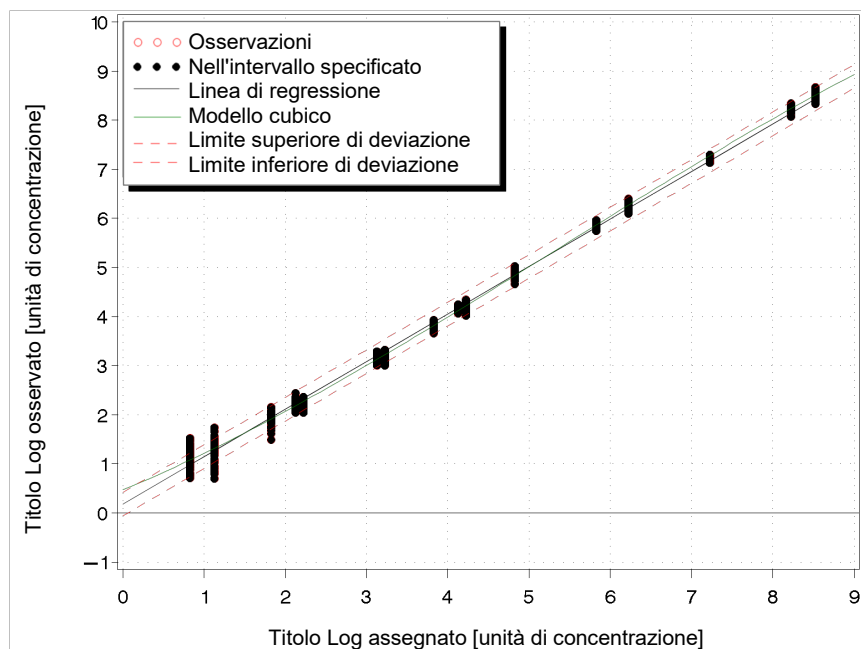
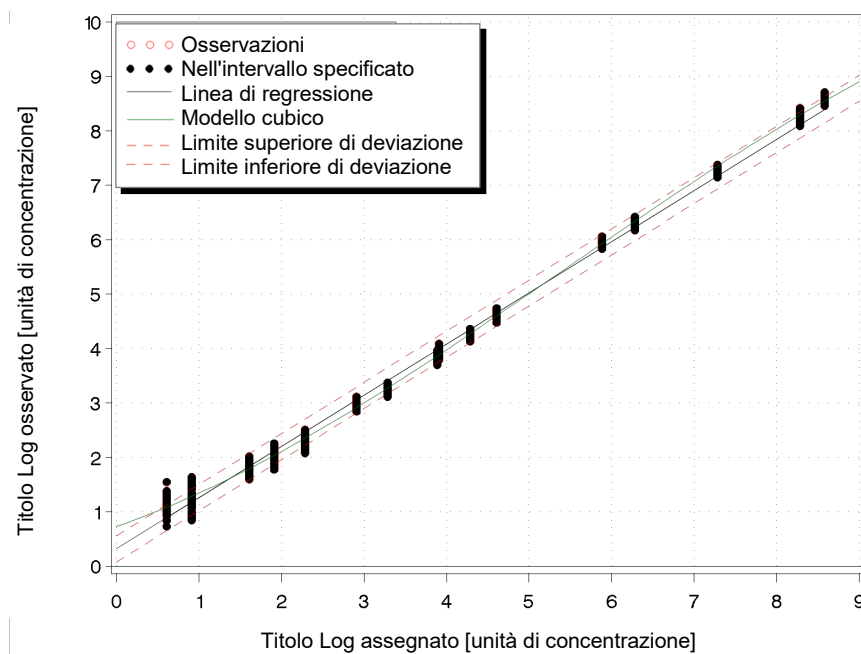
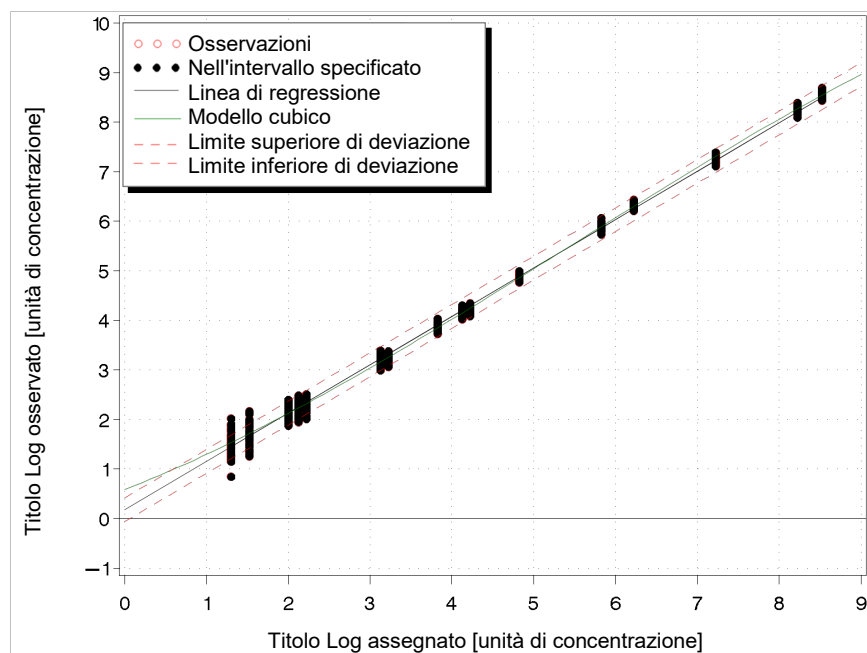
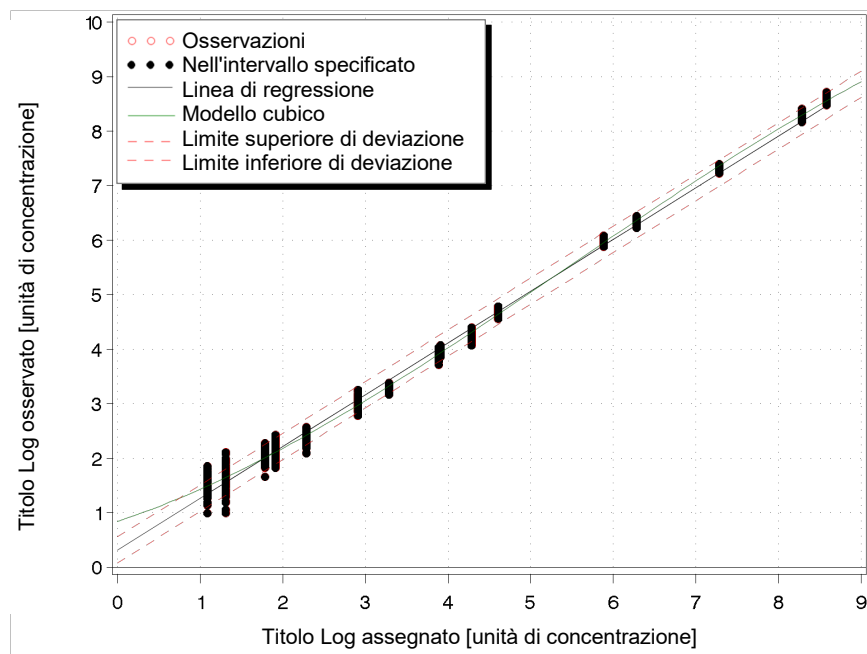
Figura 2 Linearità per il plasma EDTA (500 µl)**Figura 3** Linearità per il siero (500 µl)

Figura 4 Linearità per il plasma EDTA (200 µl)**Figura 5** Linearità nel siero (200 µl)

Precisione intra-laboratorio

La precisione del test **cobas**® HCV è stata determinata analizzando diluizioni seriali di campioni clinici (CS) di HCV (genotipo 1) o di Armored RNA (arRNA) di HCV in plasma EDTA o siero HCV-negativo. I test sono stati eseguiti su 13 livelli di diluizione per il plasma e su 12 livelli di diluizione per il siero, con due ripetizioni per ogni livello, eseguendo due sedute nell'arco di 12 giorni, per un totale di 48 ripetizioni per livello di concentrazione. Ogni campione è stato sottoposto all'intera procedura prevista per il test **cobas**® HCV, che è completamente automatizzata sui **cobas**® 6800/8800 Systems. La precisione riferita in questa sede è dunque rappresentativa di tutti gli aspetti della procedura del test. Lo studio è stato eseguito con tre lotti di reagenti del test **cobas**® HCV. I risultati sono riportati dalla Tabella 15 alla Tabella 18.

Il test **cobas**® HCV ha dimostrato un'elevata precisione con i tre lotti di reagenti utilizzati su un intervallo di concentrazione di 1,00E+01 UI/ml–1,0E+07 UI/ml nel caso del volume di analisi di 500 µl e di 2,50E+01 UI/ml–1,0E+07 UI/ml nel caso del volume di analisi di 200 µl.

Tabella 15 Precisione intra-laboratorio del test **cobas**® HCV (plasma EDTA – volume di analisi 500 µl)*

Concentrazione nominale (UI/ml)	Concentrazione assegnata (UI/ml)	Materiale di origine	Plasma EDTA			
			Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	Tutti i lotti
			DS	DS	DS	DS in pool
1,00E+07	1,67E+07	arRNA	0,04	0,05	0,03	0,04
1,00E+06	1,67E+06	arRNA	0,05	0,05	0,06	0,05
4,00E+05	6,69E+05	arRNA	0,03	0,04	0,05	0,04
5,00E+04	6,69E+04	CS	0,08	0,06	0,06	0,06
1,00E+04	1,67E+04	arRNA	0,05	0,05	0,04	0,05
1,00E+04	1,34E+04	CS	0,03	0,06	0,05	0,05
4,00E+03	6,69E+03	arRNA	0,05	0,06	0,06	0,06
1,00E+03	1,34E+03	CS	0,05	0,06	0,05	0,05
1,00E+03	1,67E+03	arRNA	0,05	0,07	0,05	0,06
1,00E+02	1,34E+02	CS	0,06	0,09	0,05	0,07
1,00E+02	1,67E+02	arRNA	0,10	0,06	0,06	0,08
5,00E+01	6,69E+01	CS	0,09	0,17	0,10	0,13
1,00E+01	1,34E+01	CS	0,26	0,21	0,13	0,21

*I dati dei titoli sono considerati come distribuiti secondo una curva log-normale e sono analizzati secondo la trasformazione Log₁₀. Le colonne DS (Deviazione Standard) indicano il totale del titolo dopo la trasformazione Log per ognuno dei tre lotti di reagenti.

Tabella 16 Precisione intra-laboratorio del test **cobas®** HCV (siero – volume di analisi 500 µl)*

Concentrazione nominale (UI/ml)	Concentrazione assegnata (UI/ml)	Materiale di origine	Siero			
			Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	Tutti i lotti
			DS	DS	DS	DS in pool
1,00E+07	1,92E+07	arRNA	0,03	0,07	0,04	0,05
1,00E+06	1,92E+06	arRNA	0,05	0,06	0,04	0,05
4,00E+05	7,69E+05	arRNA	0,03	0,07	0,03	0,05
5,00E+04	4,05E+04	CS	0,07	0,06	0,04	0,06
1,00E+04	1,92E+04	arRNA	0,06	0,06	0,04	0,05
1,00E+04	8,11E+03	CS	0,05	0,06	0,04	0,05
4,00E+03	7,69E+03	arRNA	0,04	0,08	0,04	0,06
1,00E+03	8,11E+02	CS	0,05	0,06	0,06	0,05
1,00E+03	1,92E+03	arRNA	0,06	0,05	0,05	0,05
1,00E+02	8,11E+01	CS	0,10	0,18	0,10	0,13
1,00E+02	1,92E+02	arRNA	0,07	0,08	0,09	0,08
5,00E+01	4,05E+01	CS	0,09	0,14	0,18	0,14

*I dati dei titoli sono considerati come distribuiti secondo una curva log-normale e sono analizzati secondo la trasformazione Log_{10} . Le colonne DS (Deviazione Standard) indicano il totale del titolo dopo la trasformazione Log per ognuno dei tre lotti di reagenti.

Tabella 17 Precisione intra-laboratorio del test **cobas®** HCV (plasma EDTA – volume di analisi 200 µl)*

Concentrazione nominale (UI/ml)	Concentrazione assegnata (UI/ml)	Materiale di origine	Plasma EDTA			
			Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	Tutti i lotti
			DS	DS	DS	DS in pool
1,00E+07	1,67E+07	arRNA	0,04	0,06	0,05	0,05
1,00E+06	1,67E+06	arRNA	0,04	0,03	0,05	0,04
4,00E+05	6,69E+05	arRNA	0,04	0,06	0,03	0,04
5,00E+04	6,69E+04	CS	0,05	0,06	0,05	0,06
1,00E+04	1,67E+04	arRNA	0,05	0,05	0,05	0,05
1,00E+04	1,34E+04	CS	0,07	0,06	0,05	0,06
4,00E+03	6,69E+03	arRNA	0,05	0,06	0,05	0,05
1,00E+03	1,34E+03	CS	0,08	0,08	0,06	0,07
1,00E+03	1,67E+03	arRNA	0,04	0,07	0,05	0,05
1,00E+02	1,34E+02	CS	0,11	0,15	0,13	0,13
1,00E+02	1,67E+02	arRNA	0,10	0,10	0,13	0,11
7,50E+01	1,00E+02	CS	0,15	0,12	0,11	0,13
2,50E+01	3,34E+01	CS	0,19	0,20	0,22	0,21

*I dati dei titoli sono considerati come distribuiti secondo una curva log-normale e sono analizzati secondo la trasformazione Log_{10} . Le colonne DS (Deviazione Standard) indicano il totale del titolo dopo la trasformazione Log per ognuno dei tre lotti di reagenti.

Tabella 18 Precisione intra-laboratorio del test **cobas®** HCV (siero – volume di analisi 200 µl)*

Concentrazione nominale (UI/ml)	Concentrazione assegnata (UI/ml)	Materiale di origine	Siero			
			Lotto 1	Lotto 2	Lotto 3	Tutti i lotti
			DS	DS	DS	DS in pool
1,00E+07	1,92E+07	arRNA	0,02	0,06	0,03	0,04
1,00E+06	1,92E+06	arRNA	0,03	0,06	0,04	0,04
4,00E+05	7,69E+05	arRNA	0,04	0,09	0,04	0,06
5,00E+04	4,05E+04	CS	0,05	0,06	0,06	0,06
1,00E+04	1,92E+04	arRNA	0,05	0,07	0,04	0,06
1,00E+04	8,11E+03	CS	0,04	0,05	0,05	0,05
4,00E+03	7,69E+03	arRNA	0,04	0,07	0,04	0,05
1,00E+03	8,11E+02	CS	0,10	0,09	0,08	0,09
1,00E+03	1,92E+03	arRNA	0,05	0,07	0,04	0,05
1,00E+02	8,11E+01	CS	0,17	0,30	0,17	0,22
1,00E+02	1,92E+02	arRNA	0,13	0,13	0,09	0,12
7,50E+01	6,08E+01	CS	0,11	0,16	0,12	0,13

*I dati dei titoli sono considerati come distribuiti secondo una curva log-normale e sono analizzati secondo la trasformazione Log_{10} . Le colonne DS (Deviazione Standard) indicano il totale del titolo dopo la trasformazione Log per ognuno dei tre lotti di reagenti.

Verifica del genotipo

Le prestazioni del test **cobas®** HCV sono state verificate con riferimento ai genotipi di HCV:

- Determinazione del limite di sensibilità per i genotipi dall'1b al 6, con un campione di 500 µl
- Verifica del limite di sensibilità per i genotipi dall'1b al 6, con un campione di 200 µl
- Verifica della linearità per i genotipi dal 2 al 6.

Limite di sensibilità per i genotipi dall'1b al 6

Il limite di sensibilità del test **cobas®** HCV per i genotipi compresi tra l'1b e il 6 è stato determinato analizzando diluizioni seriali di ogni genotipo in plasma EDTA e in siero umano HCV-negativo, utilizzando volumi di analisi di 500 µl. I pannelli, costituiti da sei livelli di concentrazione più un campione negativo, sono stati analizzati con tre lotti di reagenti del test **cobas®** HCV e utilizzando più sedute, più giorni, più operatori e più strumenti.

I risultati relativi a siero e plasma EDTA per il volume di analisi di 500 µl sono riportati rispettivamente nella Tabella 19 e nella Tabella 20. Lo studio dimostra che il test **cobas®** HCV ha rilevato tutti i genotipi di HCV analizzati con un limite di sensibilità (Limit of Detection, LoD) simile a quello per il genotipo 1a dell'HCV.

Tabella 19 Limite di sensibilità per i genotipi dell'RNA di HCV in plasma EDTA (500 µl)

Genotipo	LoD 95% mediante analisi PROBIT	Intervallo di confidenza al 95%
GT 1b	11,32 UI/ml	9,72-14,52 UI/ml
GT 2	9,10 UI/ml	7,83-11,80 UI/ml
GT 3	8,68 UI/ml	7,30-11,51 UI/ml
GT 4	12,78 UI/ml	10,69-17,20 UI/ml
GT 5	11,63 UI/ml	9,66-15,98 UI/ml
GT 6	12,58 UI/ml	9,78-20,10 UI/ml

Tabella 20 Limite di sensibilità per i genotipi dell'RNA di HCV in siero (500 µl)

Genotipo	LoD 95% mediante analisi PROBIT	Intervallo di confidenza al 95%
GT 1b	15,24 UI/ml	12,40-21,58 UI/ml
GT 2	12,51 UI/ml	10,25-17,63 UI/ml
GT 3	7,21 UI/ml	6,10-9,50 UI/ml
GT 4	11,62 UI/ml	9,92-15,02 UI/ml
GT 5	13,06 UI/ml	10,64-18,68 UI/ml
GT 6	11,15 UI/ml	9,54-14,40 UI/ml

Verifica del limite di sensibilità per i genotipi dall'1b al 6

I campioni clinici dell'RNA di HCV per sei diversi genotipi (1b, 2, 3, 4, 5, 6) sono stati diluiti a tre livelli di concentrazione diversi in plasma EDTA e in siero. Il calcolo del tasso di successo è stato effettuato con 63 ripetizioni per ogni livello. I test sono stati eseguiti con tre lotti di reagenti **cobas® HCV**. I risultati per il plasma EDTA e per il siero con un volume di analisi di 200 µl sono riportati rispettivamente nella Tabella 21 e nella Tabella 22. Questi risultati confermano che il test **cobas® HCV** ha rilevato l'RNA di HCV per i sei diversi genotipi a concentrazioni di 33 UI/ml, con un tasso di successo del $\geq 90,5\%$, con un intervallo di confidenza al 95% unilaterale $\geq 95,8\%$.

Tabella 21 Verifica del limite di sensibilità per i genotipi dell'RNA di HCV in plasma EDTA (200 µl)

Genotipo	17,5 UI/ml			33 UI/ml			50 UI/ml		
	N. ripetizioni valide	Numero positivi	Tasso di successo % (IC 95%*)	N. ripetizioni valide	Numero positivi	Tasso di successo % (IC 95%*)	N. ripetizioni valide	Numero positivi	Tasso di successo % (IC 95%*)
1b	63	50	79,4	63	61	96,8	63	63	100,0
2	63	51	81,0	63	62	98,4	63	62	98,4
3	63	56	89,0	63	58	92,1	63	63	100,0
4	63	54	85,7	63	57	90,5	63	63	100,0
5	63	57	90,5	63	61	96,8	63	63	100,0
6	63	47	74,6	63	57	90,5	63	62	98,4

* Limite superiore dell'intervallo di confidenza al 95% unilaterale

Tabella 22 Verifica del limite di sensibilità per i genotipi dell'RNA di HCV in siero (200 µl)

Genotipo	17,5 UI/ml			33 UI/ml			50 UI/ml		
	N. ripetizioni valide	Numero positivi	Tasso di successo % (IC 95%*)	N. ripetizioni valide	Numero positivi	Tasso di successo % (IC 95%*)	N. ripetizioni valide	Numero positivi	Tasso di successo % (IC 95%*)
1b	63	52	82,5	63	61	96,8	63	63	100,0
2	63	46	73,0	63	62	98,4	63	59	93,7
3	63	58	92,1	63	63	100,0	63	63	100,0
4	63	49	77,8	63	59	93,7	63	63	100,0
5	63	46	73,0	63	59	93,7	63	62	98,4
6	63	44	69,8	63	61	96,8	63	61	96,8

* Limite superiore dell'intervallo di confidenza al 95% unilaterale

Linearità per i genotipi dal 2 al 6

La serie di diluizioni utilizzata per la verifica dello studio di linearità del test **cobas**® HCV rispetto ai genotipi era costituita da un pannello di nove campioni a copertura dell'intervallo lineare previsto. I campioni del pannello con titolo alto sono stati preparati a partire da uno stock di arRNA positivo con titolo alto, mentre i campioni del pannello con titolo basso sono stati preparati a partire da un campione clinico (clinical sample, CS) positivo con titolo alto. Il pannello dello studio di linearità è stato concepito prevedendo una sovrapposizione del titolo di 2 log₁₀ tra i due materiali di origine. L'intervallo lineare del test **cobas**® HCV era compreso tra il limite minimo LLoQ (15 UI/ml per un campione di 500 µl, 40 UI/ml per un campione di 200 µl) e il limite massimo ULoQ (1,00E+08 UI/ml per entrambi i campioni) e includeva almeno un punto di decisione medica. I test sono stati eseguiti con tre lotti di reagenti **cobas**® HCV e sono state eseguite 15 ripetizioni per ogni livello su plasma EDTA.

La linearità entro l'intervallo lineare del test **cobas**® HCV è stata verificata per tutti i cinque genotipi (2, 3, 4, 5 e 6). La deviazione massima tra le regressioni lineare e la regressione nonlineare di migliore adattamento è risultata minore o uguale a 0,24 log₁₀.

Specificità

La specificità del test **cobas® HCV** è stata determinata analizzando campioni di plasma EDTA e siero HCV- negativo ottenuti da singoli donatori. Sono stati analizzati 300 campioni di plasma EDTA e 300 campioni individuali di siero (totale risultati: 600) con due lotti di reagenti **cobas® HCV**. Tutti i campioni analizzati sono risultati negativi per l'RNA di HCV. La specificità del test **cobas® HCV**, nel pannello analizzato è del 100% (limite di confidenza al 95%: $\geq 99,5\%$).

Specificità analitica

La specificità analitica del test **cobas® HCV** è stata valutata diluendo un pannello di microrganismi in plasma EDTA, sia positivo per l'RNA di HCV, sia negativo per l'RNA di HCV. I microrganismi sono stati aggiunti al plasma EDTA umano normale, negativo ai virus, e quindi analizzati con e senza l'RNA di HCV. Il test **cobas® HCV** ha prodotto risultati negativi per tutti i campioni di microrganismi in cui era assente il target HCV, mentre ha prodotto risultati positivi per tutti i campioni di microrganismi in cui era presente il target HCV. Inoltre, per ognuno dei campioni HCV-positivi contenenti organismi che possono causare potenziali reazioni crociate, la media del titolo $\log_{10}$ si è attestata entro $\pm 0,3 \log_{10}$ della media del titolo $\log_{10}$ del rispettivo controllo spike positivo.

Tabella 23 Microrganismi analizzati per verificare la reattività crociata

Virus		Batteri	Lieviti
Adenovirus tipo 5	Virus del Nilo Occidentale	Propionibacterium acnes	Candida albicans
Citomegalovirus	Virus dell'encefalite di St. Louis	Staphylococcus aureus	
Virus di Epstein Barr	Virus dell'encefalite della Murray Valley		
Virus dell'epatite A	Virus della Dengue tipi 1, 2, 3 e 4		
Virus dell'epatite B	Virus FSME (ceppo HYPR)		
Virus dell'epatite D	Virus della febbre gialla		
Virus dell'immunodeficienza umana tipo 1	Herpesvirus umano tipo 6		
Virus linfotropico delle cellule T umane tipo 1 e 2	Virus dell'herpes simplex tipo 1 e 2		
Papillomavirus umano	Virus dell'influenza A		
Virus Varicella-Zoster	Virus Zika		

Specificità analitica e sostanze interferenti

Sono stati analizzati campioni con livelli elevati di trigliceridi (fino a 34,5 g/l), bilirubina coniugata (0,25 g/l), bilirubina non coniugata (0,25 g/l), albumina (58,7 g/l), emoglobina (2,9 g/l) e DNA umano (2 mg/l), sia con RNA di HCV che senza. Le sostanze interferenti endogene che sono state analizzate non hanno alterato le prestazioni del test **cobas**® HCV.

È stata inoltre analizzata la presenza di patologie autoimmuni, quali il lupus eritematoso sistemico (LES), il fattore reumatoide (FR) e gli anticorpi antinucleo (ANA).

Per quanto riguarda la sensibilità, i campioni individuali di due donatori LES, un donatore FR e quattro donatori ANA hanno prodotto un'interferenza con il test **cobas**® HCV. Dopo un'indagine approfondita sulle cause, è stato verificato che l'interferenza prodotta dai campioni dei donatori LES e FR era risolta eseguendo il test ad una concentrazione di 75 UI/ml di RNA di HCV.

I quattro campioni di donatori ANA che avevano prodotto un'interferenza con il test **cobas**® HCV ad una concentrazione di 50 UI/ml di RNA di HCV, hanno invece prodotto un'interferenza anche ad una concentrazione di 75 UI/ml di RNA di HCV. Per valutare se l'interferenza osservata era specifica della patologia ANA o specifica del donatore, sono stati analizzati altri 15 campioni di donatori ANA con entrambe le concentrazioni di RNA di HCV: 50 UI/ml e 75 UI/ml. Per quanto riguarda la sensibilità/quantificazione, nessuno degli altri campioni dei donatori ha prodotto interferenze con il test **cobas**® HCV ai due livelli di concentrazione analizzati.

Inoltre sono stati analizzati i composti farmacologici elencati nella Tabella 24, ad una concentrazione pari a tre volte il valore C_{max} . Nessuno dei farmaci analizzati ha interferito con la specificità e la quantificazione dell'RNA di HCV da parte del test **cobas**® HCV.

Nessuna delle potenziali sostanze interferenti ha alterato in alcun modo le prestazioni del test. Il test **cobas**® HCV ha prodotto risultati negativi per tutti i campioni in cui era assente il target HCV, mentre ha prodotto risultati positivi per tutti i campioni in cui era presente il target HCV. Inoltre, per ognuno dei campioni HCV-positivi contenenti potenziali sostanze interferenti, la media del titolo $\log_{10}$ si è attestata entro $\pm 0,3 \log_{10}$ della media del titolo $\log_{10}$ del rispettivo controllo spike positivo.

Tabella 24 Composti farmacologici analizzati per verificare l'interferenza con la quantificazione dell'RNA di HCV da parte del test cobas® HCV

Categoria farmacologica	Nome generico del farmaco	
Immunomodulatori	Peginterferone α -2a Peginterferone α -2b Ribavirina	
Inibitori d'ingresso dell'HIV	Maraviroc	
Inibitore dell'integrasi dell'HIV	Elvitegravir/Cobicistat	Raltegravir
Inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa dell'HIV	Efavirenz	Nevirapina
	Etravirina	Rilpivirina
Inibitori della proteasi dell'HIV	Atazanavir	Lopinavir
	Tipranavir	Nelfinavir
	Darunavir	Ritonavir
	Fosamprenavir	Saquinavir
Inibitori della proteasi dell'HCV	Boceprevir	Telaprevir
	Simeprevir	
Inibitori della trascrittasi inversa o della DNA polimerasi	Abacavir	Tenofovir
	Emtricitabina	Adefovir dipivoxil
	Entecavir	Zidovudina
	Foscarnet	Aciclovir
	Cidofovir	Valganciclovir
	Lamivudina	Ganciclovir
	Telbivudina	Sofosbuvir
Composti per il trattamento delle infezioni opportunistiche	Azitromicina	Pirazinamide
	Claritromicina	Rifabutina
	Etambutolo	Rifampicina
	Fluconazolo	Sulfametossazolo
	Isoniazide	Trimetoprim

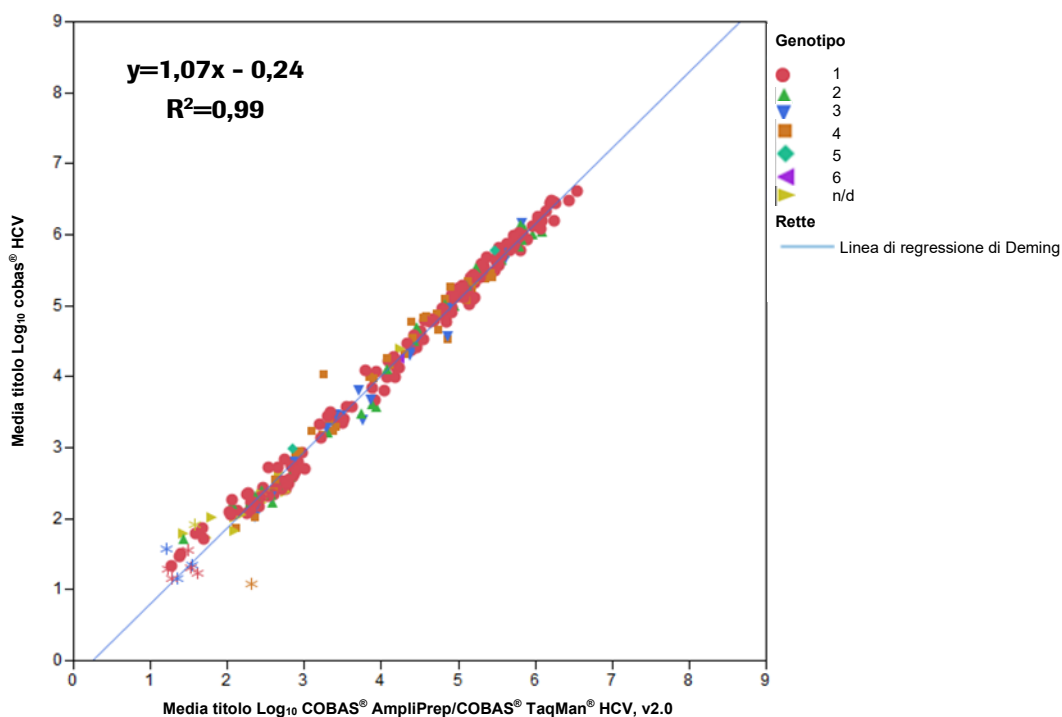
Correlazione tra i metodi

Confronto tra le prestazioni del test cobas® HCV e le prestazioni del test quantitativo COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV v2.0

Le prestazioni del test cobas® HCV sono state confrontate con quelle del test quantitativo COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV v2.0 (TaqMan® HCV Test, v2.0) analizzando i campioni di siero e di plasma EDTA ottenuti da pazienti con infezione da HCV. In totale sono stati analizzati in duplicato 149 campioni di plasma EDTA e 122 campioni di siero rappresentativi di tutti i genotipi di HCV, ottenendo risultati validi e compresi entro l'intervallo di quantificazione dei due test. È stata applicata l'analisi di regressione di Deming. La deviazione del titolo medio dei campioni analizzati con i due test è stata di 0,02 log₁₀ (intervallo di confidenza al 95%: 0,00; 0,04).

I risultati della regressione di Deming sono riportati nella Figura 6. Il simbolo * nella Figura 6 mostra la singola misura.

Figura 6 Analisi di regressione dei campioni di plasma EDTA e siero sottoposti al test cobas® HCV e al test TaqMan® HCV v2.0

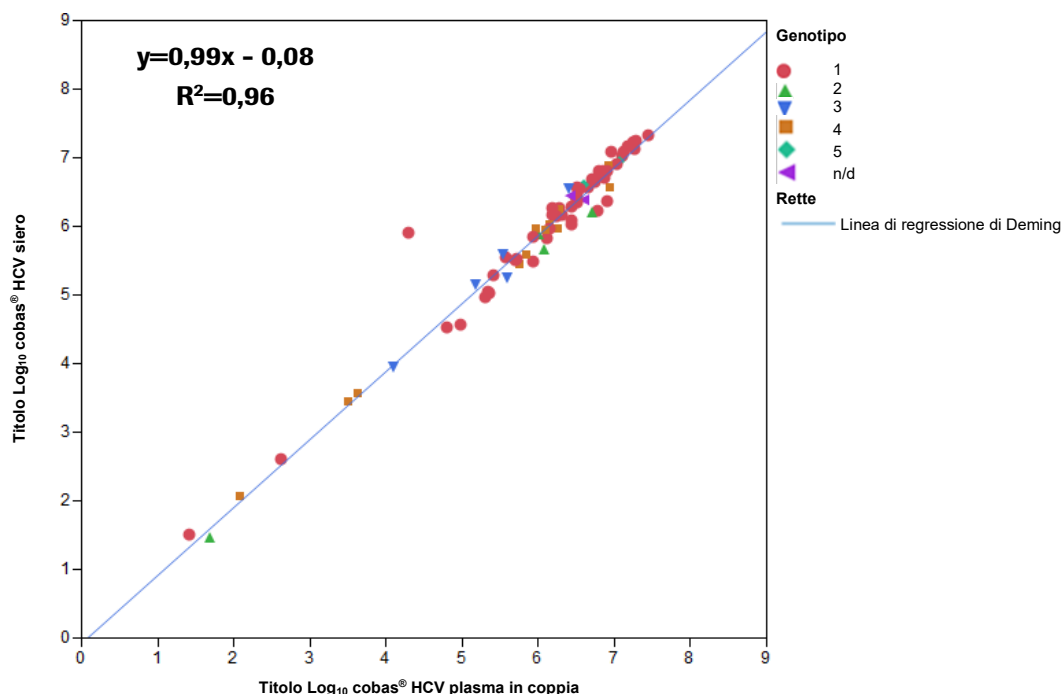


Equivalenza tra matrici – Plasma EDTA e siero

L'equivalenza tra matrici è stata analizzata utilizzando 190 coppie di campioni di plasma EDTA e di siero. Di queste, 73 coppie di campioni erano HCV-positivi. I campioni HCV-positivi coprivano i genotipi 1-4 lungo l'intervallo lineare.

La deviazione del titolo medio delle coppie di campioni di plasma EDTA e di siero analizzate è stata di $-0,13 \log_{10}$ (intervallo di confidenza al 95%: $-0,19$; $-0,07$) (Figura 7).

Figura 7 Prestazioni dell'equivalenza tra matrici - Plasma EDTA e siero



Tasso globale d'errore del sistema

Per quanto riguarda il test **cobas®** HCV, il tasso globale d'errore del sistema è stato calcolato ripetendo 100 test sui campioni di plasma EDTA e 100 test sui campioni di siero, arricchiti con il target HCV. I campioni sono stati analizzati a una concentrazione del target pari a circa 3 x LoD.

Dai risultati di questo studio si evince che tutte le ripetizioni dei test hanno prodotto risultati validi e positivi per il target HCV, per un tasso globale d'errore del sistema pari allo 0%. L'intervallo di confidenza esatto al 95% bilaterale è pari allo 0% per il limite inferiore e al 3,62% per il limite superiore per ogni matrice [0%: 3,62%].

Contaminazione crociata

Per quanto riguarda il test **cobas®** HCV, il tasso di contaminazione crociata è stato calcolato ripetendo 240 test su un campione di plasma EDTA umano normale, negativo ai virus HIV, HCV e HBV e ripetendo 225 test su un campione HCV-positivo con alto titolo a $4,0E+07$ UI/ml. Complessivamente sono state eseguite cinque sedute con campioni positivi e negativi in una configurazione a scacchiera.

Su 240 ripetizioni dei campioni negativi, 239 sono risultate valide e negative, per un tasso di contaminazione crociata pari allo 0,42%. L'intervallo di confidenza esatto al 95% bilaterale è pari allo 0,01% per il limite inferiore e al 2,3% per il limite superiore [0%: 2,3%].

Informazioni supplementari

Caratteristiche del test

Tipo di campione	Plasma EDTA, siero
Quantità minima di campione richiesta	650 µl o 350 µl
Volume di analisi del campione	500 µl o 200 µl
Sensibilità analitica	15 UI/ml (500 µl) 40 UI/ml (200 µl)
Intervallo lineare	500 µl: 15 UI/ml–1,0E+08 UI/ml 200 µl: 40 UI/ml–1,0E+08 UI/ml
Specificità	100% (intervallo di confidenza al 95% unilaterale: 99,5%)
Genotipi identificati	Genotipi di HCV 1-6

Simboli

I seguenti simboli appaiono su tutte le confezioni di prodotti diagnostici PCR di Roche.

Tabella 25 Simboli utilizzati sulle etichette dei prodotti diagnostici PCR di Roche

 Età o data di nascita	 Dispositivo idoneo all'autodiagnosi	 Copie QS per reazione PCR; usare le copie QS per reazione PCR nel calcolo dei risultati.
 Software ausiliario	 Dispositivo non idoneo ai test POC	 UI QS per reazione PCR; utilizzare le unità internazionali (UI) QS per la reazione PCR nel calcolo dei risultati.
 Intervallo assegnato (copie/mL)	 Dispositivo non idoneo all'autodiagnosi	 Numero di serie
 Intervallo assegnato (UI/mL)	 Distribuito da	 Sito
 Mandatario nella Comunità Europea	 Non riutilizzare	 Procedura standard
 Foglio di dati del barcode	 Femmina	 Sterilizzazione con ossido di etilene
 Codice del batch	 Solo per valutazione delle prestazioni IVD	 Conservare al buio
 Rischio biologico	 Global Trade Item Number	 Limiti di temperatura
 Numero di catalogo	 Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	 File di definizione del test
 Contrassegno di conformità CE: questo dispositivo è conforme ai requisiti pertinenti del marchio CE relativamente ai dispositivi medico-diagnostici <i>in vitro</i>	 Limite inferiore dell'intervallo assegnato	 Alto
 Data di raccolta	 Maschio	 Procedura ultrasensibile
 Consultare le istruzioni per l'uso	 Fabbricante	 Identificazione univoca del dispositivo
 Contenuto sufficiente per <n> test	 Controllo negativo	 Limite superiore dell'intervallo assegnato
 Contenuto del kit	 Non sterile	 Riga di riempimento urina
 Controllo	 Nome del paziente	 Solo USA: la legge federale statunitense limita la vendita di questo dispositivo ai medici o su presentazione di prescrizione medica.
 Data di produzione	 Numero del paziente	 Utilizzare entro la data
 Dispositivo idoneo ai test POC	 Staccare qui	
	 Controllo positivo	

Assistenza tecnica

Per richiedere assistenza tecnica, contattare la nostra filiale locale:

https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Produttore e distributori

Tabella 26 Produttore e distributori



Fabbricato negli USA

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

Made in USA

Distributed by Roche Diagnostics
9115 Hague Road
Indianapolis, IN 46250-0457 USA
(For Technical Assistance call the
Roche Response Center
toll-free: 1-800-526-1247)

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marchi e brevetti

Questo prodotto è coperto da uno o più brevetti statunitensi (n. 8962293, 9102924, 8609340, 9234250, 8097717, 8192958, 10059993, 10358675, 8129118, 9963737, 9512494, 10041134 e 6727067) e dagli omologhi stranieri di ognuno.

COBAS, COBAS OMNI e AMPERASE sono marchi di Roche.

Il marchio “Armored RNA” è di proprietà di Asuragen, Inc. e Cenetron Diagnostics, Ltd.

ProClin® è un marchio registrato di Rohm and Haas Company.

Vacutainer® è un marchio registrato di Becton Dickinson & Company.

Tutti gli altri nomi di prodotti e marchi appartengono ai rispettivi proprietari.

La tecnologia per la prevenzione del carryover nell'enzima AmpErase® è protetta dal Brevetto USA n. 7,687,247 di proprietà di Life Technologies, concesso in licenza a Roche Molecular Systems, Inc.

Alcuni componenti di questo prodotto sono coperti da uno o più brevetti statunitensi e loro omologhi stranieri rilasciati a Novartis Vaccines and Diagnostics, Inc. e concessi in licenza a Roche Molecular Systems, Inc. e F. Hoffmann-La Roche Ltd.

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

Copyright

©2021 Roche Molecular Systems, Inc.



0123



07941714001-04IT

Doc Rev. 4.0 (Mfg-US)

Bibliografia

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;244:359-362]. J Hepatol. 2002;36:582-585.
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;144:705-714.
3. Rustgi VK. The epidemiology of hepatitis C infection in the United States. J Gastroenterol. 2007;42:513-521.
4. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. N Engl J Med. 2001;345:41-52.
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):1485-92.
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, Hoefs J, Gordon SC, Trepo C, 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;339:1493-1499.
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;358:958-965.
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et 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;140:346-355.
10. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; . American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. Hepatology. 2009;49:1335-1374.
11. Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; American Association for the 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;54:1433-1444.
12. Poordad F, McCone J Jr., Bacon BR, et al. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. N Engl J Med. 2011;364:1195-1206.
13. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. N Engl J Med. 2011;364:2405-2416.
14. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. N Engl J Med. 2011;364:1207-1217.
15. Zeuzem S, Andreone P, Pol S, et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. N Engl J Med. 2011;364:2417-2428.
16. Lawitz E, Mangia A, Wyles D, et al. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. N Engl J Med. 2013;368:1878-1887.

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;368:1867-1877.
18. Liang TJ, Ghany MG. Current and future therapies for hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2013;368:1907-1917.
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;38:118-123.
20. 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.
21. 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.
22. 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.
23. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY)*. 1992;10:413-417.
24. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-994.
25. 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.
26. 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.

Revisione del documento

Informazioni sulla revisione del documento	
Doc. Rev. 4.0 (Mfg-US) 05/2021	Inserimento del simbolo Rx Only nella prima pagina. Aggiornamento degli avvertimenti sui pericoli. Aggiornata la pagina dei simboli armonizzati. Aggiunta della sezione relativa all'assistenza tecnica. Aggiunta della dichiarazione "Made in". Aggiornati gli indirizzi dei Distributori. Aggiornamento della sezione Marchi e brevetti. Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.