

cobas[®] HCV GT

**Test per la determinazione del genotipo HCV
per l'uso sul cobas[®] 4800 System**

Per uso diagnostico in vitro

cobas[®] HCV GT	120 Tests	P/N: 06984274190
cobas[®] HCV GT Control Kit	10 Sets	P/N: 06984339190
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 Lysis Kit 2	240 Tests 960 Tests	P/N: 06979530190 P/N: 06979548190

INDICE GENERALE

Uso previsto

Riassunto e spiegazione del test

Premessa	4
Logica dell'utilizzo dei test per la determinazione del genotipo HCV	4
Spiegazione del test	4
Principi della procedura	5

Materiali e reagenti

Reagenti	6
Requisiti per la conservazione e la manipolazione dei reagenti.....	10
Materiali aggiuntivi necessari	10
Strumentazione e software necessari ma non forniti	11

Precauzioni e requisiti per l'uso

Avvertimenti e precauzioni.....	12
Buone pratiche di laboratorio.....	12
Manipolazione dei reagenti.....	13
Contaminazione	13
Integrità	13
Smaltimento	14
Fuoriuscite e pulizia	14
Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni	14
Prelievo dei campioni	14
Trasporto, conservazione e stabilità dei campioni	14

Istruzioni per l'uso

Esecuzione del test.....	15
Dimensioni della seduta	15
Flusso di lavoro	16

Risultati

Controllo di qualità e validità dei risultati	18
Interpretazione dei risultati	18
Elenco dei flag dei risultati	19
Limiti della procedura	20

Valutazione delle prestazioni non cliniche

Caratteristiche delle prestazioni	21
Accuratezza	21
Limite di sensibilità (LoD)	22
Ripetibilità	23
Infezioni con genotipi misti	24
Specificità	24
Specificità analitica	24
Specificità analitica e sostanze interferenti	25
Correlazione tra i metodi	27
Tasso globale d'errore del sistema	28
Contaminazione crociata	28

Informazioni supplementari

Caratteristiche specifiche del test	29
Simboli	30
Produttore e distributori	31
Marchi e brevetti	31
Copyright	31
Bibliografia	32
Revisione del documento	33

Uso previsto

Il test **cobas**® HCV GT per l'amplificazione degli acidi nucleici *in vitro* è destinato all'identificazione qualitativa dei genotipi 1-6 e dei sottotipi a e b, genotipo 1, del virus dell'epatite C (HCV). Viene eseguito su campioni di plasma EDTA o siero umani, ottenuti da soggetti con infezione cronica da HCV, utilizzando il **cobas**® 4800 System: un sistema costituito dal **cobas x** 480 instrument per la preparazione automatizzata dei campioni e il **cobas z** 480 analyzer per l'amplificazione e la rilevazione automatizzate. Il test **cobas**® HCV GT è destinato all'uso per la selezione di soggetti con infezione cronica da HCV idonei alla terapia antivirale e per la determinazione della durata della terapia antivirale in base alle informazioni relative alle prescrizioni.

Riassunto e spiegazione del test

Premessa

L'HCV è considerato il principale agente eziologico responsabile del 90-95% dei casi di epatite post-trasfusionale.¹⁻⁴ L'HCV è un virus con RNA a singolo filamento positivo, con un genoma di circa 9.500 nucleotidi codificanti per 3.000 aminoacidi. I genotipi e i sottotipi di HCV sono distribuiti in tutto il mondo e vari genotipi sono dominanti in aree geografiche specifiche. La compresenza di genotipi di HCV diversi in una località geografica rende necessaria l'identificazione del genotipo virale specifico per prescrivere al paziente una terapia antivirale efficace.

Logica dell'utilizzo dei test per la determinazione del genotipo HCV

Tradizionalmente i pazienti con infezione cronica da HCV venivano sottoposti a cure di durata variabile con interferone pegilato e ribavirina, dopo l'identificazione del genotipo dell'HCV causa dell'infezione e tenendo conto delle probabilità di ottenere una risposta virologica sostenuta (Sustained Virologic Response, SVR) al termine della terapia antivirale.⁵ La durata della cura con interferone pegilato e ribavirina per i pazienti con genotipo 2 e 3 era di 24 settimane, mentre per i pazienti con genotipo 1 (con un tasso di successo più alto) era di 48 settimane. Dopo l'approvazione di molti farmaci inibitori ad azione diretta (DAA) nel 2011, le opzioni terapeutiche e farmacologiche disponibili per ogni genotipo sono aumentate⁶ e offrono indicazioni specifiche sulla combinazione di farmaci e sulla durata della cura. L'uso di una terapia farmacologica specifica dipende di più dal fatto che un farmaco sia registrato e approvato a livello locale e nazionale e dalla sua disponibilità in regime di SSN. È generalmente riconosciuta la necessità che il genotipo HCV e il sottotipo (1a/1b) del genotipo 1 siano identificati prima di iniziare la cura, in quanto determinano la scelta della terapia.

Spiegazione del test

Il test **cobas**® HCV GT è un test qualitativo di amplificazione degli acidi nucleici che viene eseguito sul **cobas**® 4800 System. Il test **cobas**® HCV GT utilizza la RT-PCR (real-time reverse transcription-polymerase chain reaction) per identificare i genotipi 1-6 e i sottotipi 1a e 1b del virus HCV mediante l'uso di primer e sonde oligonucleotidiche marcate con fluorocromi, specifici per i genotipi e i sottotipi ricercati. Il test rileva inoltre l'HCV (indipendentemente dal genotipo) utilizzando i primer e le sonde in una regione altamente conservata del genoma dell'HCV, che funge da controllo interno per il monitoraggio dell'intero processo di preparazione del campione e reazione RT-PCR.

Principi della procedura

Il test **cobas**® HCV GT è basato sulla preparazione automatizzata dei campioni (estrazione e purificazione degli acidi nucleici), seguita da amplificazione e rilevazione mediante real-time RT-PCR. Il **cobas**® 4800 System prevede l'uso del **cobas x 480** instrument per la preparazione dei campioni e del **cobas z 480** analyzer per l'amplificazione e la rilevazione automatizzate. Il **cobas**® 4800 software si occupa della gestione automatizzata dei dati, classifica i risultati di tutti i test con l'identificazione di uno o più genotipi e sottotipi, o come risultati indeterminati (RNA di HCV rilevato ma genotipo o sottotipo non identificato) o non validi (RNA di HCV non rilevato). I risultati possono essere visualizzati direttamente sullo schermo del sistema, esportati o stampati in un report.

Gli acidi nucleici ottenuti dai campioni dei pazienti e dai controlli esterni vengono rilasciati tramite l'aggiunta di proteinasi e di un reagente caotropico di lisi nel campione. Dopo il loro rilascio, gli acidi nucleici si legano alla superficie di silice delle biglie di vetro magnetiche. 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 lavaggio nei passaggi successivi, mentre gli acidi nucleici purificati vengono eluiti dalle biglie di vetro magnetiche con il tampone di eluizione a temperature elevate.

Ogni campione viene amplificato in tre reazioni real-time RT-PCR. L'amplificazione e la rilevazione mediante RT-PCR, specifiche per i genotipi 1-6 e per i sottotipi 1a e 1b del virus HCV, sono ottenute grazie all'uso di primer e sonde oligonucleotidiche marcate con fluorocromi e specifici per i genotipi e i sottotipi ricercati. Ogni reazione include inoltre, come controllo interno, i primer e le sonde per una regione altamente conservata del genoma dell'HCV, per l'amplificazione e la rilevazione dell'HCV indipendentemente dal genotipo. Le sonde sono marcate con quattro fluorocromi reporter differenti, che consentono la rilevazione simultanea dell'HCV e tre genotipi o sottotipi al massimo in ogni reazione.

Una DNA polimerasi termostabile viene utilizzata sia per la trascrizione inversa che per l'amplificazione PCR. Le soluzioni Master Mix contengono trifosfato di deossiuridina (dUTP) anziché trifosfato di deossitimidina (dTTP), che è incorporato nel DNA appena sintetizzato (amplicone).⁷⁻⁹ Tutti gli eventuali ampliconi contaminanti prodotti da sessioni di PCR precedenti vengono inattivati come stampi PCR dall'enzima AmpErase, che è presente nel reagente Master Mix, prima del primo passaggio di denaturazione della PCR. L'enzima AmpErase catalizza la rimozione di uracile dal DNA, ma non agisce sull'RNA o sul DNA che si trova in natura, perché non contiene uracile. Gli ampliconi che si formano nei successivi cicli della PCR non vengono inattivati, in quanto l'enzima AmpErase è inattivo alle temperature di appaiamento e denaturazione della PCR.

Ognuna delle sonde oligonucleotidiche contenute nelle soluzioni Master Mix **cobas**® HCV GT è marcata con due fluorocromi: un quencher non fluorescente e un reporter fluorescente. Quando le sonde sono intatte, la fluorescenza dei reporter è soppressa dal quencher. Durante l'amplificazione mediante PCR, le sonde ibridizzano ai loro siti target tra i siti di legame dei primer, mentre la DNA polimerasi estende i primer. L'attività nucleasica 5'→3' della DNA polimerasi scinde le sonde ibridate, separando così i fluorocromi reporter e quencher e causando l'emissione di un segnale fluorescente. Ad ogni ciclo della PCR vengono generate quantità crescenti di sonde scisse, cosicché il segnale cumulativo del fluorocromo reporter aumenta. La rilevazione e la discriminazione real-time dei prodotti della PCR sono ottenute misurando la fluorescenza dei fluorocromi reporter rilasciati ad ogni ciclo della PCR. Ciò viene fatto automaticamente dal **cobas z 480** analyzer.

Materiali e reagenti

Reagenti

Tutti i reagenti e i controlli non ancora aperti devono essere conservati secondo le indicazioni contenute nella tabella Requisiti per la conservazione e la manipolazione dei reagenti.

Kit	Componenti e ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento ^a
cobas® HCV GT 120 test (P/N: 06984274190)	MMX R1 (Reagente 1 Master Mix cobas®) Acetato di manganese, idrossido di potassio, < 0,1% sodio azide	10 x 1,75 ml	N/D
	HCV GT MMX R2A (Reagente 2A Master Mix cobas® HCV GT) Tampone tricina, acetato di potassio, 18% dimetil sulfoxide, glicerolo, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% primer HCV, < 0,01% sonde oligonucleotidiche fluorescenti, < 0,01% aptamero oligo- nucleotidico, < 0,01% acido poliadenilico, < 0,01% DNA polimerasi Z05D (batterica), < 0,01% enzima AmpErase (uracil-N- glicosilasi) (batterico), < 0,1% sodio azide	10 x 0,5 ml	N/D
	HCV GT MMX R2B (Reagente 2B Master Mix cobas® HCV GT) Tampone tricina, acetato di potassio, 18% dimetil sulfoxide, glicerolo, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% primer HCV, < 0,01% sonde oligonucleotidiche fluorescenti, < 0,01% aptamero oligo- nucleotidico, < 0,01% acido poliadenilico, < 0,01% DNA polimerasi Z05D (batterica), < 0,01% enzima AmpErase (uracil-N- glicosilasi) (batterico), < 0,1% sodio azide	10 x 0,5 ml	N/D
	HCV GT MMX R2C (Reagente 2C Master Mix cobas® HCV GT) Tampone tricina, acetato di potassio, 18% dimetil sulfoxide, glicerolo, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% primer HCV, < 0,01% sonde oligonucleotidiche fluorescenti, < 0,01% aptamero oligo- nucleotidico, < 0,01% acido poliadenilico, < 0,01% DNA polimerasi Z05D (batterica), < 0,01% enzima AmpErase (uracil-N- glicosilasi) (batterico), < 0,1% sodio azide	10 x 0,5 ml	N/D

Kit	Componenti e ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento ^a
cobas® HCV GT Control Kit (Kit di controllo cobas® HCV GT) 10 set (P/N: 06984339190)	HCV GT (+)C (Controllo positivo cobas® HCV GT) < 0,001% RNA sintetico (armored) di HCV incapsulato in proteina di rivestimento batteriofago MS2, plasma umano normale, non reattivo ai test brevettati per gli anticorpi anti-HIV-1/2, anti-HCV, 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	10 x 0,75 ml	  ATTENZIONE 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 di rifiuti autorizzato.
	(-) C (Controllo negativo cobas®) Plasma umano normale, non reattivo ai test brevettati per gli anticorpi anti-HIV-1/2, anti-HCV, 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	10 x 0,75 ml	
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 (Kit 2 di preparazione dei campioni per cobas® 4800 System) 240 test (P/N: 06979513190)	MGP 2 (Reagente 2 cobas® 4800 MGP) Biglie di vetro magnetiche, tampone Tris, 0,1% metil-4 idrossibenzoato, < 0,1% sodio azide	10 x 8 ml	N/D
	EB 2 (Tampone di eluizione 2 cobas® 4800) Tampone Tris, 0,2% metil-4 idrossibenzoato	10 x 17 ml	
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 (Kit 2 di preparazione dei campioni per cobas® 4800 System) 960 test (P/N: 06979521190)	MGP 2 (Reagente 2 cobas® 4800 MGP) Biglie di vetro magnetiche, tampone Tris, 0,1% metil-4 idrossibenzoato, < 0,1% sodio azide	10 x 16 ml	N/D
	EB 2 (Tampone di eluizione 2 cobas® 4800) Tampone Tris, 0,2% metil-4 idrossibenzoato	10 x 17 ml	
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Kit del tampone di lavaggio per cobas® 4800 System) 240 test (P/N: 05235863190)	WB Citrato di sodio diidrato, 0,05% N-Metilisotiazolone-HCl	10 x 55 ml	N/D
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Kit del tampone di lavaggio per cobas® 4800 System) 960 test (P/N: 05235871190)	WB Citrato di sodio diidrato, 0,05% N-Metilisotiazolone-HCl	10 x 200 ml	N/D

Kit	Componenti e ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento ^a
	P 2 (Proteasi 2 cobas® 4800) Tampone Tris, < 0,05% EDTA, cloruro di calcio, acetato di calcio, 8% (p/v) proteinasi^b	10 x 1,0 ml	 PERICOLO H317 Può provocare una reazione allergica cutanea. H334 Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato. P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280 Indossare guanti protettivi. P284 Indossare un apparecchio di protezione respiratoria. P304 + P340 IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. P333 + P313 In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. P342 + P311 In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico. 39450-01-6 Proteinasi, Tritirachium album serina
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 (Kit di lisi 2 per cobas® 4800 System) 240 test (P/N: 06979530190)	LYS 2 (Tampone di lisi 2 cobas® 4800) 43% (p/p) tiocianato di guanidinio^b, 5% (p/v) polidocanolo^b, 2% (p/v) ditiotreitolo, citrato di sodio diidrato	10 x 27 ml	 PERICOLO H302+H332 Nocivo se ingerito o inalato. H318 Provoca 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 Proteggere gli occhi/il viso. P304 + P340 + P312 IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o 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. P501 Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione di rifiuti autorizzato. 593-84-0 Tiocianato di guanidinio 9002-92-0 Polidocanolo

Kit	Componenti e ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 (Kit di lisi 2 per cobas® 4800 System) 960 test (P/N: 06979548190)	P 2 (Proteasi 2 cobas® 4800) Tampone Tris, < 0,05% EDTA, cloruro di calcio, acetato di calcio, 8% (p/v) proteinasi ^b	10 x 1,0 ml	 PERICOLO H317 Può provocare una reazione allergica cutanea. H334 Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato. P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280 Indossare guanti protettivi. P284 Indossare un apparecchio di protezione respiratoria. P304 + P340 IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. P333 + P313 In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. P342 + P311 In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico. 39450-01-6 Proteinasi, Tritirachium album serina
	LYS 2 (Tampone di lisi 2 cobas® 4800) 43% (p/p) tiocianato di guanidinio ^b , 5% (p/v) polidocanolo ^b , 2% (p/v) ditiotreitolo, citrato di sodio diidrato	10 x 84 ml	 PERICOLO H302+H332 Nocivo se ingerito o inalato. H318 Provoca 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 Proteggere gli occhi/il viso. P304 + P340 + P312 IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. In caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o 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. P501 Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione di rifiuti autorizzato. 593-84-0 Tiocianato di guanidinio 9002-92-0 Polidocanolo

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

^b Sostanza pericolosa

Requisiti per la conservazione e la manipolazione dei reagenti

Reagente	Temperatura di conservazione	Tempo di conservazione
cobas® HCV GT	2-8°C	Stabile fino alla data di scadenza indicata
cobas® HCV GT Control Kit	2-8°C	Stabile fino alla data di scadenza indicata
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2-8°C	Stabile fino alla data di scadenza indicata
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	15-25°C	Stabile fino alla data di scadenza indicata
cobas® 4800 System Lysis Kit 2	2-8°C	Stabile fino alla data di scadenza indicata

Non congelare i reagenti.

Materiali aggiuntivi necessari

Materiali	P/N
Piastra di preparazione (DWP) da 2,0 ml per cobas® 4800 System	06884008001
Micropiastra (MWP) da 0,3 ml per cobas® 4800 System	05232724001
Applicatore per pellicola adesiva	04900383001
Puntali CORE da 1000 µl, rack da 96	04639642001
Vaschetta per reagenti da 200 ml	05232759001
Vaschetta per reagenti da 50 ml	05232732001
Rack da 24 posizioni	04639502001
Rack da 32 posizioni	04639529001
Sacchetto per rifiuti solidi	05530873001 (piccolo) o 04691989001 (grande)
Manica di smaltimento in plastica Hamilton STAR	04639669001
Guanti da laboratorio, senza talco	È ammesso l'uso di guanti da laboratorio senza talco di qualsiasi marca.
Miscelatore vortex (monoprovetta)	È ammesso l'uso di un miscelatore vortex di qualsiasi marca.
Centrifuga dotata di cestello basculante con RCF minimo di 1500	È ammesso l'uso di una centrifuga di qualsiasi marca.

Per maggiori informazioni sui prodotti venduti separatamente, rivolgersi al rappresentante Roche locale.

Strumentazione e software necessari ma non forniti

Strumentazione e software necessari, non forniti
cobas® 4800 System cobas x 480 instrument cobas z 480 analyzer Unità di controllo
cobas® 4800 System Application Software (Core) versione 2.2.0 o successiva
cobas® 4800 System cobas® HCV GT AP v1.1.0 o successiva

Nota: contattare il rappresentante Roche locale per richiedere un listino dettagliato dei rack per campioni, dei rack portapuntali, dei rack per reagenti e dei rack per piastre compatibili con gli strumenti.

Provette campione supportate

Il test può essere eseguito con le provette primarie e i tubi secondari comunemente utilizzati.

Sono supportate le seguenti provette campione:

Provette primarie

Diametro nominale (mm)	Volume iniziale del campione - sangue intero trattato (centrifugato)	Additivo provetta	
	Volume di analisi del campione 400 µl	Plasma EDTA	Siero
11-14	1800 µl o più	Con o senza gel	Con gel
14,5-16	Oltre 4000 µl	Con o senza gel	Con gel

Per ordinare provette specifiche e ricevere informazioni sul volume iniziale minimo del campione per particolari tipi di provette primarie, contattare il rappresentante Roche locale.

Tubi secondari

Diametro nominale (mm)	Volume iniziale del campione
	Volume di analisi del campione 400 µl
11-16	1000 µl o più (tubi secondari specifici richiedono un volume iniziale minimo inferiore a 1000 µl)

Per ordinare provette specifiche e ricevere informazioni sul volume iniziale minimo del campione per particolari tipi di tubi secondari, contattare il rappresentante Roche locale.

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 analitica di questo test, prestare attenzione affinché i reagenti, i campioni e le miscele di amplificazione siano esenti da contaminazioni.

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Il test **cobas**® HCV GT non è destinato all'uso come test di screening per la presenza di HCV nel sangue o negli emoderivati, né come test diagnostico per confermare la presenza di un'infezione da HCV.
- Tutti i campioni dei pazienti devono essere manipolati come materiale a rischio biologico, seguendo le buone pratiche di laboratorio descritte in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e nel documento M29-A4 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).^{10,11} Questa procedura deve essere eseguita esclusivamente da personale con esperienza nella manipolazione di materiale a rischio biologico e nell'uso del test **cobas**® HCV GT e del **cobas**® 4800 System.
- Tutti i materiali di origine umana devono essere considerati a rischio biologico e quindi manipolati adottando precauzioni universalmente valide.
- Il kit di controllo **cobas**® HCV GT contiene plasma derivato da sangue umano. Il materiale di provenienza è stato analizzato con test sierologici concessi in licenza ed è risultato non reattivo agli anticorpi anti-HCV, anti-HIV-1/2, anti-HBc e all'antigene HBsAg. I test con i metodi PCR non hanno rilevato la presenza di RNA di HIV-1 e HIV-2, RNA di HCV e DNA di HBV. Allo stato attuale, tuttavia, nessun metodo di analisi garantisce con assoluta certezza che i prodotti derivati da sangue umano non trasmettano agenti infettivi.
- Impedire che il reagente MGP sia esposto a fonti di campi magnetici.
- **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.
- Per ulteriori avvertimenti, precauzioni e procedure volte a ridurre il rischio di contaminazione per il **cobas x 480** instrument o il **cobas z 480 analyzer**, consultare l'Assistenza Utente del **cobas**® 4800 System. In caso di sospetta contaminazione, eseguire la pulizia e la manutenzione settimanale seguendo le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del **cobas**® 4800 System.

Nota: per istruzioni specifiche, vedere la sezione "*Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni*".

Buone pratiche di laboratorio

- Non pipettare con la bocca.
- Non mangiare, bere o fumare nelle aree di lavoro del laboratorio.
- Lavare accuratamente le mani dopo avere manipolato i campioni e i reagenti dei kit e dopo avere rimosso i guanti da laboratorio.

- Indossare protezioni per gli occhi, camici e guanti da laboratorio durante la manipolazione dei reagenti. Evitare il contatto di questi materiali con la pelle, gli occhi o le membrane mucose. In caso di contatto, lavare immediatamente con abbondante acqua. Intervenire tempestivamente per prevenire possibili ustioni. In caso di fuoriuscita del reagente, diluire il liquido con acqua prima di asciugare.
- 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%.
- Nel laboratorio mantenere una temperatura coerente con le specifiche operative del sistema, descritte nell'Assistenza Utente del **cobas® 4800 System**.

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 flacone e fiala di reagente per escludere eventuali perdite. In caso di perdite accertate, non utilizzare il materiale per il test.
- Il tampone di lisi 2 **cobas® 4800** 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.
- Il test **cobas® HCV GT** e il kit 2 di preparazione dei campioni **cobas® 4800** 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 tampone di lisi 2 **cobas® 4800**, contenente guanidina tiocianato, entri in contatto con la soluzione di ipoclorito di sodio (candeggina). L'eventuale miscela potrebbe produrre gas altamente tossici.

Contaminazione

- Per evitare contaminazioni è necessario indossare i guanti da laboratorio e sostituirli tra la manipolazione dei campioni e dei reagenti **cobas® HCV GT**. Evitare di contaminare i guanti durante la manipolazione dei campioni e dei controlli. Indossare protezioni per gli occhi, camici e guanti da laboratorio durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti del kit.
- Evitare la contaminazione dei reagenti con batteri e ribonucleasi.
- Potrebbero essere generati risultati falsi positivi senza un'adeguata prevenzione del carryover durante la manipolazione dei campioni.

Integrità

- Non utilizzare i kit dopo le date di scadenza.
- Non combinare i reagenti.
- Non utilizzare i consumabili dopo la data di scadenza.
- Tutti i consumabili sono monouso. Non riutilizzare.
- La manutenzione di tutte le apparecchiature deve essere conforme alle istruzioni fornite dal produttore.

Smaltimento

- Il test **cobas® HCV GT** e il kit 2 di preparazione dei campioni **cobas® 4800** contengono sodio azide come conservante (Vedere “**Avvertimenti e precauzioni**”). La sodio azide può reagire con le tubature di piombo e rame formando azidi metallici altamente esplosivi. Quando le soluzioni contenenti sodio azide vengono smaltite nei lavelli del laboratorio, è necessario sciacquare gli scarichi con abbondante acqua fredda per impedire l'accumulo di azidi.
- Smaltire i reagenti inutilizzati e i materiali di scarto nel rispetto delle leggi vigenti.

Nota: *per lo smaltimento dei rifiuti liquidi, consultare l'Assistenza Utente del **cobas® 4800 System**.*

Fuoriuscite e pulizia

- Il tampone di lisi 2 **cobas® 4800** contiene guanidina tiocianato. In caso di fuoriuscita di liquido contenente guanidina tiocianato, pulire con acqua e un detergente da laboratorio idoneo. Se il liquido fuoriuscito contiene agenti potenzialmente infettivi, pulire la superficie interessata PRIMA con acqua e un detergente da laboratorio e poi con ipoclorito di sodio allo 0,5%.
- In caso di fuoriuscita di liquido sul **cobas x 480** instrument, pulire attenendosi alle istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del **cobas® 4800 System**.
- Per pulire il **cobas x 480** instrument o il **cobas z 480** analyzer, non utilizzare la soluzione di ipoclorito di sodio (candeggina). Pulire il **cobas x 480** instrument o il **cobas z 480** analyzer attenendosi alle procedure descritte nell'Assistenza Utente del **cobas® 4800 System**.

Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni

Nota: *manipolare tutti i campioni 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.

Prelievo dei campioni

Raccogliere il sangue nelle provette SST™ per la separazione del siero, o nelle provette BD Vacutainer® PPT™ per la preparazione del plasma per i metodi di analisi di diagnostica molecolare, o in provette sterili con EDTA come anticoagulante.

Nota: *l'utente è tenuto a seguire le istruzioni fornite dal produttore delle provette per la preparazione del siero/plasma.*

Trasporto, conservazione e stabilità dei campioni

- Il sangue intero raccolto nelle provette SST™ per la separazione del siero, o nelle provette BD Vacutainer® PPT™ per la preparazione del plasma per i metodi di analisi di diagnostica molecolare o nelle provette sterili con EDTA come anticoagulante può essere conservato e/o trasportato per non più di 24 ore a 2-25°C prima della preparazione del plasma/siero e dei successivi test.

- I campioni di plasma/siero possono essere conservati in tubi secondari per non più di 24 ore a 2-25°C, per non più di 72 ore a 2-8°C o per massimo 6 settimane a $\leq -18^{\circ}\text{C}$. I campioni di plasma/siero separati in tubi secondari sono stabili per massimo tre cicli di congelamento/scongelo se congelati a $\leq -18^{\circ}\text{C}$.
- 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

Esecuzione del test

Figura 1 Flusso di lavoro cobas® HCV GT

1	Avviare il sistema
2	Eseguire la manutenzione dello strumento
3	Prendere i campioni e i reagenti dal luogo in cui sono conservati
4	Avviare la seduta
5	Caricare i campioni
6	Con sistema LIS: confermare il work order Senza sistema LIS: creare il work order
7	Caricare i consumabili (piastra di preparazione, micropiastra, rack portapuntali)
8	Caricare i reagenti
9	Avviare la seduta per la preparazione dei campioni
10	Scaricare e coprire la micropiastra
11	Caricare la micropiastra sull'analizzatore
12	Rimuovere i campioni, i reagenti usati e la piastra di preparazione
13	Rivedere i risultati
14	Con sistema LIS: inviare i risultati al sistema LIS
15	Scaricare tutto il materiale dall'analizzatore

Nota: per istruzioni operative dettagliate, consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.

Dimensioni della seduta

I reagenti generici per la preparazione dei campioni (cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2, cobas® 4800 System Lysis Kit 2 e cobas® 4800 System Wash Buffer Kit) sono disponibili in due formati, ognuno sufficiente per 10 sedute da 24 o da 96 campioni, compresi i controlli e i campioni dei pazienti da analizzare. Il test cobas® HCV GT è disponibile in un formato del kit che consente di analizzare massimo 120 campioni (10 × 12), inclusi i controlli e i campioni dei pazienti. Il kit di controllo cobas® HCV GT è disponibile in un solo formato, costituito da 10 set di controlli positivi e negativi, ed è compatibile con qualsiasi configurazione della seduta. Per ogni batch di test è necessario utilizzare un controllo positivo HCV GT e un controllo negativo. Per una seduta analitica singola del test cobas® HCV GT, sono consentiti al massimo 30 campioni dei pazienti e 2 controlli.

Nella Figura 1 è illustrata una sintesi della procedura.

Nota: *per un uso ottimale dei reagenti, è possibile utilizzare i reagenti generici per la preparazione dei campioni in una seduta contenente in totale 1-22 campioni (formato del kit 10×24) o 1-30 campioni (formato del kit 10×96). Non è possibile mescolare formati diversi del kit del tampone di lavaggio per cobas® 4800 System, del kit 2 di preparazione dei campioni per cobas® 4800 System e del kit di lisi 2 per cobas® 4800 System. Ad esempio, se all'inizio della seduta viene letto il barcode di un flacone di reagente WB da 96 test, anche gli altri kit di preparazione dei campioni dovranno essere nel formato da 96 test.*

Flusso di lavoro

Il test cobas® HCV GT segue il flusso di lavoro completo configurato nel cobas® 4800 software. Dopo la preparazione dei campioni sul cobas x 480 instrument, è prevista la fase di amplificazione/rilevazione sul cobas z 480 analyzer. Il test cobas® HCV GT può essere eseguito da solo o in modalità batch misto, ovvero insieme ad altri test che abbiano in comune la stessa procedura automatizzata di estrazione dei campioni e lo stesso profilo PCR per l'amplificazione e la rilevazione. Nella fase di selezione dei test, il software segnalerà quali altri test sono compatibili con cobas® HCV GT per la modalità batch misto. Per maggiori dettagli, consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.

1. Per l'avvio del sistema, seguire le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.
2. Eseguire gli interventi di manutenzione seguendo le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.
3. Reperire tutti i reagenti e i consumabili necessari. Tutti i reagenti, ad eccezione di HCV GT MMX R2A, HCV GT MMX R2B, HCV GT MMX R2C e MMX R1, devono raggiungere la temperatura ambiente prima di essere caricati sul cobas x 480 instrument. I reagenti HCV GT MMX R2A, HCV GT MMX R2B, HCV GT MMX R2C e MMX R1 possono essere prelevati direttamente dal luogo in cui sono conservati a 2-8°C, in quanto avranno modo di raggiungere la temperatura ambiente sul cobas x 480 instrument prima del loro utilizzo nella seduta.

Nota: *tutti i reagenti e tutte le vaschette per reagenti sono monouso e sono provvisti di barcode. Il cobas® 4800 software tiene traccia dell'uso dei reagenti e delle vaschette e rifiuta i reagenti e le vaschette già utilizzati.*

4. Avviare una nuova seduta e selezionare il tipo di flusso di lavoro HCV GT. Per eseguire una seduta in batch misto, oltre ad HCV GT selezionare altri flussi di lavoro compatibili (ad esempio, HIV-1, HCV o CMV).
5. Seguire la procedura guidata e scansionare il barcode sulle schede dei parametri per gli intervalli di controllo e i coefficienti di calibrazione.

Nota: *scansionare le schede dei parametri dei reagenti non scaduti. Il software non verifica la data di scadenza dei reagenti nelle schede dei parametri. Controllare la data di scadenza stampata sulla scheda dei parametri o sui kit dei reagenti prima di scansionare l>ID barcode corrispondente.*

6. Caricare i campioni. È possibile caricare i tubi primari o secondari; il volume minimo dei campioni dipenderà dal tipo e dalle dimensioni delle provette. Per maggiori dettagli, consultare la sezione “Tipi di provette campione supportate”.
7. Creare il work order. Per creare il work order, è possibile procedere in tre modi:
 - Utilizzando il Sample Editor prima di caricare il rack per campioni sul cobas x 480 instrument (pulsante “Editor” sulla destra del menu principale). È possibile salvare, modificare e ricaricare i work order secondo necessità. Al momento di selezionare i risultati richiesti, scegliere “HCV GT”.
 - Avviare la procedura guidata per creare una nuova seduta e caricare i campioni sul cobas x 480 instrument al momento opportuno. I barcode dei campioni saranno letti automaticamente, mentre i risultati richiesti per ogni campione devono essere definiti. Al momento di selezionare i risultati richiesti, scegliere “HCV GT”.
 - Utilizzare il sistema LIS della propria organizzazione.

Per maggiori dettagli, consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System. Caricare i campioni e definire/selezionare il work order oppure utilizzare il sistema LIS.

8. Caricare i consumabili seguendo le istruzioni visualizzate dalla procedura guidata. Non aggiungere o rimuovere singoli puntali da un rack portapuntali parzialmente utilizzato, poiché il software tiene il conto dei puntali rimanenti. Se i puntali disponibili non sono sufficienti per la seduta, viene generato un allarme.
9. Caricare i reagenti.

Caricare i reagenti per la preparazione dei campioni nelle apposite vaschette provviste di barcode. Le vaschette per reagenti sono disponibili in due formati: 200 ml e 50 ml. Seguire la procedura guidata per selezionare la vaschetta per reagenti del formato corretto. Il barcode delle vaschette per reagenti deve essere rivolto verso il lato destro del rack. Caricare i reagenti necessari per la preparazione dei campioni seguendo il metodo “scan-scan-pour-place”:

- “Scan”: scansionare il barcode dei flaconi dei reagenti.
- “Scan”: scansionare il barcode delle vaschette per reagenti.
- “Pour”: versare il reagente nella vaschetta.
- “Place”: collocare la vaschetta piena di reagente nella posizione prevista sul rack per reagenti.

Nota: *l'orologio interno del cobas® 4800 System calcola il tempo di permanenza dei reagenti sullo strumento. Dopo aver scansionato i barcode dei reagenti LYS 2 o WB, si ha 1 ora di tempo per completare il caricamento e fare clic sul pulsante “Start”. Nella scheda “Workplace” viene visualizzato un cronometro del tempo residuo. Il sistema non permetterà alla seduta di iniziare se il tempo è scaduto.*

Nota: *per garantire un trasferimento accurato delle biglie magnetiche (magnetic glass particles, MGP), agitare con vigore il flacone MGP immediatamente prima di versarlo nella vaschetta per reagenti.*

10. Caricare le fiale dei reagenti di amplificazione/rilevazione (HCV GT MMX R2A, HCV GT MMX R2B, HCV GT MMX R2C e MMX R1) e le fiale dei controlli [HCV GT(+)C e (–) C] direttamente sul rack per reagenti.

Nota: *per prevenire interruzioni delle sedute e contaminazioni indesiderate, è necessario scuotere verso il basso le fiale dei reagenti per evitare la formazione di bolle d'aria/pellicole liquide. Durante l'apertura dei controlli, iniziare da quello più vicino all'operatore (dalla posizione 24 alla 1). Sostituire i guanti da laboratorio dopo avere manipolato i controlli positivi.*

11. Avviare la seduta per la preparazione dei campioni. Se la seduta di preparazione dei campioni termina correttamente, vengono visualizzati i pulsanti “Sample Preparation results” e “Unload”. Se lo si desidera, è possibile selezionare il pulsante “Sample Preparation results” per rivedere i risultati e quindi selezionare “Unload” per scaricare i rack per piastre. In alternativa è possibile selezionare “Unload” per scaricare il rack per piastre senza rivedere i risultati. Consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.
12. Dopo avere scaricato la micropiastra, seguire le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del cobas® 4800 System per sigillare e trasferire la piastra sul cobas z 480 analyzer.
13. Caricare la micropiastra sull'analizzatore e avviare la seduta di amplificazione e rilevazione seguendo le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.

Nota: *l'orologio interno del cobas® 4800 System calcola il tempo trascorso da quando i campioni preparati sono stati aggiunti alla soluzione Master Mix attivata. L'amplificazione e la rilevazione devono iniziare il prima possibile e comunque entro e non oltre 40 minuti dalla fine della seduta sul cobas x 480 instrument. Nella scheda “Workplace” viene visualizzato un cronometro del tempo residuo. Il sistema annulla la seduta allo scadere del tempo.*

14. Rimuovere i campioni, i reagenti usati e la piastra di preparazione seguendo le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.
15. Al termine della seduta di amplificazione e rilevazione, seguire le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del cobas® 4800 System per rivedere e accettare i risultati.
16. Se è disponibile un sistema LIS, inviare i risultati al LIS.
17. Seguire le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del cobas® 4800 System per scaricare la micropiastra dal cobas z 480 analyzer.

Risultati

Il cobas® 4800 System determina automaticamente il genotipo di HCV e il sottotipo 1a e 1b per i campioni.

Controllo di qualità e validità dei risultati

- In ogni batch sono inclusi un controllo negativo [(-) C] e un controllo positivo [HCV GT (+)C].
- Verificare che il batch sia valido nel cobas® 4800 software e/o nel report.
- Il cobas® 4800 software invalida automaticamente i risultati se il controllo negativo e il controllo positivo falliscono.

Interpretazione dei risultati dei controlli

Tabella 1. Interpretazione dei risultati dei controlli positivi e negativi

Controllo negativo	Risultato	Interpretazione
(-) C	Valid	Il controllo è valido. RNA di HCV non rilevato.
	Invalid	Il controllo negativo non è valido.
Controllo positivo	Risultato	Interpretazione
HCV GT (+)C	Valid	Il controllo è valido.
	Invalid	Il controllo positivo non è valido.

Interpretazione dei risultati

Nota: la validità di tutti i test e batch è verificata dal cobas® 4800 software.

Nota: un batch valido può includere risultati dei campioni sia validi che non validi.

Se una seduta è valida, vedere l'interpretazione dei risultati dei campioni nella Tabella 2.

Tabella 2. Risultati e interpretazione

cobas® HCV GT	Report e interpretazione dei risultati
Invalid	Una, due o tre reazioni non valide. Il controllo HCV indipendente dal genotipo non è stato rilevato in una, due o tre reazioni
Indeterminate	Il controllo HCV indipendente dal genotipo è stato rilevato in tutte e tre le reazioni, ma non è stato identificato il genotipo o il sottotipo
1; 1a; 1b; 2; 3; 4; 5 o 6	I genotipi identificati sono riportati in ordine alfanumerico, separati dal punto e virgola.

Elenco dei flag dei risultati

Nella tabella seguente sono riassunti tutti gli avvisi (flag) che hanno rilevanza ai fini dell'interpretazione dei risultati.

Tabella 3. Elenco dei flag

Codice flag	Descrizione	Azione consigliata
R20	Il controllo positivo non è valido	I valori del controllo positivo non sono validi. 1. Ripetere l'intera seduta utilizzando reagenti nuovi. 2. Se il problema persiste, contattare l'assistenza tecnica Roche.
R21	Il controllo negativo non è valido.	I valori del controllo negativo non sono validi. Per evitare il carryover, seguire le buone pratiche di laboratorio. 1. Ripetere l'intera seduta utilizzando reagenti nuovi. 2. Se il problema persiste, contattare l'assistenza tecnica Roche.
R4805	Errore: il risultato finale non è valido perché almeno una reazione non è valida.	I campioni originale dovrebbe essere analizzato di nuovo se il volume residuo è sufficiente. Se i risultati continuano a non essere validi, è opportuno reperire un nuovo campione.
R4806	Informazioni: è stata rilevata la genotipizzazione HCV ma il genotipo è indeterminato.	È consigliabile utilizzare un metodo alternativo per determinare il genotipo presente nel campione.
X3	Errore: rilevato coagulo. Il campione non è stato analizzato.	Verificare che i campioni siano stati manipolati conformemente alla descrizione del flusso di lavoro. 1. Verificare se il campione contiene coaguli. 2. Eseguire la rerun del campione.
X4	Errore: errore di pipettamento. Il campione non è stato analizzato.	La causa più probabile è che il volume del campione è insufficiente oppure si è verificato un errore meccanico durante il pipettamento. 1. Verificare che il volume del campione sia sufficiente. 2. Verificare che la piastra di espulsione puntali sia nella posizione corretta. 3. Eseguire la rerun del campione.

Nota: per conoscere tutti i flag di sistema, consultare l'Assistenza Utente del cobas® 4800 System.

Limiti della procedura

1. Il test **cobas**® HCV GT è stato valutato soltanto in associazione con il kit di controllo **cobas**® HCV GT, il kit 2 di preparazione dei campioni per **cobas**® 4800 System, il kit 2 di lisi per **cobas**® 4800 System e il kit del tampone di lavaggio per **cobas**® 4800 System.
2. L'affidabilità dei risultati dipende dall'adeguatezza delle procedure di raccolta, trasporto, conservazione e trattamento dei campioni. Rispettare tutte le procedure descritte nel presente documento di istruzioni per l'uso (definito anche foglio illustrativo) e nell'Assistenza Utente del **cobas**® 4800 System.
3. 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.
4. L'identificazione dei genotipi di HCV dipende dalle 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.
5. Anche se rare, le mutazioni nei siti di legame per i primer e le sonde del test **cobas**® HCV GT possono alterare i legami dei primer e/o delle sonde e impedire l'identificazione del genotipo del campione.
6. L'aggiunta dell'enzima AmpErase alla soluzione Master Mix del test **cobas**® HCV GT consente l'amplificazione selettiva dell'acido nucleico target, tuttavia per evitare la contaminazione dei reagenti e delle miscele di amplificazione è necessario attenersi scrupolosamente alle buone pratiche di laboratorio e alle procedure descritte nel presente foglio illustrativo.
7. L'uso di questo prodotto deve essere consentito esclusivamente a personale adeguatamente addestrato nelle tecniche PCR e nell'uso del **cobas**® 4800 System.
8. Soltanto il **cobas x** 480 instrument e il **cobas z** 480 analyzer sono stati approvati per l'uso con questo prodotto. Non è possibile utilizzare altri strumenti per la preparazione dei campioni o altri sistemi PCR con questo prodotto.
9. 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.
10. La contaminazione crociata può essere la causa di risultati falsi positivi. In uno studio non clinico è stato determinato un tasso di contaminazione crociata da campione a campione per il test **cobas**® HCV GT pari allo 0,0%. È stata studiata anche la contaminazione crociata da seduta a seduta.
11. Il test **cobas**® HCV GT non è destinato all'uso come test di screening per la presenza di HCV nel sangue o negli emoderivati, né come test diagnostico per confermare la presenza di un'infezione da HCV.
12. L'identificazione del genotipo 6 con il test **cobas**® HCV GT è limitata ai sottotipi 6a e 6b.

Valutazione delle prestazioni non cliniche

Caratteristiche delle prestazioni

Accuratezza

L'accuratezza del test **cobas**® HCV GT è stata valutata analizzando 379 campioni HCV-positivi e confrontando i risultati con i genotipi identificati mediante sequenziamento degli acidi nucleici (Tabella 4). Lo studio è stato eseguito con due lotti di test **cobas**® HCV GT. In 352 casi su 353, il test **cobas**® HCV GT e il sequenziamento degli acidi nucleici hanno prodotto risultati concordanti relativamente al genotipo, pertanto l'accuratezza complessiva è stata del 99,7%. L'accuratezza del test **cobas**® HCV GT relativamente all'identificazione dei sottotipi 1a e 1b del genotipo 1 è stata valutata analizzando 99 campioni con genotipo 1a e 50 campioni con genotipo 1b (Tabella 5). L'accuratezza complessiva relativamente alla determinazione del sottotipo è stata del 100% (148 su 148).

Tabella 4. Accuratezza per i genotipi 1-6

Genotipo HCV mediante sequenziamento	Numero di test ^a	Risultati genotipi misti	Risultati indeterminati ^b	Risultati inclusi ^c	Risultati cobas ® HCV GT concordanti con sequenziamento	Percentuale identificata correttamente (accuratezza)	IC 95% ^d	
							LI	LS
1 ^e	151	0	2	149	149	100 (149/149)	97,6	100
2	65	3	0	62	62	100 (62/62)	94,2	100
3 ^f	60	1	12	47	46	97,9 (46/47)	88,7	100
4 ^g	57	2	0	55	55	100 (55/55)	93,5	100
5	27	0	3	24	24	100 (24/24)	85,8	100
6 ^h	19	0	3	16	16	100 (16/16)	79,4	100
Generale	379	6	20	353	352	99,7 (352/353)	98,4	100

^a Include tutti i campioni con risultati del test **cobas**® HCV GT validi.

^b Il test **cobas**® HCV GT restituisce un risultato indeterminato se viene rilevato l'HCV ma non viene identificato il genotipo.

^c Numero di test – (Risultati genotipi misti + Risultati indeterminati)

^d Intervallo di confidenza bilaterale al 95%.

^e Include 99 campioni con genotipo 1a, 50 con genotipo 1b e 2 con genotipo 1l (secondo il sequenziamento degli acidi nucleici).

^f Un campione con genotipo 3 ha prodotto un risultato di genotipo 1a con il test **cobas**® HCV GT.

^g Include 43 campioni con genotipo 4a, 9 con genotipo 4 e sottotipo diverso da "a" e 5 con genotipo 4 e sottotipo non identificato.

^h Include 18 campioni con genotipo 6a e uno con genotipo 6b.

Tabella 5. Accuratezza per i sottotipi 1a e 1b del genotipo 1

Genotipo HCV mediante sequenziamento	Numero di test ^a	Risultati sottotipi misti	Risultati indeterminati e genotipo 1 ^b	Risultati inclusi ^c	Risultati cobas® HCV GT concordanti con sequenziamento	Percentuale identificata correttamente (accuratezza)	IC 95% ^d	
							LI	LS
1a	99	0	0	99	99	100 (99/99)	96,3	100
1b ^e	50	0	1	49	49	100 (49/49)	92,8	100
Generale	149	0	1	148	148	100 (148/148)	97,5	100

^a Include tutti i campioni di genotipo 1a e 1b con risultati del test **cobas®** HCV GT validi.

^b Il test **cobas®** HCV GT restituisce un risultato indeterminato se viene rilevato l'HCV ma non viene identificato il genotipo. Per determinare l'accuratezza relativamente al sottotipo, un risultato di "gt 1" senza identificazione del genotipo 1a o del genotipo 1b è stato considerato indeterminato.

^c Numero di test – (Risultati genotipi misti + Risultati indeterminati)

^d Intervallo di confidenza bilaterale al 95%.

^e Un campione con genotipo 1b ha prodotto un risultato "gt 1" con il test **cobas®** HCV GT, senza identificazione del genotipo 1a o 1b.

Limite di sensibilità (LoD)

Il limite di sensibilità (limit of detection, LOD) del test **cobas®** HCV GT è stato determinato analizzando diluizioni di campioni HCV-positivi preparati in siero o in plasma EDTA HCV-negativo (Tabella 6). Per ogni genotipo, un unico campione HCV-positivo è stato diluito in siero o plasma EDTA HCV-negativo a concentrazioni di 1000, 500, 250, 125, 50 e 25 Unità Internazionali/ml (per il genotipo 5, le concentrazioni erano 1000, 750, 500, 250, 125 e 50 UI/ml). Sono stati analizzati pannelli contenenti sei concentrazioni di ciascun genotipo e plasma o siero HCV-negativo in più sedute, giorni, da più operatori e strumenti e utilizzando tre lotti diversi del test **cobas®** HCV GT, con 20-24 misurazioni per lotto di reagenti, per un totale di 60-72 misurazioni per campione. Le concentrazioni più basse ad aver generato il risultato del genotipo corretto nel $\geq 95\%$ dei test sono illustrate nella Tabella 6.

Tabella 6. Limite di sensibilità* (UI/ml) del test **cobas®** HCV GT

Tipo di campione	Genotipo HCV						
	1a	1b	2	3	4	5	6
Plasma	125	250	125	125	125	1000	125
Siero	125	125	50	125	125	500	125

* Concentrazioni più basse analizzate con risultati corretti relativamente al genotipo in almeno il 95% dei test

Ripetibilità

La ripetibilità del test **cobas® HCV GT** è stata determinata analizzando alla cieca un pannello di 15 componenti randomizzati, con 2 repliche per seduta, 2 sedute al giorno, 5 giorni per lotto di reagenti e 3 lotti di reagenti, utilizzando uno strumento e un operatore, per un totale di 60 test per campione (Tabella 7). Il pannello era composto da due diluizioni di un campione clinico per ciascun genotipo, preparato in siero o plasma EDTA umano HCV-negativo, e da un campione di siero o plasma umano HCV-negativo. Ogni genotipo è stato incluso nel pannello a due concentrazioni: bassa (500-1.000 UI/ml) e media (10.000-20.000 UI/ml) o alta (≥ 100.000 UI/ml). Il tasso complessivo di risultati corretti per il test **cobas® HCV GT** è stato del 99,8% (890 su 892).

Tabella 7. Ripetibilità del test cobas® HCV GT

Genotipo	Concentrazione (UI/ml)	Tipo di campione	Numero totale di risultati ^a	Numero di risultati corretti	Percentuale di risultati corretti ^b
1a	910	Siero	60	60 ^c	100 (60/60)
1a	330.000	Plasma	60	60	100 (60/60)
1b	970	Siero	58	58	100 (58/58)
1b	350.000	Plasma	59	59	100 (59/59)
2	780	Siero	59	59	100 (59/59)
2	13.000	Plasma	60	60	100 (60/60)
3	570	Plasma	60	60	100 (60/60)
3	96.000	Siero	60	60	100 (60/60)
4	940	Siero	59	59	100 (59/59)
4	180.000	Plasma	59	59	100 (59/59)
5	1.000	Siero	59	57 ^d	96,6 (57/59)
5	16.000	Plasma	60	60	100 (60/60)
6	800	Plasma	60	60	100 (60/60)
6	17.000	Siero	59	59	100 (59/59)
HCV negativo	0	Plasma	30	30	100 (30/30)
HCV negativo	0	Siero	30	30	100 (30/30)
Generale			892	890	99,8 (890/892)

^a 8 test su 900 in totale non hanno prodotto risultati a causa di errori (coaguli).

^b Percentuale di risultati corretti = Numero di risultati corretti / Numero totale di risultati.

^c 58 test su 60 in totale hanno prodotto un risultato 1; 1a mentre 2 test hanno prodotto un risultato 1a.

^d Un test ha prodotto un risultato indeterminato e un test ha prodotto un risultato 1; 5.

Infezioni con genotipi misti

L'identificazione delle infezioni con genotipi misti è stata valutata analizzando tutte le possibili combinazioni di due genotipi per 1a, 1b e 2-6, a tre rapporti di concentrazione diversi: 1:1 (1000:1000 UI/ml), 1:1 (1E+06:1E+06 UI/ml), 10:1 (1E+04:1E+03 UI/ml) e 100:1 (1E+05:1E+03 UI/ml). Ogni campione è stato analizzato in triplice copia. Il test **cobas**® HCV GT ha identificato entrambi i genotipi nel 100% dei test (63 su 63) con le miscele 1:1 a 1E+06 UI/ml e nel 95,2% dei test (60 su 63) con le miscele 1:1 a 1000 UI/ml (Tabella 8). Il test **cobas**® HCV GT ha identificato il genotipo minoritario nell'85,7% dei test (108 su 126) con le miscele 10:1 e nel 63,5% dei test (80 su 126) con le miscele 100:1. Il test **cobas**® HCV GT ha identificato il genotipo maggioritario nel 100% dei test (252 su 252) con le miscele 10:1 e 100:1.

Tabella 8. Identificazione di infezioni con genotipi misti

Concentrazioni ^a (UI/ml)	Rapporto di concentrazione	Numero di combinazioni analizzate	Test totali	Identificazione di entrambi i genotipi ^b
1 x 10 ⁶ : 1 x 10 ⁶	1:1	21	63	100% (63/63)
1 x 10 ³ : 1 x 10 ³	1:1	21	63	95,2% (60/63) ^c
1 x 10 ⁴ : 1 x 10 ³	10:1	42	126	85,7% (108/126) ^d
1 x 10 ⁵ : 1 x 10 ³	100:1	42	126	63,5% (80/126) ^e

^a Le miscele 1:1 con una concentrazione elevata contenenti il genotipo 5 sono state analizzate a 1 x 10⁵ UI/ml.

^b Nelle miscele di concentrazioni impari (10:1 e 100:1), il genotipo maggioritario è stato identificato nel 100% dei test (252 su 252).

^c Nelle miscele 1:1 a 1 x 10³ UI/ml, il genotipo 3 è stato identificato nell'83% dei test (15 su 18). Tutti gli altri genotipi sono stati identificati nel 100% dei test.

^d Nelle miscele 10:1, il genotipo 3 è stato identificato in 0 test su 18 quando era il genotipo minoritario. Tutti gli altri genotipi sono stati identificati nel 100% dei test quando erano il genotipo minoritario.

^e Nelle miscele 100:1, i genotipi 1b, 2, 3 e 6 sono stati identificati rispettivamente con le seguenti percentuali quando erano il genotipo minoritario: 83% (15 su 18), 44% (8 su 18), 0% (0 su 18) e 17% (3 su 18). I genotipi 1a, 4 e 5 sono stati identificati nel 100% dei test quando erano il genotipo minoritario.

Specificità

La specificità del test **cobas**® HCV GT è stata determinata analizzando 52 campioni di plasma EDTA e 52 campioni di siero ottenuti da 104 donatori individuali normali, HCV-negativi, utilizzando due lotti del test **cobas**® HCV GT. Il test **cobas**® HCV GT è destinato all'uso su campioni di soggetti con infezione cronica da HCV. Il test rileva l'HCV, indipendentemente dal genotipo, come un controllo interno. Quando l'HCV non viene rilevato, il test **cobas**® HCV GT restituisce il risultato "Invalid". Tutti i 104 test dello studio sulla specificità hanno prodotto il risultato "Invalid" (il risultato atteso per i campioni HCV-negativi).

Specificità analitica

La specificità analitica del test **cobas**® HCV GT è stata valutata diluendo un pannello di 27 patogeni (Tabella 9) con plasma EDTA HCV-negativo e quindi analizzando questi campioni sia senza, sia con l'aggiunta del genotipo 1a dell'HCV ad una concentrazione di circa 1500 UI/ml. Il genotipo 1a dell'HCV è stato identificato in tutti i campioni contenenti HCV e i patogeni. Ciò dimostra che i patogeni non costituiscono un'interferenza. Con il test **cobas**® HCV GT son stati ottenuti risultati "Invalid" (il risultato atteso per i campioni HCV-negativi) per tutti i campioni con patogeni senza HCV. Ciò dimostra che i patogeni non producono una reazione crociata con il test **cobas**® HCV GT. Il test **cobas**® HCV GT rileva l'HCV, indipendentemente dal genotipo, come un controllo interno. Quando l'HCV non viene rilevato, il test **cobas**® HCV GT restituisce il risultato "Invalid".

Tabella 9. Patogeni analizzati per verificarne la reattività crociata

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

Specificità analitica e sostanze interferenti

Alcuni campioni di plasma con livelli elevati di trigliceridi (27,9-30,0 g/l), bilirubina coniugata (0,18-0,22 g/l), bilirubina non coniugata (0,19-0,2 g/l), albumina (57,8-60,6 g/l), emoglobina (1,8-2,3 g/l) e DNA umano (2 mg/l) sono stati analizzati con il test **cobas®** HCV GT sia senza che con l'aggiunta del genotipo 1a dell'HCV ad una concentrazione di circa 1500 UI/ml. Il genotipo 1a dell'HCV è stato identificato in tutti i campioni contenenti HCV, mentre sono stati ottenuti risultati "Invalid" (il risultato atteso per i campioni HCV-negativi) per tutti i campioni che non contenevano HCV. Ciò dimostra che le sostanze prese in esame non interferiscono con le prestazioni del test **cobas®** HCV GT. Alcuni campioni di plasma da donatori HCV-negativi con marcatori per patologie autoimmuni quali il lupus eritematoso sistemico (LES), l'artrite reumatoide (AR) e gli anticorpi antinucleo (ANA) sono stati analizzati con il test **cobas®** HCV GT sia senza che con l'aggiunta del genotipo 1a dell'HCV ad una concentrazione di circa 1500 UI/ml. Non sono stati osservati effetti sulle prestazioni del test **cobas®** HCV GT.

Alcuni campioni di plasma contenenti le sostanze elencate nella Tabella 10, a concentrazioni tre volte superiori al valore C_{max}, sono stati analizzati con il test **cobas®** HCV GT sia senza che con l'aggiunta del genotipo 1a dell'HCV ad una concentrazione di circa 1500 UI/ml. Il genotipo 1a dell'HCV è stato rilevato in tutti i campioni contenenti HCV, mentre sono stati ottenuti risultati "Invalid" (il risultato atteso per i campioni HCV-negativi) per tutti i campioni che non contenevano HCV. Ciò dimostra che le sostanze farmacologiche prese in esame non interferiscono con le prestazioni del test **cobas®** HCV GT.

Tabella 10. Sostanze farmacologiche analizzate per verificarne l'interferenza con l'identificazione del genotipo da parte del test cobas® HCV GT

Categoria farmacologica	Nome generico del farmaco	
Immunomodulatori	Peginterferone α -2a	Ribavirina
	Peginterferone α -2b	
Inibitori d'ingresso dell'HIV	Maraviroc	
Inibitori 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	Nelfinavir
	Darunavir	Ritonavir
	Fosamprenavir	Saquinavir
	Lopinavir	Tipranavir
Proteasi dell'HCV	Boceprevir	Simeprevir
Inibitori della trascrittasi inversa o della DNA polimerasi	Abacavir	Ganciclovir
	Aciclovir	Lamivudina
	Adefovir dipivoxil	Sofosbuvir
	Cidofovir	Telbivudina
	Emtricitabina	Tenofovir
	Entecavir	Valganciclovir
	Foscarnet	Zidovudina
Composti per il trattamento delle infezioni opportunistiche	Azitromicina	Pirazinamide
	Claritromicina	Rifabutina
	Etambutolo	Rifampicina
	Fluconazolo	Sulfametossazolo
	Isoniazide	Trimetoprima

Correlazione tra i metodi

Valutazione delle prestazioni del test cobas® HCV GT rispetto ad un prodotto di diagnostica *in vitro* con marchio CE

È stato eseguito un confronto tra le prestazioni del test cobas® HCV GT e le prestazioni di un prodotto di diagnostica *in vitro* per la determinazione del genotipo dell'HCV con marchio CE, relativamente all'identificazione dei genotipi 1-6 dell'HCV, eseguendo 379 test su campioni HCV-positivi con entrambi i metodi (Tabella 11). Per 334 campioni (sui 379 esaminati in totale nello studio) entrambi i metodi hanno prodotto risultati validi con espressione di un solo genotipo. Due campioni non hanno prodotto risultati con il test comparativo a causa di errori del sistema, mentre 43 campioni hanno prodotto risultati indeterminati o risultati con genotipi misti con uno o entrambi i metodi. La concordanza percentuale tra il test cobas® HCV GT e il test comparativo per l'identificazione dei genotipi dell'HCV 1-6 è stata del 99,7% (333 su 334). La concordanza tra il test comparativo e il test cobas® HCV GT relativamente all'identificazione dei sottotipi 1a e 1b del genotipo 1 è stata determinata applicando il sequenziamento degli acidi nucleici ai risultati di 99 campioni con genotipo 1a e di 50 campioni con genotipo 1b. Per 142 campioni (sui 149 esaminati in totale) entrambi i metodi hanno prodotto risultati validi relativamente all'identificazione del sottotipo. Un campione con genotipo 1a e 4 campioni con genotipo 1b (come confermato dal sequenziamento degli acidi nucleici) hanno generato risultati di genotipo 1 con il test comparativo, senza identificazione del sottotipo 1a o 1b. Un campione con genotipo 1b (come confermato dal sequenziamento degli acidi nucleici) ha prodotto un risultato indeterminato con il test comparativo, mentre un campione con genotipo 1b ha prodotto un risultato di genotipo 1 con il test cobas® HCV GT. La concordanza percentuale tra il test cobas® HCV GT e il test comparativo relativamente all'identificazione dei sottotipi 1a e 1b dell'HCV è stata del 100,0% (142 su 142).

Tabella 11. Confronto tra il test cobas® HCV GT e un dispositivo IVD con marchio CE per l'identificazione dei genotipi 1-6 dell'HCV

Risultato genotipo con test comparativo	Numero di risultati ^a	Risultati cobas® HCV GT concordanti con test comparativo	Concordanza percentuale	IC 95% ^b	
				LI	LS
1	150 ^c	149 ^c	99,3 (149/150)	96,3	100
2	52	52	100,0 (52/52)	93,2	100
3	44	44	100,0 (44/44)	92,0	100
4	50	50	100,0 (50/50)	92,9	100
5	24	24	100,0 (24/24)	85,8	100
6	14	14	100,0 (14/14)	76,8	100
Generale	334	333	99,7 (333/334)	98,3	100

^a Include tutti i campioni con risultati validi ed espressione di un solo genotipo, in base sia al test comparativo che al test cobas® HCV GT. Sono stati esclusi i campioni con errori, risultati indeterminati o con genotipi misti ottenuti con uno dei due metodi o con entrambi.

^b Intervallo di confidenza bilaterale al 95%.

^c Un campione con genotipo 1 in base al test comparativo è risultato di genotipo 6 in base sia al test cobas® HCV GT, sia al sequenziamento degli acidi nucleici. Un campione con genotipo 1 in base sia al test comparativo, sia al test cobas® HCV GT, è risultato di genotipo 3 in base al sequenziamento degli acidi nucleici.

Tabella 12. Confronto tra il test cobas® HCV GT e un dispositivo IVD con marchio CE per l'identificazione dei sottotipi 1a e 1b del genotipo 1

Risultato genotipo con test comparativo	Numero di risultati ^a	Risultati cobas® HCV GT concordanti con test comparativo	Concordanza percentuale	IC 95% ^b	
				LI	LS
1a	98	98	100,0 (98/98)	96,3	100
1b	44	44	100,0 (44/44)	92,0	100
Generale	142	142	100,0 (142/142)	97,5	100

^a Include tutti i campioni con genotipo 1a e 1b in base al sequenziamento degli acidi nucleici e con risultati validi sia per il test comparativo, sia per il test **cobas®** HCV GT. Sono stati esclusi i campioni con errori, risultati indeterminati o con genotipi misti ottenuti con uno dei due metodi o con entrambi.

^b Intervallo di confidenza bilaterale al 95%.

Tasso globale d'errore del sistema

Il tasso globale d'errore del sistema, che causa risultati falsi negativi per il test **cobas®** HCV GT, è stato determinato analizzando in totale 200 repliche di campioni di plasma EDTA e siero con l'aggiunta del genotipo 1a dell'HCV ad una concentrazione di 375 UI/ml, circa 3 volte superiore al limite di sensibilità per il genotipo 1a. Il test **cobas®** HCV GT ha identificato correttamente il genotipo 1a in tutti i 200 campioni, producendo un tasso globale d'errore del sistema dello 0,0% (limite di confidenza monolaterale superiore al 95%: 1,49%).

Contaminazione crociata

Il tasso di contaminazione crociata per il test **cobas®** HCV GT è stato determinato eseguendo otto batch del test **cobas®** HCV GT, ciascuno con 15 repliche di campioni di plasma EDTA contenenti l'Armored RNA del controllo positivo HCV GT ad una concentrazione equivalente a 1,0E+08 UI/ml e 15 repliche di campioni di plasma EDTA HCV-negativi. I campioni sono stati caricati sugli appositi rack nelle posizioni previste, in modo da creare una scacchiera sulla piastra di estrazione sul **cobas x** 480 instrument. Tutte le 120 repliche dei campioni di plasma EDTA HCV-negativi hanno generato il risultato "Invalid" (il risultato atteso per i campioni HCV-negativi), determinando un tasso di contaminazione crociata dello 0,0% (limite di confidenza monolaterale superiore al 95%: 2,47%).

Informazioni supplementari

Caratteristiche specifiche del test

Tipo di campione	Plasma EDTA, siero
Volume di analisi del campione	400 µl
Genotipi e sottotipi identificati	Genotipi 1-6 dell'HCV e sottotipi "a" e "b" del genotipo 1.
Accuratezza	Per l'identificazione dei genotipi 1-6 dell'HCV: 99,7% Per l'identificazione dei sottotipi 1a e 1b del genotipo 1 dell'HCV: 100%
Sensibilità analitica	Siero: 50-125 UI/ml (genotipi 1a, 1b, 2, 3, 4 e 6), 500 UI/ml (genotipo 5) Plasma: 125-250 UI/ml (genotipi 1a, 1b, 2, 3, 4 e 6), 1000 UI/ml (genotipo 5)

Simboli

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

Tabella 13. Simboli utilizzati sulle etichette dei prodotti diagnostici PCR di Roche



Software ausiliario



Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*



Mandatario nella
Comunità Europea



Limite inferiore dell'intervallo assegnato



Foglio di dati del barcode



Fabbricante



Codice del batch



Conservare al buio



Rischio biologico



Contenuto sufficiente per <n> test



Numero di catalogo



Limiti di temperatura



Consultare le istruzioni per l'uso



File di definizione del test



Contenuto del kit



Limite superiore dell'intervallo assegnato



Distribuito da



Utilizzare entro la data



Solo per valutazione delle prestazioni
IVD



Global Trade Item Number

Rx Only

Solo USA: la legge federale degli
Stati Uniti limita la vendita di questo
dispositivo a personale medico
abilitato o provvisto di prescrizione
medica.



Data di produzione



Questo prodotto è conforme ai requisiti della Direttiva Europea 98/79/CE
relativa ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*.

Assistenza Tecnica ai clienti USA 1-800-526-1247

Produttore e distributori

Tabella 14. Produttore e distributori

Fabbricato negli USA



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



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

COBAS, COBAS X, COBAS Z, AMPERASE, AMPLIPREP e TAQMAN sono marchi di Roche.

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

ARMORED RNA è una tecnologia brevettata, sviluppata da Ambion, Inc. e Cenetron Diagnostics LLC e protetta dai brevetti USA n. 5,677,124, 5,919,625 e 5,939,262 e dai brevetti internazionali corrispondenti. ARMORED RNA è un marchio di Ambion e Cenetron.

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

©2020 Roche Molecular Systems, Inc.



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(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. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, Balan V, Diago M, Marcellin P, et al.; PEGASYS International Study Group. 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.
6. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014;60:392-420.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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

Revisione del documento	
Doc Rev. 6.0 03/2020	Aggiornamento della pagina dei simboli armonizzati, degli indirizzi dei distributori e della sezione su marchi e brevetti. Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.
Doc Rev. 7.0 05/2020	Corretto il simbolo FPE invertito nella pagina dei simboli nella Tabella 13. Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.