

cobas[®] HCV

**Ilościowy test kwasu nukleinowego
do użytku z systemem cobas[®] 4800**

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

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

SPIS TREŚCI

Zastosowanie

Podsumowanie oraz opis testu

Informacje podstawowe	4
Uzasadnienie badań na obecność HCV	5
Objaśnienie testu	5
Zasady procedury	5

Materiały i odczynniki

Odczynniki.....	7
Wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania odczynników.....	13
Wymagane materiały dodatkowe.....	13
Urządzenia i oprogramowanie wymagane, lecz niedostarczane.....	14
Obsługiwane próbki na próbki	14

Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania

Ostrzeżenia i środki ostrożności	15
Dobra praktyka laboratoryjna	16
Użytkowanie odczynników	16
Zanieczyszczenie.....	16
Integralność.....	17
Utylizacja.....	17
Rozlanie płynów i czyszczenie.....	17
Pobieranie, transport i przechowywanie próbek	18
Pobieranie próbek.....	18
Transport, przechowywanie i stabilność próbek	18

Instrukcja użytkowania

Wykonywanie oznaczenia.....	19
Objętość przetwarzania próbki	19
Wielkość przebiegu	19
Przebieg pracy	20

Wyniki

Kontrola jakości i ważność wyników	23
Interpretacja wyników kontroli.....	23
Interpretacja wyników.....	24
Lista flag wyników	25
Ograniczenia metody	26

Ocena skuteczności w badaniach nieklinicznych

Najważniejsze parametry działania testu	27
Międzynarodowy standard WHO	27
Zakres liniowości	29
Dokładność wewnątrz laboratorium	31
Weryfikacja genotypu	33
Swoistość	34
Korelacja metody	37
Równoważność matrycy — osocze pobrane na EDTA i surowice	37
Błąd całego systemu	38
Zanieczyszczenie pomiędzy próbkami	38

Dodatkowe informacje

Najważniejsze cechy testu	39
Oznaczenia	40
Wytwórca	41
Znaki towarowe i patenty	41
Prawo autorskie	41
Piśmiennictwo	42
Wersja dokumentu	44

Zastosowanie

Test **cobas®** HCV jest testem amplifikacji kwasów nukleinowych w warunkach *in vitro*, służącym zarówno do wykrywania, jak i do oceny ilościowej RNA wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV) w osoczu ludzkim pobranym na EDTA lub surowicy osób zakażonych HCV. Do wykrywania i oceny ilościowej zostały zatwierdzone próbki zawierające HCV o genotypach od 1 do 6.

Test jest przeznaczony do stosowania jako pomoc w diagnostyce zakażeń HCV u następujących pacjentów: u osób z przeciwciałami przeciwko HCV z objawami choroby wątroby, u osób z podejrzeniem czynnego zakażenia z przeciwciałami przeciwko HCV oraz u osób narażonych na zakażenia wirusem HCV z przeciwciałami przeciwko HCV. Wykrycie RNA wirusa HCV wskazuje na replikację wirusa i z tego powodu jest dowodem czynnego zakażenia.

Test ten jest przeznaczony do użycia jako pomoc w opiece nad chorymi z zakażeniem wirusem HCV, poddawani terapii przeciwwirusowej. Oznaczenie mierzy poziomy RNA wirusa HCV na początku oraz podczas leczenia, a także może być wykorzystane do przewidywania trwałej i przejściowej odpowiedzi na leczenie zakażenia wirusem HCV. Wyniki muszą być interpretowane w oparciu o wszystkie istotne dane kliniczne i laboratoryjne.

Podsumowanie oraz opis testu

Informacje podstawowe

Wirus HCV jest uważany za główny czynnik etiologiczny odpowiedzialny za od 90% do 95% przypadków poprzetoczeniowego zapalenia wątroby.^{1–4} HCV jest wirusem zawierającym jednoniciowy, sensowny RNA z genomem o długości około 9500 nukleotydów, kodującym 3000 aminokwasów. Jako wirus występujący we krwi, HCV może być przenoszony przez krew i produkty krwiopochodne. Powszechne stosowanie badań przesiewowych krwi w kierunku obecności wirusa HCV doprowadziło do znacznego obniżenia ryzyka zapalenia wątroby związanego z transfuzjami. Największa częstość zakażeń wirusem HCV występuje w związku z używaniem narkotyków dożylnych oraz, w mniejszym stopniu, z innymi rodzajami przezskórnej ekspozycji.⁴

Ocena ilościowa RNA HCV w celu pomiaru wyjściowej wirerii oraz monitorowania leczenia jest uznaną metodą, wykazującą skuteczność odpowiedzi przeciwwirusowej na leczenie peginterferonem i rybawiryną (pegIFN/RBV).^{5–9} Wytyczne dotyczące postępowania i leczenia w przypadku zakażenia wirusem HCV^{10,11} zalecają przeprowadzanie testów ilościowych na obecność RNA HCV przed rozpoczęciem terapii antywirusowej, w określonych momentach terapii (leczenia uzależnionego od odpowiedzi, RGT) oraz po 12 lub więcej tygodniach od zakończenia leczenia.

Celem leczenia jest stwierdzenie braku wykrywalnych poziomów RNA HCV z użyciem czułego testu 12 tygodni po zakończeniu leczenia, co wskazuje osiągnięcie trwałej odpowiedzi wirusologicznej (SVR).¹⁰

Określanie kinetyki wirerii podczas leczenia wykorzystuje się do dalszej personalizacji czasu trwania leczenia z użyciem od niedawna zatwierdzonych substancji działających bezpośrednio przeciwwirusowo (DAA), inhibitorów proteazy telaprewiru i boceprewiru.^{12–15}

Uzasadnienie badań na obecność HCV

Obecność przeciwciał przeciwko HCV wskazuje, że dana osoba została zakażona wirusem HCV. Jednak dodatni wynik badania na obecność przeciwciał anti-HCV nie różnicuje pomiędzy ostrym, przewlekłym i przebytym zakażeniem. Wykrycie RNA HCV w surowicy lub osoczu wskazuje na trwającą replikację wirusa i dlatego stosowane jest do identyfikacji pacjentów z długotrwałym zakażeniem HCV.

W erze rozszerzającej się dostępności bardzo wydajnych DAA przeznaczonych dla HCV, włącznie z drugą generacją inhibitorów proteazy, inhibitorami polimerazy i inhibitorami NS5A oraz bardzo dynamicznych i szeroko zakrojonych badań nad leczeniem zakażenia HCV, monitorowanie wirerii pozostaje głównym badaniem laboratoryjnym potwierdzającym uzyskanie SVR w terapiach DAA.^{16–21}

Podsumowując, **cobas® HCV** to ilościowy test wykrywający RNA wirusa HCV, służący rozpoznawaniu aktywnego zakażenia oraz określaniu kinetyki wirerii, stosowany w laboratoriach wspierających badania kliniczne oraz w rutynowej praktyce klinicznej podczas opieki nad pacjentami z zakażeniem HCV.

Objaśnienie testu

Test **cobas® HCV** to ilościowy test kwasu nukleinowego wykonywany z użyciem systemu **cobas® 4800**. Test **cobas® HCV** umożliwia wykrywanie i określanie ilości RNA wirusa HCV w osoczu pobranym na EDTA lub surowicy zakażonych pacjentów. Wykorzystuje podwójne sondy do wykrywania i określania ilości, ale nie rozróżniania genotypów wirusa HCV 1–6. Liczba kopii wirusa jest określana ilościowo według standardu ilościowego Armored RNA innego niż HCV (RNA QS), który jest wprowadzany do każdej próbki podczas jej przygotowania. RNA QS spełnia również funkcję kontroli wewnętrznej, monitorującej cały proces przygotowania próbki oraz amplifikacji PCR. Dodatkowo test wykorzystuje trzy kontrole zewnętrzne: o wysokim mianie dodatnim, o niskim mianie dodatnim i kontrolę ujemną.

Zasady procedury

Test **cobas® HCV** opiera się na całkowicie zautomatyzowanym przygotowaniu próbek (ekstrakcji i oczyszczaniu kwasów nukleinowych), po którym przeprowadzana jest amplifikacja i detekcja podczas reakcji PCR. System **cobas® 4800** składa się z aparatu **cobas® x 480** oraz analizatora **cobas® z 480**. Automatyczne przetwarzanie danych jest prowadzone przez oprogramowanie **cobas® 4800**, które przypisuje wynik testu dla wszystkich badań jako nie wykryto materiału docelowego, < dolnej granicy oznaczalności, > górnej granicy oznaczalności lub wykryto RNA HCV, wartość w liniowym zakresie oznaczalności (dolna granica oznaczalności $\leq x \leq$ górna granica oznaczalności). Wyniki można analizować bezpośrednio na ekranie systemu, można je eksportować lub wydrukować w postaci raportu.

Kwasy nukleinowe z próbek pacjentów, kontrole zewnętrzne i dodane cząsteczki Armored RNA QS są izolowane równocześnie. Podsumowując, kwasy nukleinowe wirusów są uwalniane przez dodanie do próbki proteiny i odczynnika do lizy. Uwolnione kwasy nukleinowe łączą się z silikonową powierzchnią dodanych szklanych cząstek magnetycznych. Niezwiązane substancje i zanieczyszczenia, takie jak zdenaturowane białka, pozostałości komórek i potencjalne inhibitory reakcji PCR są usuwane na kolejnych etapach z użyciem buforu płuczającego, a oczyszczone kwasy nukleinowe są następnie wymywane w podwyższonej temperaturze ze szklanych cząstek magnetycznych z użyciem buforu do elucji.

Wybiórcza amplifikacja docelowego kwasu nukleinowego z próbki pacjenta jest osiągana przez zastosowanie docelowych swoistych dla wirusa starterów, sensownego (ang. forward) i antysensownego (ang. reverse), które są projektowane w obrębie wysoce konserwatywnych obszarów HCV. Selektywna amplifikacja RNA QS uzyskiwana jest przez użycie specyficznych dla sekwencji starterów sensownego i antysensownego, które wybierane są tak, aby nie były homologiczne z genomem HCV. Do odwrotnej transkrypcji oraz amplifikacji w procesie PCR wykorzystywana jest termostabilna polimeraza DNA. Odczynniki Master Mix zamiast

trifosforanu deoksytymidyny (dTTP) zawierają trifosforan deoksyurydyny (dUTP), który jest wbudowywany do nowo syntetyzowanego DNA (amplikonu)^{22–24} Wszelkie zanieczyszczające amplikony z poprzednich reakcji PCR są inaktywowane jako matryce PCR przez enzym AmpErase, który występuje w mieszaninach Master Mix, przed pierwszym etapem denaturacji reakcji PCR. Enzym AmpErase katalizuje usuwanie uracylu z DNA, ale nie wykazuje działania na RNA lub naturalnie występujący DNA, które nie zawiera uracylu. Amplikony powstające podczas kolejnych cykli PCR nie ulegają inaktywacji, ponieważ enzym AmpErase jest nieaktywny w temperaturach używanych podczas hybrydyzacji i denaturacji termicznej w procesie PCR.

Odczynnik Master Mix **cobas®** HCV zawiera dwie sondy specyficzne dla badanych sekwencji HCV i jedną sondę dla RNA QS. Sondy są oznaczone za pomocą swoistych dla sekwencji docelowych fluorescencyjnych barwników reporterowych, pozwalających na równoczesne wykrywanie badanego HCV i RNA QS w dwóch różnych kanałach detekcji.^{25,26} W przypadku niezwiązania z sekwencją docelową sygnały fluorescencyjne nienaruszonych sond są tłumione przez barwnik wygaszający. Podczas amplifikacji PCR hybrydyzacja sond do swoistych sekwencji jednoniciowej matrycy DNA skutkuje cięciem sondy przez polimerazę DNA w wyniku jej aktywności nukleazy w kierunku od końca 5' do 3', co powoduje rozdzielenie barwników reporterowych i wygaszającego oraz wygenerowanie sygnału fluorescencyjnego. Z każdym cyklem PCR generowana jest zwiększająca się liczba rozszczepionych sond i jednocześnie wzrasta sumaryczny sygnał barwnika reporterowego. Wykrycie w czasie rzeczywistym i rozróżnienie produktów PCR ma miejsce poprzez pomiar fluorescencji uwolnionych barwników reporterowych reprezentujących docelowe wirusy i RNA QS.

Materiały i odczynniki

Odczynniki

Wszystkie nieotwarte odczynniki i kontrole powinny być przechowywane zgodnie z zaleceniami zawartymi w tabeli Wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania odczynników.

Zestaw	Elementy i składniki odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie ^a
cobas® HCV 120 testów (P/N: 06979602190)	MMX R1 (cobas® Master Mix Reagent 1 — Odczynnik 1 cobas® Master Mix) Octan magnezu, wodorotlenek potasu, < 0,1% azydku sodu	10 × 1,75 ml	Nie dotyczy
	HCV MMX R2 (cobas® HCV Mix Reagent 2 — Odczynnik 2 cobas® HCV Master Mix) Bufor trycynowy, octan potasu, 18% dimetylosulfotlenku, glicerol, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% starterów HCV, < 0,01% starterów sensownego i antysensownego dla standardu ilościowego, < 0,01% znakowanych barwnikami fluorescencyjnymi sond oligonukleotydowych, swoistych dla HCV i standardu ilościowego, < 0,01% aptameru oligonukleotydowego, < 0,01% polimerazy DNA Z05D (bakteryjnej), < 0,01% enzymu AmpErase (uracylo-N-glikozylazy) (bakteryjnej), < 0,1% azydku sodu	10 × 0,5 ml	Nie dotyczy
	RNA QS (cobas® RNA Quantitation Standard — Standard ilościowy cobas® RNA) Bufor trycynowy, < 0,05% EDTA, < 0,001% konstruktu Armored RNA innego niż HCV zawierającego regiony sekwencji specyficzne dla starterów i sond (niezakaźny RNA bakteriofaga MS2), < 0,1% azydku sodu	10 × 1,75 ml	Nie dotyczy

Zestaw	Elementy i składniki odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie ^a
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit (Zestaw kontrolny cobas® HBV/HCV/HIV-1) 10 zestawów (P/N: 06979572190)	HBV/HCV/HIV-1 L(+)^c (cobas® HBV/HCV/HIV-1 Low Positive Control — Kontrola nisko dodatnia cobas® HBV/HCV/HIV-1) < 0,001% syntetycznego RNA (Armored) wirusa HIV-1 grupy M opłasnzonego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, < 0,001% syntetycznego (plazmidowego) DNA wirusa HBV opłasnzonego białkiem kapsydowym bakteriofaga Lambda, < 0,001% syntetycznego (Armored) RNA wirusa HCV opłasnzonego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, prawidłowe osocze ludzkie niewykazujące reaktywności w licencjonowanych testach na obecność przeciwciał przeciwko wirusowi HIV 1/2, wirusowi HCV, antygenowi HBsAg ani przeciwciał przeciwko antygenowi HBc; RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV niewykrywalne metodami PCR. 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300 ^b	10 × 0,75 ml	  OSTRZEŻENIE H317 Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261 Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P272 Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wносить poza miejsce pracy. P280 Stosować rękawice ochronne. P333 + P313 W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364 Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501 Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 mieszanina: 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolin-3-onu [WE nr 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazol-3-onu [WE nr 220-239-6] (3:1)
	HBV/HCV/HIV-1 H(+)^c (cobas® HBV/HCV/HIV-1 High Positive Control — Kontrola wysoko dodatnia cobas® HBV/HCV/HIV-1) < 0,001% syntetycznego RNA (Armored) wirusa HIV-1 grupy M opłasnzonego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, < 0,001% syntetycznego (plazmidowego) DNA wirusa HBV opłasnzonego białkiem kapsydowym bakteriofaga Lambda, < 0,001% syntetycznego (Armored) RNA wirusa HCV opłasnzonego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, prawidłowe osocze ludzkie niewykazujące reaktywności w licencjonowanych testach na obecność przeciwciał przeciwko wirusowi HIV 1/2, wirusowi HCV, antygenowi HBsAg ani przeciwciał przeciwko antygenowi HBc; RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV niewykrywalne metodami PCR. 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300 ^b	10 × 0,75 ml	
	(-) C (cobas® Negative Control — Ujemna kontrola cobas®) Prawidłowe osocze ludzkie niereaktywne w licencjonowanych testach na obecność przeciwciał przeciwko HIV 1/2, przeciwciał przeciwko HCV, antygenowi HBsAg, przeciwciał przeciwko antygenowi HBc; RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV niewykrywalne przy użyciu metod PCR. < 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300 ^b	10 × 0,75 ml	

^a Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

^b Substancja niebezpieczna.

Zestaw	Elementy i składniki odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie ^a
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 (Zestaw do przygotowania próbki 2 do systemu cobas® 4800) 240 testów (P/N: 06979513190)	MGP 2 (cobas® 4800 MGP Reagent 2 — Odczynnik 2 cobas® 4800 MGP) Szklane cząstki magnetyczne, bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesanu, < 0,1% azydru sodu	10 × 8 ml	Nie dotyczy
	EB 2 (cobas® 4800 Elution Buffer 2 — Bufor do elucji 2 cobas® 4800) Bufor Tris, 0,2% metylo-4-hydroksybenzoesan	10 × 17 ml	
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 (Zestaw do przygotowania próbki 2 do systemu cobas® 4800) 960 testów (P/N: 06979521190)	MGP 2 (cobas® 4800 MGP Reagent 2 — Odczynnik 2 cobas® 4800 MGP) Szklane cząstki magnetyczne, bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesanu, < 0,1% azydru sodu	10 × 16 ml	Nie dotyczy
	EB 2 (cobas® 4800 Elution Buffer 2 — Bufor do elucji 2 cobas® 4800) Bufor Tris, 0,2% metylo-4-hydroksybenzoesan	10 × 17 ml	
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Zestaw buforu płuczącego do systemu cobas® 4800) 240 testów (P/N: 05235863190)	WB Dwuwodny cytrynian sodu, 0,05% N-metyloizotiazolonu HCl ^b	10 × 55 ml	 OSTRZEŻENIE H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania mgły lub par. P272: Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wносить poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 26172-54-3 Chlorowodorek 2-metylo-2H-izotiazol-3-onu

Zestaw	Elementy i składniki odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie ^a
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Zestaw buforu płuczącego do systemu cobas® 4800) 960 testów (P/N: 05235871190)	WB Dwuwodny cytrynian sodu, 0,05% N-metyloizotiazolonu HCl ^b	10 × 200 ml	 OSTRZEŻENIE H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania mgły lub par. P272: Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wносить poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 26172-54-3 Chlorowodorek 2-metylo-2H-izotiazol-3-onu
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2 (Rozcieńczalnik Próbk 2 do systemu cobas® 4800) 240 testów (P/N: 06979556190)	SD 2 Bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesu, < 0,1% azydku sodu	10 × 8 ml	Nie dotyczy

Zestaw	Elementy i składniki odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 240 testów (P/N: 06979530190)	P 2 (Proteaza 2 cobas® 4800) Bufor Tris, < 0,05% EDTA, chlorek wapnia, octan wapnia, 8% (udział wagowo-obj.) proteinazy ^b	10 × 1,0 ml	 NIEBEZPIECZEŃSTWO H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. H334: Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania. P261: Unikać wdychania mgły lub par. P280: Stosować rękawice ochronne. P284: Stosować indywidualne środki ochrony dróg oddechowych. P304 + P340: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P342 + P311: W przypadku wystąpienia objawów ze strony układu oddechowego: skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. 39450-01-6 Proteinaza serynowa, <i>Tritirachium album</i>
	LYS 2 (Bufor do lizy 2 do systemu cobas® 4800) 43% (udział wagowy) tiocyjanian guanidyny ^b , 5% (udział wagowo-obj.) polidokanol ^b , 2% (udział wagowo-obj.) ditiotreitol ^b , dwuwodny cytrynian sodu	10 × 27 ml	 NIEBEZPIECZEŃSTWO H302: Działa szkodliwie po połknięciu. H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. H411: Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. EUH032: W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy. EUH071: Działa żrąco na drogi oddechowe. P273: Unikać uwolnienia do środowiska. P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy/ochronę słuchu. P303 + P361 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): natychmiast zdjąć całą skażoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody. P304 + P340 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P305 + P351 + P338 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P391: Zebrać wyciek. 593-84-0 Tiocyjanian guanidyny 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diol

Zestaw	Elementy i składniki odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 960 testów (P/N: 06979548190)	P 2 (Proteaza 2 cobas® 4800) Bufor Tris, < 0,05% EDTA, chlorek wapnia, octan wapnia, 8% (udział wagowo-obj.) proteiny ^b	10 × 1,0 ml	 NIEBEZPIECZEŃSTWO H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. H334: Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania. P261: Unikać wdychania mgły lub par. P280: Stosować rękawice ochronne. P284: Stosować indywidualne środki ochrony dróg oddechowych. P304 + P340: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P342 + P311: W przypadku wystąpienia objawów ze strony układu oddechowego: skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. 39450-01-6 Proteinaza serynowa, <i>Tritirachium album</i>
	LYS 2 (Bufor do lizy 2 do systemu cobas® 4800) 43% (udział wagowy) tiocyjanian guanidyny ^b , 5% (udział wagowo-obj.) polidokanol ^b , 2% (udział wagowo-obj.) ditiotreititol ^b , dwuwodny cytrynian sodu	10 × 84 ml	 NIEBEZPIECZEŃSTWO H302: Działa szkodliwie po połknięciu. H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. H411: Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. EUH032: W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy. EUH071: Działa żrąco na drogi oddechowe. P273: Unikać uwolnienia do środowiska. P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy/ochronę słuchu. P303 + P361 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): natychmiast zdjąć całą skażoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody. P304 + P340 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P305 + P351 + P338 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P391: Zebrać wyciek. 593-84-0 Tiocyjanian guanidyny 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diol

^a Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.^b Substancja niebezpieczna.

Wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania odczynników

Odczynnik	Temperatura przechowywania	Czas przechowywania
cobas® HCV	2–8°C	Zachowuje trwałość do momentu upływu wskazanej daty ważności.
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	2–8°C	Zachowuje trwałość do momentu upływu wskazanej daty ważności.
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2–8°C	Zachowuje trwałość do momentu upływu wskazanej daty ważności.
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	15–25°C	Zachowuje trwałość do momentu upływu wskazanej daty ważności.
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2	2–8°C	Zachowuje trwałość do momentu upływu wskazanej daty ważności.
cobas® 4800 System Lysis Kit 2	2–8°C	Zachowuje trwałość do momentu upływu wskazanej daty ważności.

Nie należy zamrażać odczynników.

Wymagane materiały dodatkowe

Materiały	P/N
Płytki do ekstrakcji (z głębokimi dołkami) systemu cobas® 4800 2,0 ml	06884008001
Płytki AD (z mikrodołkami) systemu cobas® 4800 0,3 ml	05232724001
Aplikator folii uszczelniającej	04900383001
Końcówki CORE, 1000 µl, statyw zawierający 96 sztuk	04639642001
Pojemnik na odczynnik 200 ml	05232759001
Pojemnik na odczynnik 50 ml	05232732001
Nośnik 24-pozycyjny	04639502001
Nośnik 32-pozycyjny	04639529001
Worek na odpady stałe	05530873001 (mały) lub 04691989001 (duży)
Plastikowa zsuwnia Hamilton STAR	04639669001
Rękawiczki laboratoryjne, bezpudrowe	Akceptowalne są jakiegokolwiek bezpudrowe rękawice jednorazowe.
Mieszadło wibracyjne (do mieszania jednej próbki)	Akceptowalne jest dowolne mieszadło wibracyjne.
Wirówka laboratoryjna, wyposażona w rotor uchylony o minimalnej wartości RCF równej 1500	Akceptowalna jest dowolna wirówka spełniająca te wymagania.

W celu uzyskania dodatkowych informacji dotyczących materiałów sprzedawanych oddzielnie prosimy o kontakt z miejscowym przedstawicielstwem firmy Roche.

Urządzenia i oprogramowanie wymagane, lecz niedostarczane

Urządzenia i oprogramowanie wymagane, lecz niedostarczane
System cobas® 4800 Aparat cobas® x 480 Analizator cobas® z 480 Jednostka sterująca
Oprogramowanie aplikacyjne (podstawowe) systemu cobas® 4800 w wersji 2.2.0 lub nowsze
System cobas® 4800 cobas® HCV AP wersja 1.1.0 lub nowsza

Uwaga: Szczegółową listę zamówień na statywy na próbki, statywy na końcówki, statywy na odczynniki i nośniki na płytki akceptowane przez urządzenia można uzyskać po skontaktowaniu się z miejscowym przedstawicielstwem firmy Roche.

Obsługiwane próbówki na próbki

Test akceptuje powszechnie stosowane próbówki pierwotne i wtórne.

Obsługiwane są następujące próbówki na próbki:

Próbówki pierwotne

Średnica nominalna (mm)	Objętość wejściowa próbki – przetworzona (odwirowana) krew pełna		Dodatek próbówki	
	Objętość przetwarzania 400 µl	Objętość przetwarzania 200 µl	Osocze pobrane na EDTA	Surowica
11-14	1800 µl lub więcej	1000 µl lub więcej	Z żelem lub bez żelu	Z żelem
14,5-16	Ponad 4000 µl	Ponad 4000 µl	Z żelem lub bez żelu	Z żelem

W celu uzyskania informacji na temat zamawiania określonych próbek na próbki oraz minimalnych objętości wejściowych określonych próbek pierwotnych, należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Roche.

Próbówki wtórne

Średnica nominalna (mm)	Objętość wejściowa próbki	
	Objętość przetwarzania 400 µl	Objętość przetwarzania 200 µl
11-16	1000 µl lub więcej (określone próbówki wtórne mają minimalną objętość wejściową poniżej 1000 µl)	750 µl lub więcej (określone próbówki wtórne mają minimalną objętość wejściową poniżej 750 µl)

W celu uzyskania informacji na temat zamawiania określonych próbek na próbki oraz minimalnych objętości wejściowych określonych próbek wtórnych, należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Roche.

Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania

Ostrzeżenia i środki ostrożności

Podobnie jak w przypadku każdej procedury testowej, dla prawidłowego przeprowadzenia badania kluczowe znaczenie ma zachowanie zasad dobrej praktyki laboratoryjnej. Z uwagi na wysoką czułość analityczną niniejszego testu należy przedsięwziąć wyjątkową ostrożność, aby zapobiec zanieczyszczeniu odczynników, próbek oraz mieszanin do amplifikacji.

- Do stosowania wyłącznie w diagnostyce *in vitro*.
- Test **cobas®** HCV nie został zaprojektowany jako badanie przesiewowe na obecność wirusa HCV we krwi lub jej produktach.
- Ze wszystkimi próbkami pacjentów należy obchodzić się tak jak z materiałem zakaźnym, stosując procedury dobrej praktyki laboratoryjnej, takie jak określone w dokumentach Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories oraz CLSI Document M29-A4.^{27,28} Procedurę tę powinien wykonywać wyłącznie personel biegły w pracy z materiałami niebezpiecznymi biologicznie oraz w stosowaniu testu **cobas®** HCV i systemu **cobas®** 4800 System.
- Wszystkie materiały pochodzenia ludzkiego należy uważać za potencjalnie zakaźne i postępować z nimi z zastosowaniem ogólnych środków ostrożności.
- Zestaw kontroli **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 zawiera osocze pochodzące z krwi ludzkiej. Wykorzystany w nim materiał został przebadany z wykorzystaniem licencjonowanego testu z użyciem przeciwciał i nie wykazywał obecności przeciwciał przeciwko antygenowi HCV, antygenowi HIV-1/2, HBsAg ani antygenowi HBc. Testowanie metodami PCR nie wykazało RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV ani DNA wirusa HBV. Żadna ze znanych metod badania nie może zaoferować całkowitej pewności, że produkty otrzymane z ludzkiej krwi nie będą przenosić czynników zakaźnych.
- Nie wolno narażać odczynnika MGP na działanie źródeł pola magnetycznego.
- **Nie zamrażać pełnej krwi ani innych próbek przechowywanych w probówkach pierwotnych.**
- W celu zagwarantowania optymalnego działania testu należy stosować wyłącznie dostarczone lub wymienione potrzebne materiały eksploatacyjne.
- Karty charakterystyki (ang. Safety Data Sheet, SDS) są dostępne na żądanie w miejscowym przedstawicielstwie firmy Roche.
- Ścisłe przestrzegać podanych procedur i wytycznych w celu zapewnienia prawidłowego wykonania testu. Wszelkie odchylenia od procedur i wytycznych mogą mieć wpływ na optymalną skuteczność testu.
- Jeżeli w trakcie obchodzenia się z próbkami i ich przygotowywania nie stosuje się odpowiedniej kontroli zanieczyszczenia między próbkami, może dojść do wystąpienia fałszywie dodatnich wyników.
- Dodatkowe ostrzeżenia, środki ostrożności oraz procedury mające na celu zredukowanie ryzyka zakażenia, dotyczące aparatu **cobas®** x 480 lub analizatora **cobas®** z 480 można znaleźć w podręczniku użytkownika systemu **cobas®** 4800 System. W przypadku podejrzenia wystąpienia zanieczyszczenia należy przeprowadzić czyszczenie oraz konserwację tygodniową zgodnie z opisem zamieszczonym w podręczniku użytkownika systemu **cobas®** 4800 System.

Uwaga: Szczegółowe instrukcje zamieszczono w części „Pobieranie, transport i przechowywanie próbek”.

Dobra praktyka laboratoryjna

- Nie należy pipetować za pomocą ust.
- Nie wolno jeść, pić ani palić w obszarach roboczych laboratorium.
- Należy dokładnie umyć ręce po zakończeniu pracy z próbkami i odczynnikami z zestawu, a także po zdjęciu rękawiczek laboratoryjnych.
- Podczas pracy z jakimikolwiek odczynnikami należy używać osłon na oczy oraz fartuchów laboratoryjnych i rękawiczek laboratoryjnych. Należy unikać kontaktu wymienionych materiałów ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, miejsce jego wystąpienia należy natychmiast spłukać dużą ilością wody. Jeżeli nie zostaną podjęte odpowiednie działania lecznicze, może dojść do oparzeń. W razie rozlania przed wytarciem należy rozcieńczyć wodą.
- Dokładnie oczyścić i odkazić wszystkie laboratoryjne powierzchnie robocze świeżo przygotowanym roztworem 0,5% podchlorynu sodu w wodzie destylowanej lub dejonizowanej (rozcieńczyć domowy wybielacz w stosunku 1:10). Następnie należy przetrzeć powierzchnię 70% etanolem.
- W laboratorium należy zachowywać spójną temperaturę, która spełnia parametry środowiskowe określone w podręczniku użytkownika systemu **cobas®** 4800 System.

Użytkowanie odczynników

- Aby uniknąć zanieczyszczenia między próbkami lub kontrolami, z wszystkimi odczynnikami, kontrolami i próbkami należy postępować zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej.
- Przed użyciem należy ocenić wzrokowo każdą butelkę odczynnika oraz fiolkę, aby upewnić się, że nie ma żadnych oznak wycieku. W razie wystąpienia wycieku nie wolno używać tego materiału do badania.
- Bufor do lizy 2 do systemu **cobas®** 4800 zawiera tiocyjanian guanidyny, potencjalnie niebezpieczną substancję chemiczną. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia.
- Test **cobas®** HCV, zestaw **cobas®** 4800 Sample Preparation Kit 2 i **cobas®** 4800 System Specimen Diluent 2 zawierają azydek sodu jako środek konserwujący. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia. Jeżeli dojdzie do rozlania wymienionych odczynników, przed wytarciem należy rozcieńczyć je wodą.
- Nie wolno dopuszczać do kontaktu Buforu do lizy 2 **cobas®** 4800 zawierającego tiocyjanian guanidyny, z roztworem podchlorynu sodu (wybielaczem). Połączenie to może skutkować wytworzeniem silnie trującego gazu.

Zanieczyszczenie

- Aby zapobiec zanieczyszczeniu, podczas pracy z próbkami i odczynnikami testu **cobas®** HCV należy nosić i zmieniać rękawiczki laboratoryjne. Podczas pracy z próbkami i kontrolami należy unikać zanieczyszczenia rękawic. Podczas obchodzenia się z próbkami i zestawem odczynników należy nosić rękawiczki laboratoryjne, fartuchy laboratoryjne oraz osłonę oczu.
- Należy unikać zanieczyszczenia odczynników przez rybonukleazy i mikrobiologicznego.
- Jeżeli w trakcie obchodzenia się z próbkami nie jest możliwa odpowiednia kontrola przeniesienia zanieczyszczenia między próbkami, może dojść do wystąpienia wyników fałszywie dodatnich.

Integralność

- Nie wolno używać zestawów po upływie daty ważności.
- Nie należy poddawać odczynników pulowaniu.
- Nie wolno używać przedmiotów jednorazowego użytku po upływie daty ważności.
- Wszystkie przedmioty jednorazowego użytku są przeznaczone do jednokrotnego użycia. Nie wykorzystywać ponownie.
- Całe wyposażenie powinno być odpowiednio konserwowane, zgodnie z instrukcjami producenta.

Utylizacja

- Test **cobas®** HCV, **cobas®** 4800 System Sample Preparation Kit 2 oraz **cobas®** 4800 System Specimen Diluent 2 zawierają azydek sodu (patrz „**Ostrzeżenia i środki ostrożności**”). Azydek sodu może reagować z instalacjami wodno-kanalizacyjnymi wykonanymi z ołowiu lub miedzi, tworząc silnie wybuchowe azydki metali. Usuwając roztwory zawierające azydek sodu do zlewów laboratoryjnych, należy przepłukać rury dużą ilością zimnej wody, aby zapobiec nagromadzeniu azydków.
- Należy wyrzucić wszystkie nieużyte odczynniki, postępując zgodnie z przepisami krajowymi, federalnymi, stanowymi i lokalnymi.

Uwaga: Informacje dotyczące usuwania odpadów płynnych zamieszczono w podręczniku użytkownika systemu **cobas®** 4800 System.

Rozlanie płynów i czyszczenie

- Odczynnik **cobas®** 4800 Lysis Buffer 2 zawiera tiocyjanian guanidyny. Jeśli płyn zawierający tiocyjanian guanidyny ulegnie rozlaniu, do czyszczenia należy używać odpowiedniego detergentu laboratoryjnego i wody. Jeśli rozlany płyn zawiera potencjalne czynniki zakaźne, do czyszczenia należy NAJPIERW używać detergentu laboratoryjnego i wody, a następnie 0,5% roztworu podchlorynu sodu.
- Jeśli do rozlania płynu dojdzie na powierzchni aparatu **cobas®** x 480, należy postępować zgodnie z instrukcjami zamieszczonymi w podręczniku użytkownika systemu **cobas®** 4800 System w celu przeprowadzenia czyszczenia.
- Do czyszczenia aparatu **cobas®** x 480 lub analizatora **cobas®** z 480 nie wolno używać roztworu podchlorynu sodu (wybielacza). Czyszczenia aparatu **cobas®** x 480 lub analizatora **cobas®** z 480 należy dokonywać zgodnie z procedurami opisanymi w podręczniku użytkownika systemu **cobas®** 4800 System.

Pobieranie, transport i przechowywanie próbek

Uwaga: Ze wszystkimi próbkami należy obchodzić się jak z materiałem potencjalnie zakaźnym.

Wszystkie próbki należy przechowywać w określonych temperaturach.

Podwyższona temperatura ma wpływ na stabilność próbek.

W przypadku używania próbek zamrożonych w probówkach wtórnych należy umieścić próbki w temperaturze pokojowej (15–30°C) aż do całkowitego ich rozmrożenia, a następnie krótko wymieszać (np. na mieszadło wibracyjnym przez 3–5 sekund) i odwirować w celu zebrania całej objętości próbki na dnie probówki.

Pobieranie próbek

Krew należy pobierać do probówek do rozdziału surowicy SST™, probówek do otrzymywania osocza BD Vacutainer® PPT™, przeznaczonych do metod diagnostyki molekularnej lub sterylnych probówek zawierających EDTA jako antykoagulant.

Uwaga: Użytkownik musi przestrzegać instrukcji dostarczonych przez producenta probówek podczas przygotowania surowicy/osocza.

Transport, przechowywanie i stabilność próbek

- Krew pełna pobrana do probówek do rozdziału surowicy SST™, probówek przeznaczonych do metod diagnostyki molekularnej BD Vacutainer® PPT™ lub sterylnych probówek zawierających EDTA jako antykoagulant może być przechowywana i (lub) transportowana do 24 godzin w temperaturze od 2°C do 25°C przed przygotowaniem osocza/surowicy i wykonywaniem dalszych badań.
- Próbkki osocza/surowicy mogą być przechowywane w probówkach wtórnych do 24 godzin w temperaturze od 2°C do 25°C, do 72 godzin w temperaturze od 2°C do 8°C lub do 6 tygodni w temperaturze $\leq -18^{\circ}\text{C}$. Oddzielone próbki osocza/surowicy w probówkach wtórnych są stabilne przez trzy cykle zamrażania/odmrażania, gdy są przechowywane w temperaturze $\leq -18^{\circ}\text{C}$.
- Jeśli próbki mają być przesyłane, należy je opakować i oznaczyć zgodnie z odpowiednimi krajowymi i (lub) międzynarodowymi przepisami dotyczącymi transportu próbek i czynników etiologicznych.

Instrukcja użytkowania

Wykonywanie oznaczenia

Objętość przetwarzania próbki

Domyślna objętość przetwarzania próbki dla testu **cobas®** HCV wynosi 400 µl. Dla próbek o niskiej objętości można wybrać objętość przetwarzania wynoszącą 200 µl. Jedynie w tej sytuacji w systemie należy użyć dodatkowego odczynnika **cobas®** 4800 System Specimen Diluent 2. Użytkownik zostanie powiadomiony o takiej konieczności przez kreator oprogramowania, jeżeli podczas tworzenia harmonogramu pracy zostanie wybrany typ próbki „Diluted serum or plasma”.

Rysunek 1: Przebieg pracy z użyciem testu **cobas®** HCV

1	Uruchomienie systemu.
2	Wykonanie czynności konserwacyjnych aparatów.
3	Wyjęcie próbek i odczynników z miejsca przechowywania.
4	Rozpoczęcie przebiegu
5	Skanowanie kart z parametrami
6	Załadowanie próbek
7	W przypadku korzystania z systemu LIS: potwierdzenie zlecenia pracy. W przypadku braku systemu LIS: utworzenie zlecenia pracy.
8	Załadowanie materiałów eksploatacyjnych (płytki głębokodołkowej, płytki mikrodołkowej, statywów na końcówki)
9	Umieszczenie odczynników
10	Rozpoczęcie przebiegu przygotowania próbek.
11	Wyjęcie i uszczelnienie płytki mikrodołkowej.
12	Załadowanie płytki mikrodołkowej w analizatorze.
13	Wyjęcie próbek, zużytych odczynników i płytki głębokodołkowej.
14	Przeanalizowanie wyników.
15	W przypadku korzystania z systemu LIS: przesłanie wyników do systemu LIS.
16	Wyjęcie płytki z analizatora.

Uwaga: Szczegółowe instrukcje obsługi można znaleźć w podręczniku użytkownika systemu **cobas®** 4800 System.

Wielkość przebiegu

Ogólne zestawy odczynników do przygotowywania próbek (**cobas®** 4800 System Sample Preparation Kit 2, **cobas®** 4800 System Lysis Kit 2 oraz **cobas®** 4800 System Wash Buffer Kit) są dostępne w dwóch wielkościach, z których każda wystarcza na 10 przebiegów zawierających do 24 lub 96 próbek włączając kontrole i próbki do oznaczania. Test **cobas®** HCV jest dostępny w jednym rozmiarze zestawu, który wystarcza do zbadania 120 (10×12) próbek, włączając kontrole i próbki. Test **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 Control Kit jest dostępny w jednym rozmiarze zestawu, który może zostać wykorzystany we wszystkich konfiguracjach

przebiegu. W każdej partii testowej musi być użyta jedna HBV/HCV/HIV-1 Low Positive Control, jedna HBV/HCV/HIV-1 High Positive Control oraz jedna Negative Control. W przypadku przebiegu z jednym testem maksymalna dopuszczalna liczba próbek to 93 próbki pacjentów i 3 kontrole.

Na Rysunek 1 podsumowano tę procedurę.

Uwaga: *W celu optymalnego użycia odczynników ogólne zestawy odczynników do przygotowywania próbek mogą być używane dla przebiegów zawierających łącznie 1–21 próbek (zestaw testowy 10×24) lub łącznie 1–93 próbek (zestaw testowy 10×96). Jednak nie można łączyć ze sobą różnych wielkości zestawu cobas® 4800 System Wash Buffer Kit, cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 i cobas® 4800 System Lysis Kit 2. Przykładowo, jeśli na początku przebiegu skanowana jest butelka z odczynnikiem Wash Buffer z zestawu 96 testów, należy użyć odczynników z pozostałych zestawów do przygotowywania próbek również o rozmiarze 96 testów.*

Przebieg pracy

Test cobas® HCV to oznaczenie prowadzone z wykorzystaniem przebiegu pracy Full Workflow w ramach oprogramowania cobas® 4800. Obejmuje on przygotowanie próbek w aparacie cobas® x 480 oraz amplifikację/detekcję w analizatorze cobas® z 480. Test cobas® HCV można przeprowadzać pojedynczo lub w partiach mieszanych z testami, które mają wspólny taki sam zautomatyzowany proces ekstrakcji próbek oraz profil PCR do amplifikacji i detekcji. Na etapie wyboru oprogramowanie wyświetli testy, które są zgodne z testem cobas® HCV dla trybu partii mieszanej. Szczegóły można znaleźć w podręczniku użytkownika systemu cobas® 4800 System.

1. Uruchom system postępując zgodnie z instrukcjami opisanymi w podręczniku użytkownika systemu cobas® 4800 System.
2. Wykonaj czynności konserwacyjne, postępując zgodnie z instrukcjami opisanymi w podręczniku użytkownika systemu cobas® 4800 System.
3. Zgromadź wszystkie wymagane odczynniki i materiały eksploatacyjne. Wszystkie odczynniki, oprócz odczynników HCV MMX R2 i MMX R1, przed załadowaniem do aparatu cobas® x 480 muszą znajdować się w temperaturze pokojowej. Odczynniki HCV MMX R2 i MMX R1 można umieszczać w aparacie bezpośrednio z temperatury przechowywania 2–8°C, ponieważ ich temperatura zostanie wyrównana do temperatury otoczenia wewnątrz aparatu cobas® x 480 podczas procesu przetwarzania.

Uwaga: *Wszystkie odczynniki i pojemniki na odczynniki są opatrzone kodem kreskowym i są przeznaczone do jednokrotnego użycia. Oprogramowanie cobas® 4800 śledzi użycie odczynników oraz pojemników na odczynniki i odrzuca wcześniej używane odczynniki lub pojemniki na odczynniki.*

4. Rozpocznij nowy przebieg i wybierz jako rodzaj przebiegu pracy HCV. Aby przeprowadzić serię partii mieszanej, wybierz inne rodzaje odpowiednich przebiegów pracy (tj. HIV-1, CMV lub HCV GT) oprócz HCV.
5. Należy postępować zgodnie z przewodnikiem kreatora oprogramowania i zeskanować kod kreskowy na kartach parametrów zakresów kontroli i współczynników kalibracji.

Uwaga: *Zeskanuj karty parametrów z nieprzetworzonych odczynników. Oprogramowanie nie monitoruje dat ważności odczynników na kartach parametrów. Przed zeskanowaniem odpowiedniego ID kodu kreskowego sprawdź datę ważności wydrukowaną na karcie parametrów lub zestawach odczynników.*

6. Załaduj próbki. Można ładować pierwotne lub wtórne próbki na próbki, a minimalna objętość próbki zależy od rodzaju i wielkości próbki. Więcej szczegółów, patrz część dotycząca obsługiwanych rodzajów próbek.
7. Utwórz zlecenie pracy. Zlecenie pracy można utworzyć na trzy sposoby:
 - Korzystając z edytora próbki przed umieszczeniem statywu z próbkami w aparacie **cobas®** x 480 (przycisk „Editor” po prawej stronie menu głównego). Zlecenia pracy można zapisać, edytować i wczytać ponownie w razie potrzeby. Podczas wybierania żądanych wyników należy zaznaczyć opcję „HCV”.
 - Przez skorzystanie z kreatora oprogramowania dla nowego przebiegu i umieszczenie próbek w aparacie **cobas®** x 480 po wyświetleniu takiego polecenia. Kody kreskowe próbek zostaną automatycznie zeskanowane i konieczne będzie zdefiniowane żądanych wyników dla każdej próbki. Podczas wybierania żądanych wyników należy zaznaczyć opcję „HCV”.
 - Przez skorzystanie z systemu LIS placówki.

Dodatkowe szczegóły można znaleźć w podręczniku użytkownika systemu **cobas®** 4800 System. Umieść próbki i zdefiniuj/wybierz zlecenie pracy lub skorzystaj z systemu LIS, zależnie od tego co będzie właściwe.

8. Załaduj materiały eksploatacyjne zgodnie z instrukcjami kreatora oprogramowania. Nie należy umieszczać pojedynczych końcówek ani ich wyjmować z częściowo wykorzystanego statywu, gdyż oprogramowanie śledzi liczbę pozostałych końcówek. Jeśli liczba końcówek będzie niewystarczająca do przeprowadzenia przebiegu, oprogramowanie poinformuje o tym fakcie użytkownika.
9. Załaduj odczynniki.

Załaduj odczynniki do przygotowywania próbek do pojemników na odczynniki opatrzone kodem kreskowym. Pojemniki na odczynniki są dostępne w dwóch rozmiarach: 200 ml i 50 ml. Postępuj zgodnie ze wskazówkami kreatora oprogramowania w celu wybrania pojemnika na odczynniki odpowiednich rozmiarów. Kody kreskowe pojemnika na odczynniki muszą znajdować się po prawej stronie nośnika. Załaduj odczynniki do przygotowywania próbek, stosując metodę „zeskanuj, zeskanuj, przelej, umieść”:

- Zeskanuj kod kreskowy butelki odczynnika.
- Zeskanuj kod kreskowy pojemnika na odczynniki.
- Przelej odczynnik do pojemnika.
- Umieść wypełniony pojemnik na odczynniki w przypisanej mu pozycji w nośniku na odczynniki.

Uwaga: *System **cobas®** 4800 ma wewnętrzny zegar, kontrolujący czas, przez jaki odczynniki znajdują się w systemie. Od momentu zeskanowania LYS 2 lub WB w ciągu 1 godziny należy zakończyć proces ładowania i kliknąć przycisk Start. Na zakładce „Workplace” wyświetlany jest zegar odliczający czas. System nie zezwoli na rozpoczęcie przebiegu, jeżeli czas wyświetlany przez zegar aparatu upłynął.*

Uwaga: *Aby zapewnić właściwe przeniesienie odczynnika MGP, zworteksuj lub energicznie wstrząśnij fiolkę odczynnika MGP bezpośrednio przed umieszczeniem jej w pojemniku na odczynniki.*

10. Umieść fiolki odczynników do amplifikacji/detekcji (HCV MMX R2, MMX R1 i RNA QS), fiolki kontroli [HBV/HCV/HIV-1 L(+)C, HBV/HCV/HIV-1 H(+)C i (–) C] oraz fiolki z odczynnikiem ogólnym (P2 i SD2 zgodnie z wymogami) bezpośrednio w nośniku dla odczynników.

Uwaga: *W celu zapobiegania niepotrzebnym przerwaniom przebiegu i skażeniom należy strząsnąć fiolki z odczynnikami, aby zapobiec powstawaniu pęcherzyków/warstwy płynu. Kontrole należy otwierać zaczynając od tych najbliższych użytkownika (od pozycji 24 do 1). Po pracy z kontrolami dodatnimi należy zmienić rękawiczki laboratoryjne.*

11. Rozpocznij przebieg przygotowania próbek. Po pomyślnym przebiegu przygotowania próbek przyciski „Sample Preparation results” oraz „Unload” staną się dostępne. W razie potrzeby wybierz przycisk „Sample Preparation results” w celu przeanalizowania wyników, a następnie wybierz przycisk „Unload”, aby wyładować nośniki na płytki. Można również wybrać przycisk „Unload” w celu wyładowania nośnika na płytki bez przeglądania wyników. Patrz podręcznik użytkownika systemu **cobas® 4800 System**.
12. Po rozładowaniu płytki mikrodołkowej, należy postępować zgodnie z instrukcjami w podręczniku użytkownika systemu **cobas® 4800 System** dotyczącymi uszczelniania i przenoszenia płytki do analizatora **cobas® z 480**.
13. Załaduj płytkę mikrodołkową do analizatora i rozpocznij przebieg amplifikacji i detekcji zgodnie z instrukcją w podręczniku użytkownika systemu **cobas® 4800 System**.

Uwaga: *System **cobas® 4800** ma wewnętrzny zegar, kontrolujący czas, jaki upływa od momentu dodania przygotowanych próbek do aktywowanego odczynnika Master Mix. Amplifikację i detekcję należy rozpocząć jak najszybciej, jednak nie później niż 40 minut od zakończenia przebiegu w aparacie **cobas® x 480**. Na zakładce „Workplace” wyświetlany jest zegar odliczający czas. System przerywa przebieg, jeżeli ten czas zostanie przekroczony.*

14. Wyjmij próbki, zużyte odczynniki i płytkę głębokodołkową zgodnie z instrukcjami w podręczniku użytkownika systemu **cobas® 4800 System**.
15. Po zakończeniu przebiegu amplifikacji i detekcji należy wykonywać instrukcje w podręczniku użytkownika systemu **cobas® 4800 System** dotyczące przeglądania i akceptowania wyników.
16. W przypadku pracy z systemem LIS, wyślij wyniki do systemu LIS.
17. Wykonuj instrukcje w podręczniku użytkownika systemu **cobas® 4800 System** dotyczące wyładowywania płytki mikrodołkowej z analizatora **cobas® z 480**.

Wyniki

System **cobas**® 4800 automatycznie określa poziom RNA HCV w próbkach i kontrolach. Stężenie RNA HCV wyraża się w jednostkach międzynarodowych IU (International Units) na mililitr (IU/ml).

Kontrola jakości i ważność wyników

- W każdej partii przetwarzana jest jedna ujemna kontrola (–) C i dwie kontrole dodatnie: kontrola nisko dodatnia HBV/HCV/HIV-1 L(+)C oraz kontrola wysoko dodatnia HBV/HCV/HIV-1 H(+)C.
- Sprawdź ważność partii w oprogramowaniu **cobas**® 4800 i (lub) raporcie.
- Wyniki są unieważniane automatycznie przez oprogramowanie **cobas**® 4800 na podstawie uzyskania niepomysłnych wyników kontroli ujemnej i kontroli dodatniej.

Interpretacja wyników kontroli

Tabela 1: Interpretacja wyników kontroli dla kontroli ujemnych i dodatnich

Kontrola ujemna	Wynik	Interpretacja
(–) C	Target Not Detected	Kontrola jest ważna. Nie wykryto HCV RNA.
	Invalid	Wynik oznaczony jako nieważny lub wynik obliczonego miana kontroli ujemnej nie jest wynikiem ujemnym.
Kontrola dodatnia	Wynik	Interpretacja
HBV/HCV/HIV-1 L(+)C	Miano	Kontrola jest ważna. Obliczone miano jest w zakresie kontroli.
	Invalid	Wynik oznaczony jako nieważny lub obliczone miano dla kontroli nisko dodatniej nie mieści się w określonym zakresie.
HBV/HCV/HIV-1 H(+)C	Miano	Kontrola jest ważna. Obliczone miano jest w zakresie kontroli.
	Invalid	Wynik oznaczony jako nieważny lub obliczone miano dla kontroli wysoko dodatniej nie mieści się w określonym zakresie.

Interpretacja wyników

Uwaga: Cały proces walidacji testu i partii jest realizowany przez oprogramowanie cobas® 4800.

Uwaga: Ważna partia może obejmować zarówno ważne, jak i nieważne wyniki próbek.

W przypadku ważnej partii wyniki badania próbek interpretuje się w sposób, który przedstawia Tabela 2.

Tabela 2: Interpretacja wyników dla poszczególnych materiałów docelowych

cobas® HCV	Raport wyniku i jego interpretacja
Target Not Detected	Nie wykryto HCV RNA. Podać wynik jako „Nie wykryto HCV”.
< Titer Min	Obliczone miano jest niższe od dolnej granicy liniowości testu (LLoQ). Podać wynik jako „Wykryto HCV, miano poniżej (miano min.)”. Miano min. = 1,50E+01 IU/ml (400 µl) Miano min. = 2,50E+01 IU/ml (200 µl)
Miano	Obliczone miano znajduje się w zakresie liniowym testu — jest większe lub równie mianu min. oraz mniejsze lub równe mianu maks. Podać wynik jako „Wykryto (miano) HCV”.
> Titer Max ^a	Obliczone miano jest wyższe od górnej granicy liniowości testu (ULoQ). Podać wynik jako „Wykryto HCV, miano powyżej (miano maks.)”. Miano maks. = 1,00E+08 IU/ml (400 µl i 200 µl)

^a Wynik próbki > Titer Max odnosi się do HCV dodatnich próbek z mianami powyżej górnej granicy liniowości testu (ULoQ). Jeśli potrzebny jest wynik ilościowy, oryginalną próbkę należy rozcieńczyć HCV-ujemnym ludzkim osoczem pobranym na EDTA lub surowicą, w zależności od typu oryginalnej próbki, a następnie powtórzyć test. Otrzymany wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

Lista flag wyników

Tabela poniżej wymienia wszystkie flagi dotyczące interpretacji wyniku.

Tabela 3: Lista flag

Kod flagi	Opis	Zalecane działanie
R4800	Wartość docelowa jest nieważna z powodu niepowodzenia obliczeń.	Wartość docelowa jest nieważna z powodu niepowodzenia obliczeń. 1. Ponownie oznacz próbkę. 2. Jeżeli problem powtarza się, skontaktuj się z serwisem firmy Roche.
R4801	Standard ilościowy jest nieważny.	Standard ilościowy jest nieważny dla próbki. 1. Ponownie oznacz próbkę. 2. Jeżeli problem powtarza się, skontaktuj się z serwisem firmy Roche.
R4802	Kontrola zewnętrzna jest nieważna.	Kontrola zewnętrzna jest nieważna. ^a 1. Powtórz cały przebieg ze świeżymi odczynnikami. 2. Jeżeli problem powtarza się, skontaktuj się z serwisem firmy Roche.
R4803	Standard ilościowy jest nieważny.	Standard ilościowy jest nieważny dla kontroli zewnętrznej. 1. Powtórz cały przebieg ze świeżymi odczynnikami. 2. Jeżeli problem powtarza się, skontaktuj się z serwisem firmy Roche.
R4804	Kontrola zewnętrzna jest poza zakresem.	Kontrola zewnętrzna jest poza zakresem. ^b 1. Powtórz cały przebieg ze świeżymi odczynnikami. 2. Jeżeli problem powtarza się, skontaktuj się z serwisem firmy Roche.
X3	Błąd: Wykryto skrzep. Próbka nie została przetworzona.	Upewnij się, że próbki obsługiwano zgodnie z opisem przebiegu pracy. 1. Sprawdź próbkę pod kątem skrzepów. 2. Ponownie oznacz próbkę.
X4	Błąd: Wystąpił błąd pipetowania. Próbka nie została przetworzona.	Najbardziej prawdopodobną przyczyną jest niewystarczająca objętość próbki lub błąd mechaniczny podczas pipetowania. 1. Upewnij się, że jest dostępna wystarczająca objętość próbki. 2. Sprawdź, czy płytka zrzucająca końcówkę jest umieszczona prawidłowo. 3. Ponownie oznacz próbkę.

^a Jest to flaga próbki, która występuje, gdy kontrola zewnętrzna w przebiegu jest nieważna.

^b Jest to flaga obejmująca wszystkie scenariusze, w których kontrola zewnętrzna jest nieważna (wartość docelowa lub miano).

Uwaga: Wszystkie flagi systemowe — patrz podręcznik użytkownika systemu cobas® 4800 System.

Ograniczenia metody

1. Test **cobas**® HCV był oceniany tylko w połączeniu z **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2, **cobas**® 4800 System Lysis Kit 2, **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit oraz **cobas**® 4800 System Specimen Diluent 2.
2. Uzyskanie wiarygodnych wyników zależy od właściwego pobrania, transportu, przechowywania oraz przetwarzania próbki. Należy postępować zgodnie z procedurami opisanymi w niniejszej instrukcji użytkownika (określanej również mianem ulotki dołączonej do opakowania) oraz w podręczniku użytkownika systemu **cobas**® 4800 System.
3. Ten test został zatwierdzony wyłącznie do badania osocza pobranego na EDTA i surowicy. Badanie innych rodzajów próbek może dawać nieprawidłowe wyniki.
4. Oznaczenie ilościowe RNA wirusa HCV zależy od liczby cząstek wirusa obecnych w próbce i mogą na nie mieć wpływ: metoda pobrania próbki, czynniki zależne od pacjenta (tj. wiek, obecność objawów) i (lub) stadium zakażenia.
5. Mutacje w obrębie wysoko konserwatywnych regionów genomu wirusowego, z którymi wiążą się startery i (lub) sondy używane w teście **cobas**® HCV — chociaż rzadkie — mogą wpływać na wiązanie starterów i (lub) sond oraz spowodować zaniżenie miana lub niewykrycie wirusa.
6. Wartość predykcyjna oznaczenia zależy do częstości występowania choroby w danej populacji.
7. Dodanie do odczynnika Master Mix **cobas**® HCV enzymu AmpErase umożliwia selektywną amplifikację docelowego kwasu dezoksyrybonukleinowego; jednak aby uniknąć zanieczyszczenia odczynników i mieszanin amplifikacyjnych, konieczne jest stosowanie dobrej praktyki laboratoryjnej i dokładne przestrzeganie procedur wyszczególnionych w niniejszej instrukcji.
8. Tego produktu mogą używać wyłącznie osoby przeszkolone w zakresie technik PCR i używania systemu **cobas**® 4800.
9. Zatwierdzono użycie tego produktu tylko z aparatem **cobas**® x 480 i analizatorem **cobas**® z 480. Z tym produktem nie można stosować żadnych innych urządzeń do przygotowania próbek ani systemów do PCR.
10. Z uwagi na różnice między technologiami zaleca się, aby przed zmianą stosowanych metod użytkownik przeprowadził w laboratorium badania korelacji stosowanych metod w celu określenia występujących między nimi różnic jakościowych. Użytkownicy powinni postępować zgodnie z własnymi określonymi zasadami/procedurami.
11. Zanieczyszczenie krzyżowe próbek może spowodować wyniki fałszywie dodatnie. Częstość zanieczyszczenia krzyżowego między próbkami testu **cobas**® HCV została określona w badaniach nieklinicznych na poziomie 0,0%. Nie zaobserwowano zanieczyszczenia krzyżowego pomiędzy przebiegami.
12. Test **cobas**® HCV nie jest przeznaczony do wykorzystania jako badanie przesiewowe na obecność wirusa HCV we krwi lub produktach krwiopochodnych.

Ocena skuteczności w badaniach nieklinicznych

Najważniejsze parametry działania testu

Granica wykrywalności (LoD)

Międzynarodowy standard WHO

Granice wykrywalności testu **cobas® HCV**, określono na podstawie analizy serii rozcieńczeń międzynarodowego standardu WHO dla RNA HCV do oznaczeń opartych na technologii amplifikacji kwasów nukleinowych (4th WHO International Standard), genotyp 1a, uzyskanego z NIBSC w HCV-ujemnym ludzkim osoczu pobranym na EDTA lub surowicy z użyciem objętości próbek wynoszących 400 µl i 200 µl. Panel składający się z sześciu poziomów stężeń i próbki ujemnej był testowany na trzech seriach odczynników **cobas® HCV**, wielu przebiegach, dniach, operatorach i aparatach.

Wyniki dla osocza pobranego na EDTA i surowicy z obu objętości jednostek zamieszczono w tabelach od Tabela 4 do Tabela 7. W badaniu wykazano, że test **cobas® HCV** wykrywał RNA HCV w stężeniu 9,2 IU/ml w osoczu pobranym na EDTA oraz 7,6 IU/ml w surowicy z odsetkiem trafień wynoszącym $\geq 95\%$ na podstawie analizy PROBIT dla objętości przetwarzania 400 µl oraz w stężeniu 15,2 IU/ml w osoczu pobranym na EDTA oraz 15,3 IU/ml w surowicy z odsetkiem trafień wynoszącym $\geq 95\%$ na podstawie analizy PROBIT dla objętości przetwarzania 200 µl.

Tabela 4: Granica wykrywalności w osoczu pobranym na EDTA (400 µl)

Stężenie wejściowe (RNA HCV IU/ml)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafień
42,0	125	125	100,0%
21,0	124	124	100,0%
15,0	125	123	98,4%
9,0	124	117	94,4%
5,0	126	103	81,8%
3,0	125	80	64,0%
0,0	36	0	0,0%
LoD w analizie PROBIT przy 95% trafień	9,2 IU/ml 95% przedział ufności: 7,8–11,5 IU/ml		

Tabela 5: Granica wykrywalności w surowicy (400 µl)

Stężenie wejściowe (RNA HCV IU/ml)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafień
42,0	125	125	100,0%
21,0	126	126	100,0%
15,0	126	126	100,0%
9,0	126	120	95,2%
5,0	126	110	87,3%
3,0	126	86	68,3%
0,0	36	0	0,0%
LoD w analizie PROBIT przy 95% trafień	7,6 IU/ml 95% przedział ufności: 6,5–9,5 IU/ml		

Tabela 6: Granica wykrywalności w osoczu pobranym na EDTA (200 µl)

Stężenie wejściowe (RNA HCV IU/ml)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafień
60,0	126	126	100,0%
45,0	125	125	100,0%
25,0	125	125	100,0%
18,0	124	119	96,0%
10,0	126	106	84,1%
5,0	124	69	55,7%
0,0	36	0	0,0%
LoD w analizie PROBIT przy 95% trafień	15,2 IU/ml 95% przedział ufności: 13,1–18,5 IU/ml		

Tabela 7: Granica wykrywalności w surowicy (200 µl)

Stężenie wejściowe (RNA HCV IU/ml)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafień
60,0	126	126	100,0%
45,0	126	126	100,0%
25,0	126	123	97,6%
18,0	126	125	99,2%
10,0	126	106	84,1%
5,0	125	73	58,4%
0,0	36	0	0,0%
LoD w analizie PROBIT przy 95% trafień	15,3 IU/ml 95% przedział ufności: 13,1–18,7 IU/ml		

Zakres liniowości

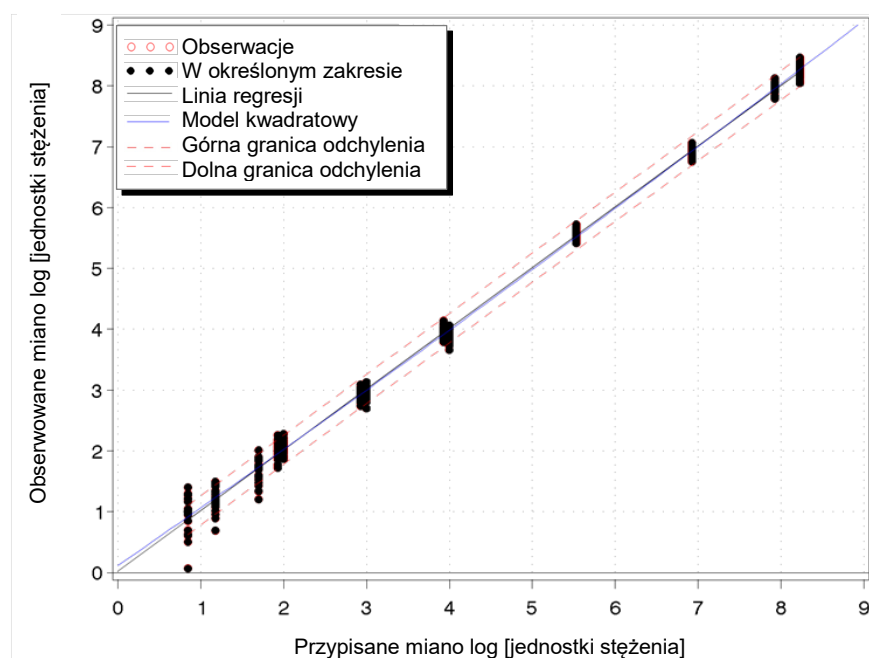
Liniowość testu **cobas**® HCV określono na podstawie analizy serii rozcieńczeń składających się z 13 elementów panelu z przeważającym genotypem (GT 1a) HCV rozciągającym się w liniowym zakresie testu. Elementy panelu o najwyższym mianie zostały przygotowane z Armored RNA (arRNA) o wysokim mianie, a elementy panelu o niższym mianie zostały przygotowane z próbek klinicznych (CS). Panel liniowości opracowano, aby między dwoma źródłami materiałów występowało nałożenie około $2 \log_{10}$.

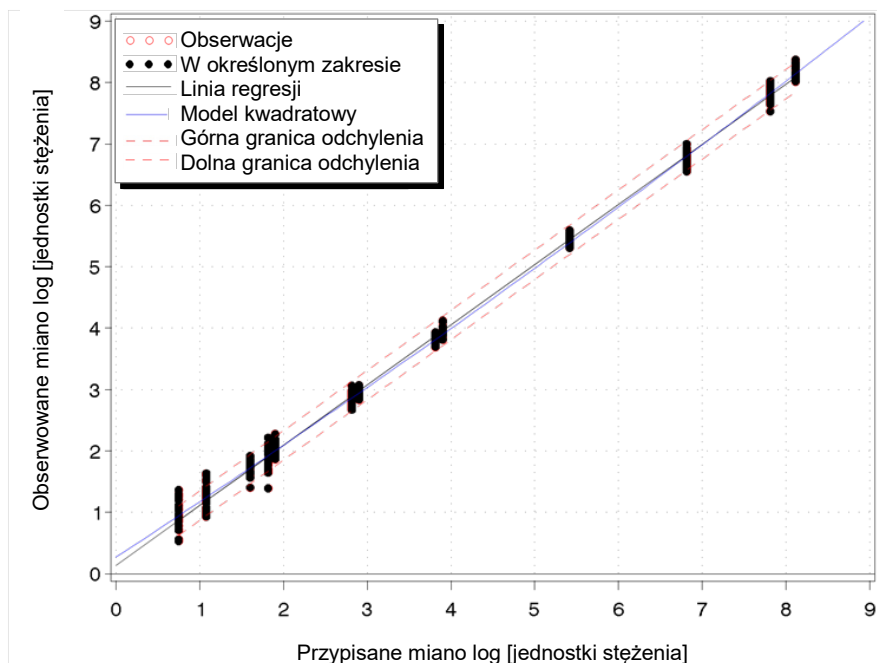
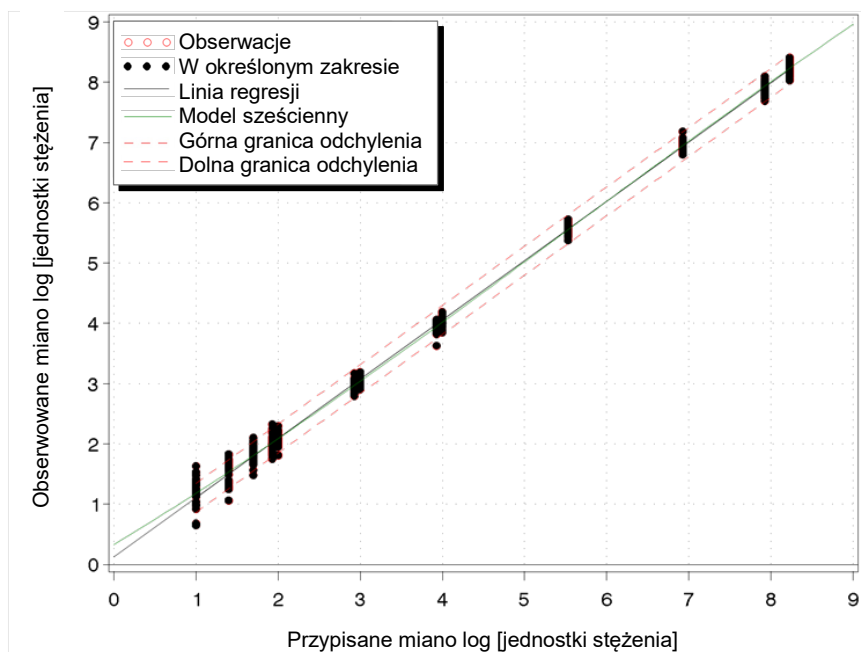
Podczas użycia objętości jednostki 400 µl test **cobas**® HCV ma przebieg liniowy dla osocza pobranego na EDTA i surowicy od 15,0 IU/ml do 1,0E+08 IU/ml i wykazuje maksymalne odchylenie od lepiej pasującej regresji nieliniowej poniżej $\pm 0,08 \log_{10}$. W zakresie liniowym dokładność testu mieściła się w granicach $\pm 0,20 \log_{10}$ dla osocza pobranego na EDTA i w granicach $\pm 0,23 \log_{10}$ dla surowicy.

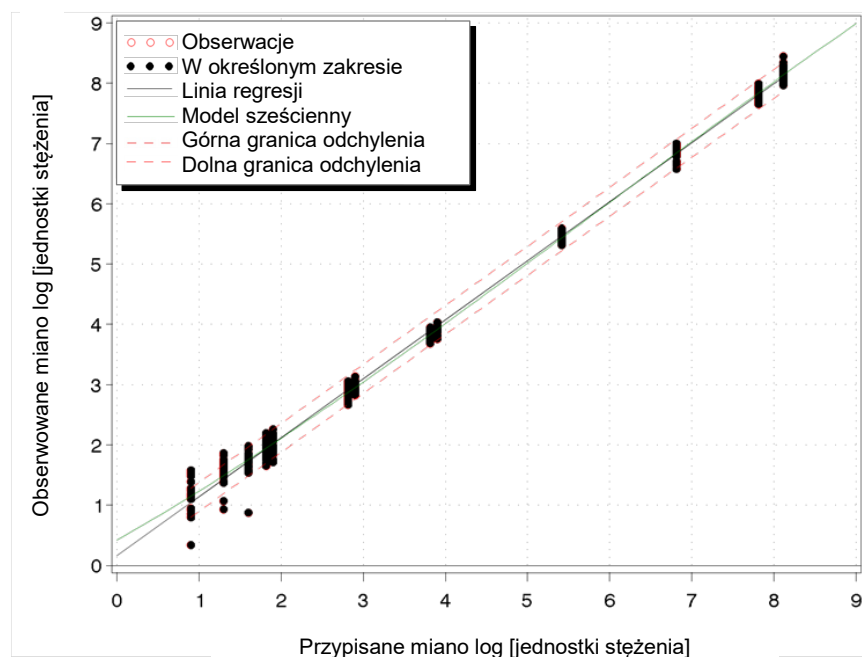
Podczas użycia objętości jednostki 200 µl test **cobas**® HCV ma przebieg liniowy dla osocza pobranego na EDTA i surowicy od 25 IU/ml do 1,0E+08 IU/ml i wykazuje maksymalne odchylenie od lepiej pasującej regresji nieliniowej poniżej $\pm 0,09 \log_{10}$. W zakresie liniowym dokładność testu mieściła się w granicach $\pm 0,20 \log_{10}$ dla osocza pobranego na EDTA i w granicach $\pm 0,25 \log_{10}$ dla surowicy.

Reprezentatywne wyniki zamieszczono na Rysunek 2 do Rysunek 5

Rysunek 2: Liniowość w osoczu pobranym na EDTA (400 µl)



Rysunek 3: Liniowość w surowicy (400 µl)**Rysunek 4:** Liniowość w osoczu pobranym na EDTA (200 µl)

Rysunek 5: Liniowość w surowicy (200 µl)

Dokładność wewnątrz laboratorium

Dokładność testu **cobas®** HCV określono na podstawie analizy serii rozcieńczeń próbek klinicznych (CS) zawierających HCV (genotyp 1a) lub Armored RNA HCV (arRNA), przygotowanych w HCV-ujemnym ludzkim osoczu pobranym na EDTA i surowicy. Pięć poziomów rozcieńczeń zbadano w 72 powtórzeniach dla każdego poziomu, matrycy i objętości próbki procesowanej w trzech seriach odczynników testu **cobas®** HCV przy użyciu dwóch aparatów oraz trzech operatorów przez 12 dni. Każda próbka przechodziła całą procedurę testu **cobas®** HCV na systemie **cobas®** 4800. Dlatego podana dokładność odzwierciedla wszystkie aspekty procedury badawczej. Wyniki zamieszczono w tabelach od Tabela 8 do Tabela 11.

Test **cobas®** HCV wykazał wysoką dokładność w trzech seriach odczynników badanych w zakresach stężeń od $1,0\text{E}+03$ IU/ml do $1,0\text{E}+08$ IU/ml przy objętościach przetwarzania 200 µl i 400 µl.

Tabela 8: Wewnątrzlaboratoryjna dokładność testu **cobas®** HCV (próbki osocza pobranego na EDTA — objętość przetwarzania wynosząca 400 µl)*

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie przypisane (IU/ml)	Materiał źródłowy	Osocze pobrane na EDTA			
			Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie serie
			SD	SD	SD	Pulowane SD
$1,0\text{E}+08$	$8,5\text{E}+07$	arRNA	0,05	0,06	0,05	0,06
$1,0\text{E}+07$	$8,5\text{E}+06$	arRNA	0,06	0,06	0,06	0,06
$4,0\text{E}+05$	$3,4\text{E}+05$	arRNA	0,06	0,05	0,06	0,06
$1,0\text{E}+04$	$9,9\text{E}+03$	CS	0,10	0,10	0,10	0,10
$1,0\text{E}+03$	$9,9\text{E}+02$	CS	0,09	0,08	0,07	0,08

* Uważa się, iż wartości miana mają charakter rozkładu logarytmiczno-normalnego i są analizowane po zamianie na $\log_{10}$. Kolumny odchylenia standardowego (SD) przedstawiają całkowite przekształcone logarytmicznie miano dla każdej z trzech serii odczynników.

Tabela 9: Wewnątrzlaboratoryjna dokładność testu cobas® HCV (próbki surowicy — objętość przetwarzania wynosząca 400 µl)*

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie przypisane (IU/ml)	Materiał źródłowy	Surowica			
			Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie serie
			SD	SD	SD	Pulowane SD
1,0E+08	6,5E+07	arRNA	0,07	0,12	0,14	0,12
1,0E+07	6,5E+06	arRNA	0,07	0,07	0,09	0,08
4,0E+05	2,6E+05	arRNA	0,07	0,06	0,07	0,07
1,0E+04	7,9E+03	CS	0,07	0,05	0,08	0,07
1,0E+03	7,9E+02	CS	0,07	0,05	0,06	0,06

* Uważa się, iż wartości miana mają charakter rozkładu logarytmiczno-normalnego i są analizowane po zamianie na $\log_{10}$. Kolumny odchylenia standardowego (SD) przedstawiają całkowite przekształcone logarytmicznie miano dla każdej z trzech serii odczytników.

Tabela 10: Wewnątrzlaboratoryjna dokładność testu cobas® HCV (Osocze pobrane na EDTA — objętość przetwarzania wynosząca 200 µl)*

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie przypisane (IU/ml)	Materiał źródłowy	Osocze pobrane na EDTA			
			Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie serie
			SD	SD	SD	Pulowane SD
1,0E+08	8,5E+07	arRNA	0,07	0,09	0,06	0,07
1,0E+07	8,5E+06	arRNA	0,05	0,05	0,05	0,05
4,0E+05	3,4E+05	arRNA	0,04	0,05	0,07	0,05
1,0E+04	9,9E+03	CS	0,06	0,06	0,07	0,06
1,0E+03	9,9E+02	CS	0,06	0,07	0,05	0,06

* Uważa się, iż wartości miana mają charakter rozkładu logarytmiczno-normalnego i są analizowane po zamianie na $\log_{10}$. Kolumny odchylenia standardowego (SD) przedstawiają całkowite przekształcone logarytmicznie miano dla każdej z trzech serii odczytników.

Tabela 11: Wewnątrzlaboratoryjna dokładność testu cobas® HCV (surowica — objętość przetwarzania wynosząca 200 µl)*

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie przypisane (IU/ml)	Materiał źródłowy	Surowica			
			Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie serie
			SD	SD	SD	Pulowane SD
1,0E+08	6,5E+07	arRNA	0,05	0,06	0,06	0,06
1,0E+07	6,5E+06	arRNA	0,07	0,07	0,05	0,06
4,0E+05	2,6E+05	arRNA	0,08	0,05	0,07	0,07
1,0E+04	7,9E+03	CS	0,04	0,04	0,04	0,04
1,0E+03	7,9E+02	CS	0,04	0,06	0,05	0,05

* Uważa się, iż wartości miana mają charakter rozkładu logarytmiczno-normalnego i są analizowane po zamianie na $\log_{10}$. Kolumny odchylenia standardowego (SD) przedstawiają całkowite przekształcone logarytmicznie miano dla każdej z trzech serii odczytników.

Weryfikacja genotypu

Wydajność testu **cobas® HCV** na genotypach HCV oceniano na podstawie:

- Weryfikacji granicy wykrywalności dla genotypów od 1b do 6
- Weryfikacji liniowości dla genotypów od 1b do 6
- Oznaczenia miana wykonano testem **cobas® HCV**.

Weryfikacja granicy wykrywalności dla genotypów od 1b do 6

Próbki kliniczne RNA HCV dla sześciu różnych genotypów (1b, 2, 3, 4, 5, 6) rozcieńczono w osoczu pobranym na EDTA i surowicy do stężenia LOD dla dominującego genotypu (HCV GT 1a) w osoczu pobranym na EDTA na podstawie analizy LoD 95% trafień (15,0 IU/ml). Analizę trafień wykonano na 42 powtórzeniach dla każdego genotypu i matrycy próbki. Wyniki te wskazują, że test **cobas® HCV** wykrywał HCV dla genotypów HCV 1b, 2, 3, 4, 5 i 6 w stężeniu wynoszącym 15 IU/ml z górną granicą jednostronnego 95% przedziału ufności, która jest większa niż oczekiwany odsetek trafień 95%.

Tabela 12: Weryfikacja LoD dla genotypów HCV 1b-6 w 400 µl osocza pobranego na EDTA

Genotyp	Odsetek trafień	Górna granica jednostronnego 95% przedziału ufności
GT 1b	95,2%	99,1%
GT 2	100,0%	100,0%
GT 3	100,0%	100,0%
GT 4	100,0%	100,0%
GT 5	100,0%	100,0%
GT 6	97,6%	99,9%

Tabela 13: Weryfikacja LoD dla genotypów HCV 1b-6 w 400 µl surowicy

Genotyp	Odsetek trafień	Górna granica jednostronnego 95% przedziału ufności
GT 1b	100,0%	100,0%
GT 2	100,0%	100,0%
GT 3	100,0%	100,0%
GT 4	100,0%	100,0%
GT 5	100,0%	100,0%
GT 6	100,0%	100,0%

Weryfikacja zakresu liniowego dla genotypów od 1b do 6

Rozcieńczenia seryjne stosowane podczas weryfikacji badania liniowości genotypów testu **cobas®** HCV zawierają dziewięć elementów panelu rozciągającego się na zamierzony zakres liniowy. Elementy panelu o najwyższym mianie zostały przygotowane z arRNA o wysokim mianie dostępnym na rynku, a elementy panelu o najniższym mianie zostały przygotowane z próbek klinicznych (CS) o wysokim mianie. Panel liniowości opracowano, aby między dwoma źródłami materiałów występowało minimalne nałożenie około $2 \log_{10}$. Zakres liniowy testu **cobas®** HCV rozciąga się od LLoQ (15,0 IU/ml dla objętości jednostki 400 μ l) do ULoQ ($1,0 \times 10^8$ IU/ml) i obejmuje co najmniej dwa kluczowe punkty decyzji medycznych. W osoczu pobranym na EDTA testowano dwanaście powtórzeń na poziom.

Zakres liniowy testu **cobas®** HCV zweryfikowano dla wszystkich sześciu genotypów (1b, 2, 3, 4, 5 i 6). Maksymalne odchylenie między regresją liniową oraz lepiej pasującą regresją nieliniową było równe lub mniejsze niż $0,14 \log_{10}$.

Swoistość

Swoistość testu **cobas®** HCV określono na podstawie analizy próbek HCV-ujemnego osocza pobranego na EDTA i surowicy od indywidualnych dawców. Sześćset dwanaście pojedynczych próbek osocza pobranego na EDTA i 613 pojedynczych próbek surowicy (w sumie 1225 wyników) było badanych na trzech seriach odczytników **cobas®** HCV. Sześćset dziewięć próbek osocza pobranego na EDTA i 613 próbek surowicy było ujemne pod kątem RNA HCV. W panelu testowym swoistość testu **cobas®** HCV wynosiła 99,5% dla osocza (95% przedział ufności: $\geq 98,7\%$) oraz 100,0% (95% przedział ufności: $\geq 99,5\%$) dla surowicy.

Swoistość analityczna

Swoistość analityczna testu **cobas®** HCV była oceniana w panelu rozcieńczeń patogenów (Tabela 14) dodatnich dla RNA HCV i ujemnych dla RNA HCV w osoczu pobranym na EDTA. Patogeny dodawano do ujemnego osocza pobranego na EDTA i testowano je z i bez RNA HCV. W teście **cobas®** HCV wyniki ujemne uzyskano dla wszystkich próbek patogenów bez docelowego HCV, a wyniki dodatnie uzyskano dla wszystkich próbek patogenów z docelowym HCV. Ponadto średni $\log_{10}$ miana każdej próbki dodatniej pod względem HCV zawierającej potencjalnie reagujący krzyżowo mikroorganizm mieścił się w granicach $\pm 0,09 \log_{10}$ średniego $\log_{10}$ miana odpowiedniej dodanej dodatniej kontroli.

Tabela 14: Patogeny testowane pod kątem reakcji krzyżowej

Wirusy		Bakterie	Drożdżaki
Adenowirus typ 5	Wirus Herpes simplex typu 1 i 2	<i>Propionibacterium acnes</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Wirus cytomegalii	Wirus brodawczaka ludzkiego		
Wirus gorączki Denga typu 1, 2, 3 i 4	Wirus grypy typu A		
Wirus Epsteina-Barr	Wirus zapalenia mózgu z doliny Murray		
Wirus kleszczowego zapalenia mózgu (szczep HYPR)	Wirus zapalenia mózgu z St. Louis		
Wirus zapalenia wątroby typu A	Wirus ospy wietrznej-półpaśca		
Wirus zapalenia wątroby typu B	Wirus gorączki Zachodniego Nilu		
Ludzki wirus upośledzenia odporności-1	Wirus żółtej gorączki		
Ludzki wirus T-limfotropowy typu 1 i 2	Wirus Zika		
Ludzki wirus opryszczki typu 6			

Swoistość analityczna — substancje wpływające na wynik testu

Podwyższone poziomy trójglicerydów (27,9–29,0 g/l), sprzężonej bilirubiny (0,18–0,22 g/l), niesprężonej bilirubiny (0,19–0,2 g/l), albuminy (57,8–60,6 g/l), hemoglobiny (1,8–2,3 g/l) i ludzkiego DNA (2 mg/l) w próbkach badano z i bez RNA HCV. Testowane substancje nie zakłócały działania testu **cobas®** HCV. Ponadto badano test w obecności markerów immunologicznych toczenia rumieniowatego układowego (SLE), reumatoidalnego zapalenia stawów (RA) oraz przeciwciał przeciwjądrowych (ANA).

Dodatkowo składniki leków wymienione w Tabeli 15 badano trzy razy w C_{max} z i bez RNA HCV.

Żadna z potencjalnie zakłócających substancji nie wykazywała interferencji z testem. W teście **cobas®** HCV wyniki ujemne uzyskano dla wszystkich próbek bez docelowego HCV, a wyniki dodatnie uzyskano dla wszystkich próbek z docelowym HCV. Ponadto średni $\log_{10}$ miana każdej próbki dodatniej pod względem HCV zawierającej potencjalnie interferujące substancje mieścił się w granicach $\pm 0,04 \log_{10}$ średniego $\log_{10}$ miana odpowiedniej dodanej dodatniej kontroli.

Tabela 15: Składniki leków badane pod kątem interferencji z ilościowym oznaczeniem RNA HCV w teście cobas® HCV

Klasa leku	Nazwa własna leku	
Immunomodulatory	Peginterferon α -2a	Rybawiryna
	Peginterferon α -2b	
Inhibitor wejścia HIV	Marawirok	
Inhibitory integrazy HIV	Elwitegrawir/Kobicistat	Raltegrawir
Nienukleozydowe inhibitory odwrotnej transkryptazy HIV	Efawirenz	Newirapina
	Etrawiryna	Rilpiwiryna
Inhibitory proteazy HIV	Atazanawir	Nelfinawir
	Darunawir	Ritonawir
	Fosamprenawir	Sakwinawir
	Lopinawir	Tipranawir
Inhibitory proteazy HCV	Boceprewir	Telaprewir
	Simeprewir	
Inhibitory odwrotnej transkryptazy lub polimerazy DNA	Abakawir	Gancyklowir
	Acyklowir	Lamiwudyna
	Dipiwoksyl adefowiru	Sofosbuwir
	Cidofowir	Telbiwudyna
	Emtrycytabina	Tenofowir
	Entekawir	Valgancyklowir
	Foskarnet	Zydowudyna
Preparaty do leczenia zakażeń oportunistycznych	Azytromycyna	Pirazynamid
	Klarytromycyna	Rifabutyna
	Etambutol	Rifampicyna
	Flukonazol	Sulfametoksazol
	Izoniazyd	Trimetoprim

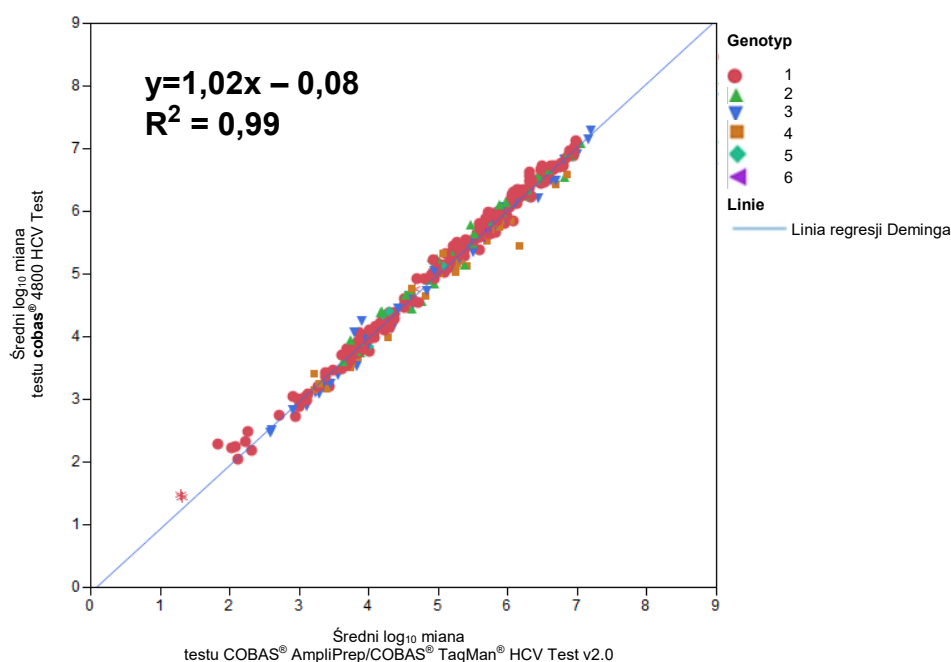
Korelacja metody

Ocena działania testu cobas® HCV w porównaniu z testem COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative Test, v2.0

Działanie testu **cobas®** HCV i testu COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative Test, v2.0 (TaqMan® HCV Test, v2.0) było porównywane podczas analizy próbek surowicy i osocza pobranego na EDTA od osób zakażonych HCV. W sumie 176 próbek osocza pobranego na EDTA i 176 próbek surowicy dla wszystkich genotypów HCV uzyskało wynik ważny w przeprowadzonej podwójnie analizie i znalazło się w zakresie oznaczalności obu testów. Przeprowadzono analizę regresji Deminga. Średnie odchylenie miana próbek badanych dwoma testami wynosiło 0,0 log₁₀ (95% przedział ufności: –0,01; 0,01).

Rysunek 6 zawiera wyniki regresji Deminga. Symbol * na rysunkach oznacza pojedyncze oznaczenie. Kolorem oznaczono dany genotyp.

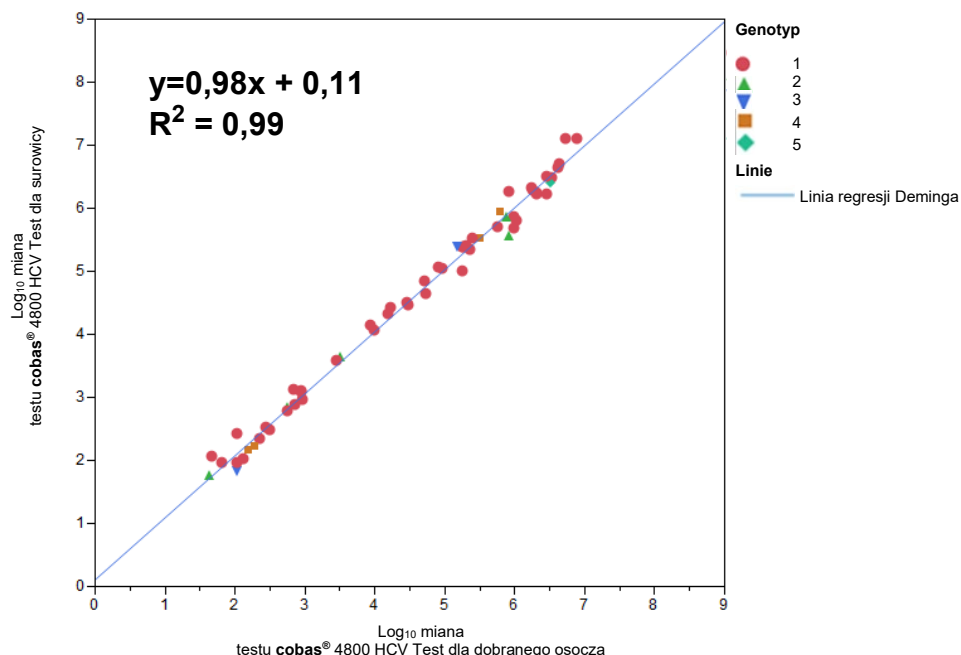
Rysunek 6: Analiza regresji dla testów **cobas®** HCV vs TaqMan® HCV Test, v2.0, próbki osocza pobranego na EDTA i surowicy



Równoważność matrycy — osocze pobrane na EDTA i surowice

Sto czternaściesparowanych próbek osocza pobranego na EDTA i surowicy zostało zbadanych pod kątem równoważności matrycy. Spośród tych, 59 sparowanych próbek było próbkami HCV-dodatnimi. Próbki HCV-dodatnie obejmowały genotypy od 1 do 5 w zakresie liniowym.

Średnie odchylenie miana dla odpowiadających sobie próbek osocza pobranego na EDTA i surowicy wynosiło 0,04 log₁₀ (95% przedział ufności: 0,00; 0,08) (Rysunek 7).

Rysunek 7: Równoważność matrycy dotycząca działania z osoczem pobranym na EDTA i surowicą

Błąd całego systemu

Częstotliwość błędu całego systemu dla testu **cobas®** HCV określono badając 100 powtórzeń osocza EDTA z dodanym docelowym HCV. Próbkę te były testowane przy stężeniu docelowym wynoszącym około $3 \times \text{LLoQ}$ (45,0 IU/ml).

Wyniki tego badania wykazały, że we wszystkich powtórzeniach stwierdzono ważność i reaktywność względem HCV, co dało częstość występowania błędu systemowego na poziomie 0,0%. Dolna granica dwustronnego 95% dokładnego przedziału ufności wyniosła 0,0%, a górna 3,6% [0,0%: 3,6%].

Zanieczyszczenie pomiędzy próbkami

Częstość występowania zanieczyszczenia krzyżowego pomiędzy próbkami w teście **cobas®** HCV określono przez oznaczenie 230 powtórzeń próbek HCV-ujemnych osocza pobranego na EDTA i 235 powtórzeń wysokiego miana HCV na poziomie $1,8 \times 10^8$ IU/ml. Łącznie wykonano pięć przebiegów z użyciem próbek dodatnich i ujemnych w układzie naprzemiennym.

Dwieście dwadzieścia dziewięć z 230 powtórzeń ujemnych próbek było ważnych i dało wynik ujemny, z czego wynikała częstość skażenia wynosząca 0,0% z jednostronnym 95% przedziałem ufności wynoszącym 1,3%.

Dodatkowe informacje

Najważniejsze cechy testu

Rodzaj próbki	Próbki osocza pobranego na EDTA, surowicy
Objętość przetwarzania próbki	400 µl lub 200 µl
Czułość analityczna	9,2 IU/ml (400 µl) 15,3 IU/ml (200 µl)
Zakres liniowości	400 µl: 15,0 IU/ml – 1,0E+08 IU/ml 200 µl: 25,0 IU/ml – 1,0E+08 IU/ml
Swoistość	99,5% (jednostronny 95% przedział ufności: 98,7%)
Wykrywane genotypy	Genotypy 1–6 HCV

Oznaczenia

Na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR stosuje się następujące oznaczenia.

Tabela 16: Oznaczenia stosowane na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR

Age/DOB Wiek lub data urodzenia	 Wyrób nieprzeznaczony do testów przy pacjencie	QS IU/PCR IU QS na reakcję PCR, użyć jednostek międzynarodowych (IU) QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.
 Oprogramowanie pomocnicze	 Wyrób nieprzeznaczony do samodzielnego testowania	SN Numer seryjny
Assigned Range [copies/mL] Przypisany zakres (kopie/ml)	 Dystrybutor (Uwaga: pod symbolem może być wskazany właściwy kraj/region.)	Site Ośrodek
Assigned Range [IU/mL] Przypisany zakres (IU/ml)	 Nie używać повторно	Procedure Standard Procedura standardowa
EC REP Autoryzowany Przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej	 Kobieta	STERILE EO Produkt sterylizowany tlenkiem etylenu
BARCODE Arkusz kodów kreskowych	 Wyłącznie do oceny działania w badaniach IVD	 Przechowywać z dala od światła
LOT Kod partii	GTIN Numer globalny jednostki handlowej	 Przestrzegać zakresu temperatury
 Zagrożenie biologiczne	 Importer	 Plik definicji testów
REF Numer katalogowy	IVD Wyrób do diagnostyki <i>in vitro</i>	 Tą stroną do góry
 Oznaczenie zgodności CE — wyrób ten jest zgodny z obowiązującymi wymogami dotyczącymi oznaczenia CE dla wyrobu medycznego do diagnostyki <i>in vitro</i>	LLR Dolna granica przypisanego zakresu	Procedure UltraSensitive Procedura ultraczulą
Collect Date Data pobrania	 Mężczyzna	UDI Niepowtarzalny kod identyfikacyjny wyrobu
 Sprawdź w instrukcji użytkowania	 Wytwórca	ULR Górna granica przypisanego zakresu
 Zawartość wystarczająca na <n> testów	CONTROL - Kontrola ujemna	Urine Fill Line Linia napełniania moczem
CONTENT Zawartość zestawu	 Wyrób niejałowy	Rx Only Tylko Stany Zjednoczone: prawo federalne zezwala na sprzedaż tego wyrobu wyłącznie lekarzowi lub na zamówienie takiego lekarza.
CONTROL Próba kontrolna	 Nazwisko pacjenta	 Termin przydatności
 Data produkcji	 Numer pacjenta	
 Wyrób do testów przy pacjencie	 Rozerwać tutaj	
 Wyrób do samodzielnego testowania	CONTROL + Kontrola dodatnia	
	QS copies / PCR Kopie QS na reakcję PCR, użyć kopii QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.	

Pomoc techniczna

W celu uzyskania wsparcia technicznego (pomocy) należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Wytwórca

Tabela 17: Wytwórca



Wyprodukowano w Stanach Zjednoczonych

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

Wyprodukowano w Stanach Zjednoczonych

Znaki towarowe i patenty

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

Prawo autorskie

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



0123



Piśmiennictwo

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

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

Wersja dokumentu

Informacje dotyczące wersji dokumentu	
Doc Rev. 7.0 02/2024	Informacje dotyczące zagrożeń związanych z zestawami Lysis Kit 2 zostały zaktualizowane. Zaktualizowano stronę z ujednoliconymi symbolami. Dodano część Pomoc techniczna. Zaktualizowano sekcję Znaki towarowe i patenty oraz link. Zaktualizowano do aktualnych podmiotów gospodarczych. Dodano deklarację „Wyprodukowano w”. Zaktualizowano zapis marki cobas®. Dodano symbol „Rx Only”. W razie jakichkolwiek pytań prosimy o kontakt z lokalnym przedstawicielem Roche.
Doc Rev. 8.0 08/2024	Usunięto symbol „Rx Only” z pierwszej strony. Zaktualizowano informacje dotyczące zagrożeń ze strony zestawów Wash Buffer Kit. Zaktualizowano stronę z ujednoliconymi symbolami. W razie jakichkolwiek pytań prosimy o kontakt z lokalnym przedstawicielem Roche.