

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, version 2.0

cobas®

IN VITRO DIAGNOSZTIKAI CÉLRA.

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV
Qualitative Test, v2.0

HCVQLV2

72 Tests

P/N: 05480477 190

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®
Wash Reagent

PG WR

5.1 Liters

P/N: 03587797 190

Tartalomjegyzék

FELHASZNÁLÁS MÓDJA	1
A VIZSGÁLAT ÖSSZEGZÉSE ÉS MAGYARÁZATA	2
AZ ELJÁRÁS ALAPELVEI	2
REAGENSEK	4
FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ELJÁRÁSSAL KAPCSOLATOS ÖVINTÉZKEDÉSEK	6
TÁROLÁSI ÉS KEZELÉSI KÖVETELMÉNYEK	7
A KÉSZLET TARTALMA	7
SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT ANYAGOK	8
A MINTA LEVÉTELE, TRANSPORTJA ÉS TÁROLÁSA	9
HASZNÁLATI UTASÍTÁS	9
MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS	12
EREDMÉNYEK	13
ELJÁRÁSSAL KAPCSOLATOS KORLÁTOZÁSOK	14
ZAVARÁST OKOZÓ ANYAGOK	15
NEM KLINIKAI ÉRTÉKELÉS	15
HIVATKOZÁSOK	21

FELHASZNÁLÁS MÓDJA

A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 egy kvalitatív *in vitro* nukleinsav-amplifikációs vizsgálat a hepatitisz C vírus (HCV) RNS 1-6 genotípus kimutatására EDTA-s plazmában vagy szérumban, a COBAS® AmpliPrep automatizált minta-feldolgozó készülék és a COBAS® TaqMan® analízátor, illetve a COBAS® TaqMan® 48 analízátor automatizált amplifikáló és mérőberendezések segítségével. A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 olyan betegek számára indikált, akik klinikailag és/vagy biokémiailag igazolt májbetegség és antitest-pozitivitással igazolt HCV-fertőzöttek, és akik gyanúsak aktív HCV-fertőzésre. A vizsgálat használható antitest-pozitív minták megerősítésére. A HCV RNS kimutatása jelzi a vírusreplikációt, így módon igazolja az aktív fertőzést.

A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 nem való vér vagy vérvérvételmentes HCV-fertőzöttségének szűrésére.

A VIZSGÁLAT ÖSSZEGZÉSE ÉS MAGYARÁZATA

A hepatitis C vírus a poszttranszfúziós hepatitis esetek 90-95%-áért felelőssé tehető elsőrendű kóroki ágens¹⁻⁴. A HCV egyszálú, pozitív RNS-t tartalmazó vírus, amelynek genomja mintegy 3000 aminosavat kódoló megközelítően 9500 nukleotidot tartalmaz. Mint vérrrel terjedő vírus, a HCV vérről és vérkészítményekkel átvihető. A vér HCV-szűrővizsgálatának széles körű elfogadása jelentősen csökkentette a transzfúzióval kapcsolatos hepatitis kockázatát. A HCV-fertőzés gyakorisága az intravénás kábítószer-használattal kapcsolatosan a legnagyobb, és kisebb mértékű egyéb percutan expozíciókkal kapcsolatosan⁴. Immunszerológiai vizsgálatok alapján a HCV-fertőzés globális elterjedtsége Kanadában 0,6%, Japánban 1,5%³. A vírus spontán eltűnésének aránya a fertőzésnek kitett személyekben igen nagy eltérést mutat; irodalmi adatok szerint 10 és 60% közé esik klinikailag a májenzimek normalizálódása és a plazma HCV RNS kiürülése⁵.

Fertőzött vérmintákból a HCV víruspartikulumok nem tenyésztethetők ki; emiatt a HCV-fertőzött betegekben az anti-HCV antitestek jelenléte ezekre az ellenanyagokra specifikus immunszerológiai vizsgálatok kifejlesztéséhez vezetett. Ugyanakkor, bár az anti-HCV antitestek jelenléte jelzi a korábbi HCV-fertőzést, aktuális fertőzés markereként nem használható. Az alanin-aminotranszferáz-szintek (ALT) mérése a HCV-fertőzés helyettes indikátorának tekinthető, de az nem a vírus jelenlétének közvetlen mérése.

Ugyanakkor a HCV RNS kimutatása nukleinsav-vizsgálatokkal igazolhatja a zajló fertőzést. Nukleinsav-vizsgálatok alkalmazásával lehetőség van az immunológiai szerokonverziót megelőző HCV vírus kimutatására^{6,7}. Mivel a nukleinsav-vizsgálatok képesek a HCV RNS direkt kimutatására, azaz nem függenek a beteg immunológiai státuszától, ezért egy nukleinsav-vizsgálat alkalmas a HCV RNS kimutatására immunkompromittált betegekben is⁸.

AZ ELJÁRÁS ALAPELVEI

A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 egy nukleinsav-amplifikációs vizsgálat a hepatitis C vírus (HCV) RNS kimutatására humán szérumban vagy EDTA-s plazmában. A vizsgálat az automatizált mintafeldolgozásra COBAS® AmpliPrep készüléket, az automatizált amplifikálásra és detektálásra COBAS® TaqMan® Analizátort vagy COBAS® TaqMan® 48 Analizátort használ.

A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 három fő eljárásról alapul: (1) minta-előkészítés a HCV RNS izolálására, (2) komplementer DNS (cDNS) előállítás a target RNS reverz transzkripciójával, és (3) a target cDNS PCR-amplifikációja és a hasított, kettősen jelölt targetspecifikus oligonukleotid kimutatási próbák szimultán kimutatása.

Minta előkészítése

A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 automatikus minta-előkészítést alkalmaz a COBAS® AmpliPrep készülék segítségével egy generikus szilikon-alapú capture technika révén. A minta beviteli térfogata 650 µl, bár az eljárás során 500 µl EDTA-s plazma vagy szérum feldolgozása történik. A HCV-víruspartikulumokat magas hőmérsékleten való inkubálás során roncsolják egy proteáz és egy olyan chaotrop roncsoló/kötő puffer segítségével, amely szabaddá teszi a nukleinsavakat, és megvédi a szabaddá tett HCV RNS-t a szérumban vagy az EDTA-s plazmában lévő RNázoktól. Proteáz és ismert számú HCV belső kontroll (IC) RNS-molekula kerül bejuttatásra minden egyes mintába a roncsoló reagenssel és mágneses üvegpartikulumokkal együtt. Ezt követően az elegy inkubálódik, és a HCV RNS és HCV IC RNS a mágneses üvegpartikulumok felületéhez kötődik. A nem kötődött anyagok, mint sók, fehérjék és egyéb szennyeződések a mágneses üvegpartikulumok mosásával kerülnek eltávolításra. A gyöngyök szeparálását és a mosási lépések befejezését követően az adszorbeált nukleinsavakat magas hőmérsékleten vizes oldattal eluálják. A szabaddá tett HCV RNS-t és HCV IC RNS-t tartalmazó feldolgozott mintákat az amplifikációhoz elegyhez kell adni, és a COBAS® TaqMan® analízatorba, illetve a COBAS® TaqMan® 48 analízatorba kell helyezni.

Reverz transzkripció és PCR-amplifikálás

A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 a HCV RNS-hez reverz transzkripcióval komplementer DNS-t (cDNS) szintetizál, és a cDNS PCR-amplifikációjához olyan primereket használ, amelyek megfelelnek a HCV-genom 5'-nem átlírt szakaszán [untranslated region (UTR)] található nagy fokban konzervált régió egy szekvenciájának⁹. A primerek nukleotid szekvenciáját úgy optimalizálták, hogy biztosítsa a HCV 1-6 genotípusok összemérhető amplifikálását. A reverz transzkripciót és PCR-amplifikálási reakciót hőstabil rekombináns enzimek, Z05 és Z05D DNS polimerázok optimalizált keverékével végzik. Mangán (Mn²⁺) jelenlétében, valamint megfelelő pufferviszonyok között a Z05 és Z05D mind reverz transzkriptáz, mind DNS-polimeráz aktivitással rendelkezik. Ez lehetővé teszi, hogy mind a reverz transzkripció, mind a PCR-amplifikáció az amplikon valós idejű detektálásával együtt történjen.

A feldolgozott mintákat amplifikációs csövekben (K-csövek) lévő amplifikáló keverékhez adják, ahol mind a reverz transzkripció, mind a PCR-amplifikálás megtörténik. A reakcióelegyet fel kell hevíteni, hogy lehetővé váljon egy downstream primernek a HCV target RNS-hez és a HCV IC RNS-hez való specifikus kapcsolódása. Mn²⁺ és deoxinukleotid-trifoszfátok (dNTPs), azaz deoxiadenezin-, deoxiguanozin-, deoxicitidin- és deoxiuridin-trifoszfátok feleslegének jelenlétében a Z05 és Z05D polimerázok a kapcsolódott primerhez a target RNS-sel komplementer cDNS-szálat szintetizálnak.

Targetamplifikálás

A HCV target RNS és a HCV IC RNS reverz transzkripcióját követően a reakcióelegyet az RNS:cDNS hibrid denaturálása és a specifikus primer targetszekvenciák szabadabb tétele végett a COBAS® TaqMan® analizátor vagy a COBAS® TaqMan® 48 analizátor PCR-készüléke felhevíti. Az elegy kihűlésével a primerek a target cDNS-hez kapcsolódnak. A hőstabil DNS-polimerázok (Z05 és Z05D) Mn²⁺ és feleslegben lévő deoxinukleotid-trifoszfátok (dNTP-k) jelenlétében a kötött primereket a targettemplát mentén meghosszabbítva egy kettős szálú DNS molekulát szintetizálnak, amelyet amplikonnak neveznek. A COBAS® TaqMan® analizátor, illetve a COBAS® TaqMan® 48 analizátor adott számú cikluson keresztül automatikusan ismétli ezt a folyamatot, amelynek célja, hogy az amplikon DNS-mennyiségét ciklusonként megduplázza. A szükséges számú ciklus a COBAS® TaqMan® analizátorba, illetve a COBAS® TaqMan® 48 analizátorba előre be van programozva. Az amplifikálás a HCV-genomnak csak a primerek közötti régiójában zajlik; a teljes HCV-genom nem amplifikálódik.

Szelektív amplifikálás

A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 a target-nukleinsav szelektív amplifikálását a mintából az AmpErase (uracil-N-glikoziláz) enzim és deoxiuridin-trifoszfát (dUTP) használatával éri el. Az AmpErase enzim felismeri és katalizálja az olyan DNS-szálak megsemmisítését, amelyek deoxiuridint tartalmaznak¹⁰, a deoxitimidint tartalmazókat viszont nem. A deoxiuridin a természetes DNS-ben nincs jelen, ugyanakkor az amplikonban mindig megtalálható, miután a master mix reagens a dNTP-k egyikeként deoxiuridin-trifoszfátot használ; tehát csak az amplikon tartalmaz deoxiuridint. A deoxiuridinnak köszönhetően a szennyező amplikont az AmpErase enzim még a target DNS amplifikálását megelőzően lebontja. Bármilyen nem specifikus termék, amely a master mix kezdeti mangán okozta aktiválódása után képződik, az AmpErase enzim ugyancsak lebont. A master mix reagensben lévő AmpErase enzim katalizálja a deoxiuridint tartalmazó DNS hasítását a deoxiuridin-csoportoknál úgy, hogy a deoxiribózlánc felnyílását okozza a C1 helyen. Az első hevítési lépésben az amplikon DNS-lánc eltörik a deoxiuridin helyén, tehát a DNS nem lesz amplifikálható. Az AmpErase enzim hosszabb ideig inaktív marad, ha egyszer 55 °C feletti hőmérsékletnek lett kitéve, azaz a hevítési lépések ideje alatt, ezért nem bontja le a PCR-reakció során keletkezett targetamplikont.

Hasított, kettősen jelölt próbák és HCV RNS kimutatása

A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 valós idejű^{14,15} PCR-technológiát alkalmaz. A kettősen jelölt fluoreszcens próbák használata lehetővé teszi a PCR-termék halmazódásának valós idejű detektálását az amplifikálási folyamat során felszabaduló fluoreszcens jelzőfestékek emissziós intenzitásának monitorozása révén. A HCV- és HCV IC-specifikus oligonukleotidokból álló próbák egy jelző (reporter) és egy blokkoló (quencher) festékkel jelöltek. A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 során a HCV és HCV IC próbák különböző fluoreszcens jelző festékkel vannak jelölve. Amikor ezek a próbák érintetlenek, a jelzőfesték fluoreszcenciája Förster-típusú energiatranszfer-effektus révén gátolt a blokkoló festék közelsége miatt. PCR során a próba hibridizál egy target szekvenciával, és az 5' → 3' nukleáz aktivitású hőstabil Z05 és Z05D DNS polimerázok hasítják. Ha egyszer a jelző- és blokkolófestékek felszabadulnak és különválnak, megszűnik a blokkolás, és a jelzőfesték fluoreszcens aktivitása megnő. A HCV RNS és a HCV IC RNS amplifikációja egymástól függetlenül, különböző hullámhosszokon van mérve. Ez a folyamat adott számú cikluson keresztül ismétlődik, minden egyes ciklusban jelentősen növekedik az adott jelzőfestékek emissziós intenzitása, ezáltal lehetővé téve a HCV RNS és HCV IC RNS független azonosítását.

A nukleinsav-amplifikálási eljárások során a mintákban gátlóanyagok lehetnek jelen, amelyek csökkenthetik a hatékonyságot. A HCV IC azért lett hozzáadva a COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 vizsgálathoz, hogy lehetővé váljon az olyan feldolgozott minták azonosítása is, amelyekben esetleg a PCR-amplifikációt zavaró anyagok vannak jelen. A HCV IC egy nem fertőző armored RNS (aRNS) konstrukció, amely a HCV target RNS-sel és egy a HCV IC amplikon és a HCV-targetamplikon megkülönböztetését lehetővé tevő egyedi próbához kötődő régióval identikus primer kötő helyekkel bíró HCV-szekvencia fragmentumokat tartalmaz. Extrahálási és amplifikálási kontrollként szolgál minden önállóan feldolgozott mintához.

A COBAS® TaqMan® analízátor, illetve a COBAS® TaqMan® 48 analízátor a PCR extenziós fázisa során a mintákat szűrő fényvel világítja meg és gerjeszti, és minden egyes minta szűrő emissziójú fluoreszcencia adatait gyűjti. Ezután a műszer ingadozásai miatt minden egyes minta leolvasási értéke korrigálva lesz. Ezeket a fluoreszcencia leolvasási adatokat a készülék az AMPLILINK szoftverre küldi, és eltárolja egy adatbázisban. Előellenőrzések történnek annak meghatározására, hogy a HCV RNS és HCV IC RNS adatok érvényes adatsorokat mutatnak-e, és az előre megadott határokon kívül eső adatok jelzőket kapnak. Valamennyi előellenőrzés befejezése után a készülék a fluoreszcens leolvasásokat feldolgozza, és kritikus küszöbértékeket hoz létre a HCV RNS és a HCV IC RNS számára. A kiadott eredmény lehet pozitív vagy negatív.

REAGENSEK

**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV
Qualitative Test, v2.0**
(P/N: 05480477 190)

HCVQLV2

72 teszt

HCV QL v2.0 CS1

(HCV mágneses üvegpartikulumok reagenskazetta)

1 x 72 teszt

mágneses üvegpartikulumok

1 x 7,0 ml

Tris puffer

0,09% nátrium-azid

0,1% metilparabén

HCV QL v2.0 CS2

(HCV lízis reagenskazetta)

1 x 72 teszt

nátrium-citrát-dihidrát

1 x 78,0 ml

42,5% guanidin-tiocianát

< 6% polidokanol

0,9% ditiotritol

1 x 72 teszt

HCV QL v2.0 CS3

HCV multireagens kazetta tartalma:

Pase

1 x 3,8 ml

(proteináz oldat)

Tris puffer

< 0,05% EDTA

kalcium-klorid

kalcium-acetát

≤ 7,8% proteináz

glicerín

EB

1 x 8,1 ml

(eluáló puffer)

trisz-bázis puffer

0,09% nátrium-azid

HCV QL v2.0 CS4

1 x 72 teszt

HCV tesztspecifikus reagenskazetta tartalma:

IC

1 x 3,6 ml

(HCV belső kontroll)

Tris puffer

EDTA

< 0,002% poli-rA RNS (szintetikus)

< 0,001% Armored HCV RNS konstrukció, amely HCV primerkötő szekvenciákat és egy egyedi próbához kötődő régiót tartalmaz (nem fertőző RNS MS2 bakteriofágban)

0,05% nátrium-azid

MMX

1 x 3,5 ml

(HCV master mix)

tricin puffer

kálium-acetát

kálium-hidroxid

< 20% dimetil-szulfoxid

glicerín

< 0,004% dATP, dCTP, dGTP, dUTP

< 0,002% upstream és downstream HCV primerek

a HCV 5' UTR régióhoz

< 0,001% fluoreszcensen jelölt oligonukleotid próba, specifikus HCV-re és a HCV belső kontrollra

< 0,001% oligonukleotid aptamer

< 0,05% Z05 és Z05D DNS-polimeráz (mikrobiális)

< 0,1% AmpErase (uracil-N-glikoziláz) enzim (mikrobiális)

0,09% nátrium-azid

Mn²⁺

1 x 19,8 ml

(COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® mangánoldat)

< 0,5% mangán-acetát

jégecet

0,09% nátrium-azid

HCV (+) C, v2.0

6 x 0,85 ml

(HCV pozitív kontroll)

< 0,001% HCV szekvenciákat tartalmazó Armored HCV RNA konstrukció (nem fertőző RNS MS2 bakteriofágban)

Negatív humán plazma, tesztekkel nem reaktív HCV antitestre, HIV-1/2 antitestre, HIV p24 antigénre és HBsAg-re; HIV-1 RNS, HCV RNS és HBV DNS PCR-technikával nem kimutatható

0,1% ProClin® 300 tartósítószer

CTM (-) C

6 x 1,0 ml

[COBAS® TaqMan® negatív kontroll (humán plazma)]

Negatív humán plazma, tesztekkel nem reaktív HCV antitestre, HIV-1/2 antitestre, HIV p24 antigénre és HBsAg-re; HIV-1 RNS, HCV RNS és HBV DNS PCR-technikával nem kimutatható

0,1% ProClin® 300 tartósítószer

HCV (+) C, v2.0 Clip

1 x 6 klipsz

(HCV pozitív kontroll vonalkódklipsz)

HCV (-) C, v2.0 Clip

1 x 6 klipsz

(HCV negatív kontroll vonalkódklipsz)

PG WR

(COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® mosóreagens)
nátrium-citrát-dihidrát
< 0,1% N-metilizotiazolon-HCl

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ELJÁRÁSSAL KAPCSOLATOS ÓVINTÉZKEDÉSEK

Mint minden vizsgálati eljárásnál, a helyes laboratóriumi technika alapvető a vizsgálat megfelelő kivitelezéséhez. A vizsgálat nagy érzékenysége miatt ügyeljen arra, hogy a reagensok és amplifikálási keverékek szennyeződéstől mentesek maradjanak.

A. *IN VITRO* DIAGNOSZTIKAI CÉLRA.

B. Csak humán szérum vagy EDTA-s plazmamintákhoz.

C. Ne pipetázzon szájjal.

D. Ne egyen, igyon vagy dohányozzon a laboratórium területén. Viseljen egyszer használatos védőkesztyűt, laboratóriumi köpenyt és szemvédőt a minták és tesztreagensok kezelése közben. A minták és tesztreagensok kezelését követően gondosan mosson kezet.

E. A kontrollfiolákból való anyagkivétel során kerülje el a reagensok mikrobiális és ribonukleáz-szennyezését.

F. Steril egyszer használatos pipetták és RNáz-mentes pipettahegyek használata javasolt.

G. Ne öntsön össze különböző tételekből, vagy azonos tételből, de különböző fiolákból származó kontrollokat.

H. Ne keverje a különböző készletekből származó kazettákat, illetve kontrollokat.

I. Ne nyissa ki a COBAS® AmpliPrep kazettákat, ne cseréljen ki, ne keverjen össze, ne vegyen ki vagy tegyen be flakonokat.

J. A fel nem használt reagensok, hulladék és minták kezelésének összhangban kell lennie a megfelelő országos, szövetségi, állami és helyi szabályozásokkal.

K. A kitet ne használja a lejáratí ideje után.

L. A biztonsági adatlapok (SDS) igény esetén hozzáférhetőek a helyi Roche irodában.

M. A mintákat és kontrollokat fertőzőként kell kezelni a *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹¹ és az CLSI Document M29-A3¹² előírásoknak megfelelő biztonságos laboratóriumi eljárásokat alkalmazva. Gondosan tisztítson meg, és ioncserélt vagy desztillált vízzel frissen készített 0,5% nátrium-hipoklorit oldattal fertőtlenítsen minden munkaterületet.

N. A **CTM (-) C** és **HCV (+) C, v2.0** emberi vérből származó humán plazmát tartalmaz. A forrásanyag tesztekkel vizsgálva nem bizonyult reaktívnek Hepatitis B felületi antigénre (HBsAg), HIV-1/2 és HCV antitestekre, valamint HIV p24 antigénre. A negatív humán plazma PCR-technikával történő vizsgálata során HIV-1 RNS, HCV RNS vagy HBV DNS nem volt kimutatható. Egyetlen vizsgálati módszer sem nyújthat teljes garanciát arra, hogy a humán vérkészítményekben nincs jelen fertőző anyag. Ezért minden humán eredetű anyag, pl. a **CTM (-) C** és **HCV (+) C, v2.0** potenciálisan fertőzőként kezelendő.

O. A **MGP, EB, IC, Mn²⁺** és **MMX** nátrium-azidot tartalmaz. A nátrium-azid ólom- és rézcsövekkel erősen robbanékony fém-azidokat képezve reakcióba léphet. Amikor nátrium-azid tartalmú oldatokat önt ki a laboratóriumi mosogatóba, az azidlerakódás megakadályozására nagy mennyiségű vízzel öblítse ki a lefolyót.

- P. Viseljen szemvédőt, védőruhát és egyszer használatos védőkesztyűt bármely reagens kezelése közben. Ezen anyagok bőrrel, szemmel és nyálkahártyával való érintkezése kerülendő. Ha mégis előfordul érintkezés, azonnal öblítse le bő vízzel. Ellenkező esetben égető érzés jelentkezhet. Ezen reagensok kiömlése esetén szárazra törles előtt vízzel higítsuk.
- Q. Ügyeljen rá, hogy a **HCV QL v2.0 CS2** és a **COBAS® AmpliPrep** készülékből származó folyékony hulladékok, pl. használt **COBAS® AmpliPrep** mintafeldolgozó egység [Sample Processing Unit (SPU)], amely guanidin-tiocianátot tartalmaz, ne érintkezzen nátrium-hipoklorit (fehérítő) oldattal. Az ilyen keverékekből erősen mérgező gáz fejlődhet.

TÁROLÁSI ÉS KEZELÉSI KÖVETELMÉNYEK

- A. Felhasználás előtt szemrevételezzen minden reagenskazettát és csövet, hogy nem tapasztal-e szivárgásra utaló jeleket. Szivárgás esetén azt az anyagot ne használja fel a vizsgálathoz.
- B. A **HCV QL v2.0 CS1**, **HCV QL v2.0 CS2**, **HCV QL v2.0 CS3** és **HCV QL v2.0 CS4** reageneket 2–8 °C között tárolja. Használaton kívül ezek a reagensok a feltüntetett lejárati időn belül stabilak. Felbontást követően ezek a reagensok 2–8 °C között 70 napig stabilak (vagy a lejárati időig, amelyik előbb következik). A **HCV QL v2.0 CS1**, **HCV QL v2.0 CS2**, **HCV QL v2.0 CS3** és **HCV QL v2.0 CS4** legfeljebb összesen 96 órát tölthet el a **COBAS® AmpliPrep** készülékben. A gépi ciklusok között a reageneket 2–8 °C között tárolja.
- C. A **HCV (+) C, v2.0** és **CTM (–) C** reageneket 2–8 °C között tárolja. A kontrollok a feltüntetett lejárati időn belül stabilak. Felbontást követően a fel nem használt részt ki kell dobni.
- D. A vonalkódklipszetek [**HCV (+) C, v2.0 Clip** és **HCV (–) C, v2.0 Clip**] 2–30 °C között tárolja.
- E. A **PG WR** reagenst 2–30 °C között tárolja. A fel nem használt **PG WR** a feltüntetett lejárati időn belül stabil. Felbontást követően ez a reagens 2–30 °C között 28 napig stabil (vagy a lejárati dátumig, amelyik előbb következik).

A KÉSZLET TARTALMA

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0

HCVQLV2

HCV QL v2.0 CS1

(HCV mágneses üvegpartikulum reagenskazetta)

HCV QL v2.0 CS2

(HCV lízis reagenskazetta)

HCV QL v2.0 CS3

(HCV multireagens kazetta)

HCV QL v2.0 CS4

(HCV tesztspecifikus reagenskazetta)

HCV (+) C, v2.0

(HCV pozitív kontroll)

CTM (–) C

[**COBAS® TaqMan®** negatív kontroll (humán plazma)]

HCV (+) C, v2.0 Clip

(HCV pozitív kontroll vonalkódklipsz)

HCV (–) C, v2.0 Clip

(HCV negatív kontroll vonalkódklipsz)

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Wash Reagent

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® mosóreagens

PG WR

PG WR

(**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®** mosóreagens)

SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT ANYAGOK

Műszerezettség és szoftver

- COBAS® AmpliPrep készülék
- COBAS® TaqMan® Analizátor, illetve COBAS® TaqMan® 48 Analizátor
- Dokkoló állomás (opcionális)
- **cobas p 630** készülék (opcionális)
- AMPLILINK szoftver, 3.3-as vagy 3.4-es verzió
- AMPLILINK szoftver Vezérlőegysége, nyomtatóval
- Készülék és szoftver kézikönyvek:
 - COBAS® AmpliPrep készülék kézikönyve az AMPLILINK szoftver 3.3-as és 3.4-es verziójával való használatra
 - COBAS® TaqMan® analizátorkészülék kézikönyve az AMPLILINK szoftver 3.3-as és 3.4-es verziójával való használatra
 - COBAS® TaqMan® 48 analizátorkészülék kézikönyve az AMPLILINK szoftver 3.3-as és 3.4-es verziójával való használatra
 - AMPLILINK 3.3-as verziójú szoftver alkalmazási kézikönyve a COBAS® AmpliPrep készülékkel, COBAS® TaqMan® analizátorral, COBAS® TaqMan® 48 analizátorral, COBAS® AMPLICOR analizátorral és **cobas p 630** készülékkel való használatra
- vagy
- AMPLILINK szoftver, 3.4-es verzió alkalmazási kézikönyve
- Opcionális: **cobas p 630** készülék felhasználói kézikönyve, 2.2-es szoftververzió
- Vizsgálatdefiníciós fájl (Test Definition File, TDF). A TDF neve és aktuális verziója a készlethez mellékelt termékinformációs kártyán található.

Egyéb anyagok

- Mintaállvány (SK24 állvány)
- Reagensállvány
- SPU-állványok
- K-hordozó
- K-hordozó transzporter
- K-hordozó állvány
- Pipettahegyek aeroszolbarrierrel (szűrő) vagy pozitív kiszorításos RNáz-mentes hegyek (1000 µl); a pipetták pontossága a névleges térfogat 3%-án belül legyen. Aeroszolbarrieres vagy pozitív kiszorításos RNáz-mentes pipettahegyeket kell használni, hogy megelőzze a minta és az amplikon keresztszennyeződését.
- egyszer használatos kesztyűk, púdermentes
- Vortex keverő

Egyszer használatos anyagok

- Mintafeldolgozó egységek (SPU-k)
- Mintabeviteli csövek (S-csövek) vonalkódclipsszel
- K-hegy állvány
- 12 x 96-os K-cső doboz

A MINTA LEVÉTELE, TRANSPORTJA ÉS TÁROLÁSA

MEGJEGYZÉS: *Valamennyi mintát és kontrollt fertőző ágensek átvételére alkalmasként kell kezelni.*

A minta levétele és tárolása

A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 szérumszámítógépes vagy EDTA-s plazma-mintákkal való használatra alkalmas. A vért SST® szérumszámítógépes csövekbe, molekulárisdiagnosztikai módszerekhez való BD Vacutainer® PPT™ plazma-előkészítő csövekbe vagy EDTA (levendulakék kupak) véralvadást gátló tartalmú steril csövekbe kell levenni. A vérvételi csövek kezelése során kövesse a gyártó utasításait. A frissen levett minták (teljes vér) 2–25 °C között 24 óra hosszan tárolhatóak centrifugálás előtt. Centrifugálás után vigye át a szérumszámítógépes vagy EDTA-s plazmát egy steril polipropilén csőbe. A minták tárolása steril 2,0 ml-es polipropilén csavaró kupakos csövekben (pl. Sarstedt 2 ml-es csavaró kupakos mikrocső) kb. 1000 µl-es részletekben javasolt. A szérumszámítógépes vagy EDTA-s plazmaminták tárolhatóak:

- 2–8 °C-on legfeljebb 72 óráig
- –20 °C és –80 °C között legfeljebb 6 hétig

A szérumszámítógépes és EDTA-s plazmaminták legfeljebb öt alkalommal olvashatók és fagyaszthatók HCV RNS-vesztés nélkül.

A minta transzportja

A teljes vér, szérumszámítógépes vagy EDTA-s plazma transzportja meg kell feleljen a kóroki ágensek transzportjára vonatkozó országos, szövetségi, állami és helyi szabályozásoknak¹³. A teljes vért 2–25 °C között kell szállítani, és a levételtől számított 24 órán belül lecentrifugálni. Az EDTA-s plazma, illetve szérumszámítógépes 2–8 °C-on vagy –20 °C és –80 °C között fagyaszthatva szállítható.

HASZNÁLATI UTASÍTÁS

A részletes üzemeltetési utasításokért, a lehetséges konfigurációk leírásáért, az eredmények kinyomtatásáért és a jelzők, megjegyzések és hibaüzenetek értelmezéséért tanulmányozza az AMPLILINK szoftver 3.3-as vagy 3.4-es verziójának kézikönyveit a „Műszerezettség és szoftver” fejezetben felsoroltak szerint.

Mintacsoport-mennyiség és munkafolyamat

Valamennyi készlet 72 vizsgálatra elegendő reagenst tartalmaz, amely 12 vagy 24 mintás csoportokban végezhető. Valamennyi csoportnak legalább egy **CTM (–) C** és **HCV (+) C, v2.0** kontrollt kell tartalmaznia (lásd „Minőség-ellenőrzés”). A COBAS® TaqMan® analízátoron, illetve COBAS® TaqMan® 48 analízátoron történő futtatást a minta- és kontroll-előkészítés befejezését követő 120 percen belül meg kell kezdeni. A feldolgozott mintákat és kontrollokat TILOS lefagyasztani vagy 2–8 °C-on tárolni.

Minta- és kontroll-előkészítés

Fagyasztott minták használatkor tegye a mintákat szobahőmérsékletre, amíg azok teljesen fel nem olvadnak, majd felhasználás előtt vortexelje 3–5 másodpercig azokat. A 2–8 °C-on tárolt kontrollokat vegye ki, hagyja, hogy felhasználás előtt felvegyék a szobahőmérsékletet és vortexelje 3–5 másodpercig.

A COBAS® AmpliPrep készülék beállítása

A. Karbantartás és üzembe helyezés

A1. A COBAS® AmpliPrep készülék készenléti (stand-by) módban működésre kész.

A2. Kapcsolja be az AMPLILINK szoftver Vezérlőegységét (**ON**). Készítse elő a Vezérlőegységet az alábbiak szerint:

1. Jelentkezzen be a Microsoft Windows operációs rendszerbe.
2. Kattintson duplán az AMPLILINK szoftver ikonjára.
3. A megfelelő felhasználói azonosítóval és jelszóval jelentkezzen be az AMPLILINK szoftverbe.

A3. A **Status** képernyő segítségével ellenőrizze a **PG WR**-ellátást, és ha szükséges, pótolja.

A4. Végezze el a **Due** lapon felsorolt karbantartási műveleteket. A COBAS® AmpliPrep készülék automatikusan üzembe helyezi a rendszert.

B. Reagenskazetták betöltése

MEGJEGYZÉS: *A 2–8 °C-on tárolt valamennyi reagenskazettát vegye ki, helyezze be azonnal a COBAS® AmpliPrep készülékbe, és hagyja legalább 30 percig, hogy felvegye a készülékben a szobahőmérsékletet az első minta feldolgozása előtt. Ne hagyja a reagenskazettákat a készüléken kívül szobahőmérsékletre melegedni, mert a vonalkódcímkéken páralecsapódás jöhet létre. Ne törölje le, ha a vonalkódcímkéken páralecsapódás történik.*

B1. Helyezze a **HCV QL v2.0 CS1** kazettát a reagensállványba. Helyezze a **HCV QL v2.0 CS2**, **HCV QL v2.0 CS3** és **HCV QL v2.0 CS4** kazettákat egy külön reagensállványba.

B2. Helyezze a **HCV QL v2.0 CS1** kazettát tartalmazó reagensállványt a COBAS® AmpliPrep készülék **A** állványpozíciójába.

B3. Helyezze a **HCV QL v2.0 CS2**, **HCV QL v2.0 CS3** és **HCV QL v2.0 CS4** kazettákat tartalmazó reagensállványt a COBAS® AmpliPrep készülék **B**, **C**, **D** vagy **E** állványpozíciójába (további részletes tudnivalóként kérjük, tanulmányozza a megfelelő felhasználói kézikönyveket).

C. Egyszer használatos anyagok betöltése

MEGJEGYZÉS: *Határozza meg a szükséges COBAS® AmpliPrep reagenskazetták, mintafeldolgozó egységek (SPU-k), beviteli mintacsövek (S-csövek), K-hegyek és K-csövek számát. Minden egyes mintához, illetve kontrollhoz egy SPU, egy beviteli S-cső, egy K-hegy és egy K-cső szükséges.*

A COBAS® AmpliPrep készülék COBAS® TaqMan® analízátorral, illetve COBAS® TaqMan® 48 analízátorral való együttes használata többféle konfigurációban lehetséges. Az alkalmazott konfigurációtól függően helyezze a megfelelő számú reagenskazetta-állványt, mintaállványt a beviteli S-csövekkel, SPU állványt, K-hegy állványt, K-cső állványt és K-hordozó állványt a K-hordozókkal a COBAS® AmpliPrep készülék megfelelő pozícióiba.

- C1. Helyezze az SPU-kat az SPU állvány(ok)ra, és tegye az állvány(oka)t a COBAS® AmpliPrep Instrument J, K vagy L állványpozíciójába.
- C2. Az alkalmazott konfigurációtól függően, helyezze a teli K-cső állvány(oka)t a COBAS® AmpliPrep készülék **M, N, O** vagy **P** állványpozíciójába.
- C3. Helyezze a teli K-hegy állvány(oka)t a COBAS® AmpliPrep készülék **M, N, O** vagy **P** állványpozíciójába.
- C4. Az alkalmazott konfigurációtól függően, helyezze a K-hordozó állvány(ok)on lévő K-hordozókat a COBAS® AmpliPrep készülék **M, N, O** vagy **P** állványpozíciójába.

D. A mintasorrend megadása és a minták betöltése

- D1. Készítse el a mintaállványokat a következők szerint: Tegyen egy vonalkódcímke-klipszet minden egyes mintaállvány-pozícióba, ahova minta (S-cső) lesz elhelyezve. Tegyen egy-egy kontrollspecifikus [CTM (–) C és HCV (+) C, v2.0] vonalkódcímke-klipszet minden egyes mintaállvány-pozícióba, ahova kontroll (S-cső) fog kerülni. A kontroll vonalkódcímke-klipszeket ugyanannak a kontroll tétele számnak kell lennie, mint a készletben lévő kontroll fiolákon. Ügyeljen arra, hogy az adott kontrollt a megfelelő kontroll vonalkód-klipszsel jelölt pozícióba tegye. Helyezzen egy-egy beviteli S-csövet minden egyes vonalkód-címke klipszet tartalmazó pozícióba.
- D2. Az AMPLILINK szoftver segítségével hozzon létre mintazonosítót minden egyes minta és kontroll számára az **Orders** ablakban a **Sample** mappában. Válassza ki a megfelelő tesztfájlt, és végezze el a mentést.
- D3. Rendelje a minta- és kontrollazonosítókat mintaállvány-pozíciókhoz az **Orders** ablakban a **Sample Rack** mappában. A mintaállványszám a D1. lépésben előkészített állványé kell legyen.
- D4. Nyomtassa ki a **Sample Rack Order** lapot, mint munkalapot.
- D5. Készítsen elő minta- és kontrollállványokat a minta- és kontrollhozzáadásra kijelölt területre az alábbiak szerint: Vortexeljen minden egyes mintát és kontrollt [CTM (–) C és HCV (+) C, v2.0] 3–5 másodpercig. A mintákkal és kontrollokkal való munka során ügyeljen a kesztyűk szennyezésének elkerülésére.
- D6. Mérjen aeroszolbarrierrel vagy pozitív kiszorításos DNáz-mentes hegygel ellátott mikropipettával minden egyes mintából és kontrollból [CTM (–) C és HCV (+) C, v2.0] 650 µl-t a megfelelően vonalkóddal címkézett beviteli S-csőbe. **Ügyeljen arra, hogy ne vigyen át szemcséket és/vagy fibrinrögöket az eredeti mintából a beviteli S-csőbe.** A mintákat és kontrollakat a D4. lépésben kijelölt és a munkalapon rögzített csőpozíciókba kell helyezni. A kontroll vonalkódcímke-klipszeket ugyanannak a kontroll tétele számnak kell lennie, mint a készletben lévő kontroll fiolákon. Az adott kontrollt a megfelelő kontroll vonalkód-klipszsel jelölt pozícióba tegye. **Ügyeljen arra, hogy ne szennyezze be mintával vagy kontrollal az S-csövek felső részét.**
- D7. A **cobas p 630** készülék használata esetén a minta-előkészítéssel kapcsolatban olvassa el a **cobas p 630** készülék felhasználói kézikönyvét.
- D8. Az alkalmazott konfigurációtól függően helyezze a beviteli S-csövekkel töltött mintaállvány(oka)t a COBAS® AmpliPrep készülék **F, G** vagy **H** állványpozícióiba.
- D9. Az alkalmazott konfigurációtól függően helyezze a mintaállvány(oka)t a beviteli S-csövekkel és K-csövekkel (beviteli S-csövenként egy, a jobb oldali pozícióban elhelyezve a beviteli S-csövek mellé) a COBAS® AmpliPrep készülék **F, G** vagy **H** állványpozícióiba.

E. A COBAS® AmpliPrep készülék futtatásának indítása

E1. Indítsa el a COBAS® AmpliPrep készüléket az AMPLILINK szoftver segítségével.

F. A COBAS® AmpliPrep készülék futtatásának befejezése és átvitel a COBAS® TaqMan® analízátorra, illetve COBAS® TaqMan® 48 analízátorra (csak manuális átvitel esetén)

F1. Ellenőrizze a jelzőket, illetve hibaüzeneteket.

F2. Távolítsa el a feldolgozott mintákat és kontrollokat a COBAS® AmpliPrep készülékből vagy mintaállványokról (Docking Station nélküli COBAS® TaqMan® analízátor esetén) vagy K-hordozó állványokról (COBAS® TaqMan® 48 analízátor esetén), a konfigurációtól függően.

F3. Távolítsa el a hulladékot a COBAS® AmpliPrep készülékből.

MEGJEGYZÉS: A minta- és kontroll-előkészítés befejezése után a feldolgozott mintákat és kontrollokat nem szabad fénynek kitenni.

Amplifikálás és kimutatás

COBAS® TaqMan® analízátor, illetve COBAS® TaqMan® 48 analízátor összeállítás

A COBAS® TaqMan® analízátoron, illetve COBAS® TaqMan® 48 analízátoron történő futtatást a minta- és kontroll-előkészítés befejezését követő 120 percen belül meg kell kezdeni. A feldolgozott mintákat és kontrollokat TILOS lefagyasztani vagy 2–8 °C-on tárolni.

G. A feldolgozott minták betöltése

G1. A készülék konfigurációtól függően a megfelelő lépéseket elvégezve vigye át a K-csőveket a COBAS® TaqMan® analízátorba, illetve COBAS® TaqMan® 48 analízátorba.

H. A COBAS® TaqMan® analízátor, illetve COBAS® TaqMan® 48 analízátor futtatásának indítása

H1. Indítsa el a COBAS® TaqMan® analízátort, illetve COBAS® TaqMan® 48 analízátort az alkalmazott konfigurációtól függően.

I. A COBAS® TaqMan® analízátor, illetve COBAS® TaqMan® 48 analízátor futtatásának befejezése

I1. A COBAS® TaqMan® analízátor, illetve a COBAS® TaqMan® 48 analízátor futtatásának befejeztével nyomtasson ki eredménylapot. Ellenőrizze az eredménylapon a jelzőket, illetve hibaüzeneteket. A jelzőkkel és megjegyzésekkel ellátott minták értékelése az „Eredmények” részben leírtaknak megfelelően történik. Elfogadásukat követően tárolja az adatokat az archívumban.

I2. Vegye ki a használt K-csőveket a COBAS® TaqMan® analízátorból, illetve COBAS® TaqMan® 48 analízátorból.

MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

Valamennyi mintacsoportnak egy COBAS® TaqMan® negatív kontrollt, egy HCV pozitív kontrollt kell tartalmaznia. A mintacsoport akkor érvényes, ha a kontrollok [HCV (+) C, v2.0 és CTM (–) C] egyike sem kap jelzőt.

Nincsenek követelmények a kontrolloknak a mintaállványon való elhelyezését illetően.

Ellenőrizze a kinyomtatott eredménylapon a jelzőket és megjegyzéseket, hogy meggyőződjön arról, hogy a mintacsoport érvényes.

Negatív kontroll

A **CTM (–) C** kontrollnak „Negative” eredményt kell adnia. Ha a **CTM (–) C** kontroll érvénytelen jelzést kap, akkor az egész mintacsoport érvénytelen. A teljes eljárást (minta- és kontroll-előkészítés, amplifikálás és kimutatás) meg kell ismételni. Ha a **CTM (–) C** kontroll következetesen érvénytelen több mintacsoportban is, vegye fel a kapcsolatot a helyi Roche-irodával.

Pozitív kontroll

A **HCV (+) C, v2.0** kontrollnak „Positive” eredményt kell adnia. Ha a **HCV (+) C, v2.0** kontroll érvénytelen jelzést kap, akkor az egész mintacsoport érvénytelen. A teljes eljárást (minta- és kontroll-előkészítés, amplifikálás és kimutatás) meg kell ismételni. Ha a **HCV (+) C, v2.0** kontroll következetesen érvénytelen több mintacsoportban is, vegye fel a kapcsolatot a helyi Roche-irodával.

EREDMÉNYEK

A **COBAS® TaqMan®** analizátor, illetve a **COBAS® TaqMan® 48** analizátor automatikusan meghatározza a mintákban és kontrollokban a HCV RNS jelenlétét.

AMPLILINK szoftver:

- Meghatározza a HCV RNS és a HCV IC RNS Ct értékét.
- Meghatározza a HCV RNS jelenlétét a HCV RNS és a HCV IC RNS kritikus küszöbértékek (Ct) alapján.

Mintacsoport validálás:

Ellenőrizze az AMPLILINK szoftver eredmény ablakában vagy a kinyomtatott eredménylapon a jelzőket és megjegyzéseket, hogy meggyőződjön arról, hogy a mintacsoport érvényes.

A készülék ellenőrzi, hogy a kontrollok Ct értéke a meghatározott tartományukon belül esik-e. Ha a kontroll Ct értéke a tartományon kívül fekszik, akkor JELZŐT kap, amely mutatja, hogy a kontroll nem felelt meg.

A mintacsoport akkor érvényes, ha a kontrollok [**HCV (+) C, v2.0** és **CTM (–) C**] egyike sem kap jelzőt.

A mintacsoport nem érvényes, ha a HCV kontrollok az alábbi jelzők bármelyikét kapják:

Negatív kontroll:

Jelző	Eredmény	Magyarázat
NC_INVALID	Invalid	Érvénytelen eredmény vagy a negatív kontroll eredménye nem negatív.

HCV pozitív kontroll:

Jelző	Eredmény	Magyarázat
PC_INVALID	Invalid	Érvénytelen eredmény vagy a pozitív kontroll eredménye nem pozitív.

Ha a mintacsoport érvénytelen (invalid), ismételje meg a teljes mintacsoport vizsgálatát (minta- és kontroll-előkészítés, reverz transzkripció, amplifikálás és kimutatás).

Az eredmények értékelése:

Érvényes mintacsoport esetén ellenőrizzen minden egyes mintát, hogy kapott-e jelzőt vagy megjegyzést az eredménylapon.

⇒ Egy érvényes mintacsoport mind érvényes, mind érvénytelen mintaeredményeket is tartalmazhat, az egyes mintákra vonatkozó jelzőktől és/vagy megjegyzésektől függően.

A mintaeredmények az alábbiak szerint értelmezendők:

Eredmény	Magyarázat
Negative	A HCV kritikus küszöbérték (Ct) meghaladja a vizsgálat korlátait, vagy nincs HCV küszöbérték. Adja ki az eredményt, mint „Nincs kimutatható HCV RNS”.
Positive	Adja ki az eredményt, mint „HCV RNS kimutatható”.

Ha a megjelenített mintaeredményben „Failed”, „Invalid” vagy „Aborted” elem van, kérjük, tanulmányozza az AMPLILINK szoftver 3.3-as vagy 3.4-es verziójának alkalmazási kézikönyvét a „Szükséges, de nem biztosított anyagok” fejezetben felsoroltak szerint.

ELJÁRÁSSAL KAPCSOLATOS KORLÁTOZÁSOK

1. A vizsgálatot csak EDTA véralvadástólóval gyűjtött humán szérumból vagy plazmából használatára validáltak. Más típusú minták vizsgálata pontatlan eredménnyel járhat.
2. Ritkán bár, de előfordulhat, hogy a teszt primerei és/vagy próbái által lefedett vírus genom nagyszámú konzervált régióban lévő mutációk következtében a vírus kimutatása sikertelen lesz.
3. A HCV RNS kimutatása a mintában jelen lévő víruspartikulumok jelenlététől függ, ezért befolyásolhatja a mintavételi módszerek, betegfaktorkor (pl. kor, tünetek megléte) és/vagy a fertőzés stádiuma.
4. A megbízható eredmény a megfelelő mintavétel, -transzport, -tárolás és -feldolgozáson múlik.
5. A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Master Mixben jelen lévő AmpErase enzim csökkenti az amplikon-szennyezés kockázatát. Ugyanakkor a HCV-pozitív kontrollból vagy klinikai mintákból származó szennyeződés csak helyes laboratóriumi gyakorlattal és ezen Használati utasításban meghatározott eljárások gondos betartásával kerülhető el.
6. A terméket kizárólag a **cobas p 630** készülék (opcionális), a COBAS® AmpliPrep készülék és a COBAS® TaqMan® analízátor, illetve a COBAS® TaqMan® 48 analízátor kezelésére kiképzett személy használhatja. A kezelőszemélynek alapos ismeretekkel kell rendelkeznie a készülékeken futtatott alkalmazásokat illetően, és követnie kell a helyes laboratóriumi gyakorlatot.
7. A termék csak a **cobas p 630** készülékkel (opcionális), a COBAS® AmpliPrep készülékkel és a COBAS® TaqMan® analízátorral, illetve a COBAS® TaqMan® 48 analízátorral használható.
8. A technológiák különbözősége miatt javasolt, hogy az egyik technológiáról a másikra való áttéréskor a felhasználók végezzenek korrelációs laboratóriumi vizsgálatokat, hogy a technológiák közötti különbség értékelhető legyen.

ZAVARÁST OKOZÓ ANYAGOK

A mintákban lévő trigliceridek (3300 mg/dl), konjugált bilirubin (25 mg/dl) és nem konjugált bilirubin (20 mg/dl), albumin (6000 mg/dl), hemoglobin (200 mg/dl) és emberi DNS (40 mg/dl) emelkedett szintjei, valamint az olyan autoimmun betegségek jelenléte, mint a szisztémás lupus erythematosus (SLE), reumatoid arthritis (RA) és az antinukleáris antitest (ANA) nem zavarták a HCV RNS kimutatását a COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 vizsgálatával.

Az alábbi gyógyszerösszetevők plazma-csúscsökkentő koncentráción (C_{max}) és háromszoros C_{max} -koncentráción vizsgálva nem zavarták a HCV RNS kimutatását a COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 vizsgálatával:

Nukleotid reverz transzkriptáz és DNS-polimeráz inhibitorok Tenofovir Adefovir dipivoxil	Non-nukleotid reverz transzkriptáz inhibitorok Efavirenz Nevirapin
HIV proteáz inhibitorok Atazanavir Saquinavir Ritonavir Lopinavir/Ritonavir Nelfinavir Darunavir Tipranavir Fosamprenavir	Nukleozid reverz transzkriptáz inhibitorok Lamivudin Zidovudin Stavudin Abacavir Didanosin Emtricitabin Entecavir Telbivudin
HIV fúzió inhibitor Enfuvirtid	HIV entry inhibitor Maraviroc
Herpes vírusok kezelésére szolgáló vegyületek Ganciclovir Valganciclovir Acyclovir	Immunmodulátorok Peginterferon alfa-2b Ribavirin Peginterferon alfa-2a
HIV integráz inhibitor Raltegravir	

NEM KLINIKAI ÉRTÉKELÉS

A. Kimutatósi határ

A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 kimutatósi határát (a NIBSC-től beszerzett) nukleinsav amplifikációs technológiai vizsgálatokra szolgáló hepatitisz C vírus RNS WHO nemzetközi standard 1a genotípus vizsgálatával határozták meg HCV-negatív humán EDTA-s plazmában, illetve szérumban. Mindegyik mátrix esetén három független hígítási sort vizsgáltak. Mindkét mátrixtípus esetén koncentráció szintenként összesen 252 ismétlést vizsgáltak. A vizsgálatot a COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 három reagenstételével végezték.

Az eredményeket EDTA-s plazma és szérumban az 1. és 2. táblázat mutatja, és látható, hogy a COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 $\geq 95\%$ találati aránnyal mutatott ki 15 IU/ml vagy nagyobb HCV RNS koncentrációkat. Szérumban és EDTA-s plazmában között nem volt statisztikailag szignifikáns különbség.

1. táblázat

Kimutatási határ EDTA-s plazmában a nukleinsav amplifikációs technológiai vizsgálatokra szolgáló hepatitis C vírus RNS WHO nemzetközi standard segítségével meghatározva

Bevitt titer (HCV RNS IU/ml)	Érvényes ismétlések száma	Pozitívok száma	Találási arány (%)
50	314	314	100
25	314	313	100
15	314	308	98
10	315	291	92
5	315	228	72
2,5	314	157	50
0	313	0	0
LOD PROBIT szerint 95 % találási arány mellett	12 IU/ml (95%-os konfidenciaintervallum: 10 – 13 IU/ml)		
LOD találási arány szerint	15 IU/ml		

2. táblázat

Kimutatási határ szérumban a nukleinsav amplifikációs technológiai vizsgálatokra szolgáló hepatitis C vírus RNS WHO nemzetközi standard segítségével meghatározva

Bevitt titer (HCV RNS IU/ml)	Érvényes ismétlések száma	Pozitívok száma	Találási arány (%)
50	251	251	100
25	251	250	100
15	252	248	98
10	252	232	92
5	252	185	73
2,5	252	116	46
0	251	0	0
LOD PROBIT szerint 95 % találási arány mellett	11 IU/ml (95%-os konfidenciaintervallum: 10 – 13 IU/ml)		
LOD találási arány szerint	15 IU/ml		

B. Precizitás

A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 precizitását nukleinsav amplifikációs technológiai vizsgálatokra szolgáló hepatitisz C vírus RNS WHO nemzetközi standard vizsgálatával határozták meg HCV-negatív humán EDTA-s plazmában, illetve szérumban.

Két koncentrációsíntet (5 IU/ml és 50 IU/ml) vizsgáltak összesen 168 ismétlésben 12 futtatás során 4 napon keresztül. Minden egyes minta keresztülment a teljes COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 eljárás (minta-előkészítés, amplifikálás és detektálás). A vizsgálatot a COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 három reagenstételével végezték. Valamennyi érvényes precizitási adatot úgy értékelték, hogy kiszámították valamennyi panel tag esetében a találati arányt %-ban reagenstételenként (mindkét mátrix eredményeit kombinálva).

A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 konzisztens teljesítményt mutatott 5 IU/ml és 50 IU/ml koncentrációsíntek mellett EDTA plazma- és szérumminták esetén mindhárom vizsgált reagenstétellel (3. táblázat).

3. táblázat
A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 precizitása
(EDTA-s plazma- és szérumminták kombinálva)

Névleges koncentráció [IU/ml]	Találati arány (%)		
	1. tétel	2. tétel	3. tétel
5	74	70	74
50	100	100	100

C. Inkluzivitás

A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 teljesítményét HCV genotípusokon a kimutatási határ 1-6 genotípusok esetén történő vizsgálatával értékelték.

8 különböző genotípusú/szubtípusú (1a, 1b, 2a, 2b, 3, 4, 5 és 6) HCV RNS klinikai mintát hígítottak három különböző koncentráció szintre EDTA-s plazmában vagy szérumban, és találati arány meghatározást végeztek mindegyik szint esetén 63 ismétléssel. A vizsgálatot a COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 egyetlen reagenstételével végezték.

Az eredményeket EDTA-s plazma és szérum esetén az 4. és 5. táblázat mutatja, és látható, hogy a COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 $\geq 95\%$ találati aránnyal mutatott ki 15 IU/ml vagy nagyobb HCV RNS koncentrációkat a 8 különböző genotípus/szubtípus esetén. Szérum és EDTA-s plazma között nem volt statisztikailag szignifikáns különbség.

4. táblázat
Kimutatási határ HCV RNS genotípus szerinti vizsgálata EDTA-s plazmában

Genotípus	5 IU/ml			15 IU/ml			45 IU/ml		
	Érvényes ismétlések száma	Pozitívok száma	Találati arány (%)	Érvényes ismétlések száma	Pozitívok száma	Találati arány (%)	Érvényes ismétlések száma	Pozitívok száma	Találati arány (%)
1a	63	44	70	63	63	100	63	63	100
1b	63	47	75	63	62	98	63	63	100
2a	63	43	68	63	61	97	62	61	98
2b	62	57	92	62	62	100	62	62	100
3	62	58	94	63	63	100	62	62	100
4	63	43	68	63	62	98	63	63	100
5	63	46	73	62	62	100	62	62	100
6	63	54	86	62	62	100	63	63	100

5. táblázat
Kimutatási határ HCV RNS genotípus szerinti ellenőrzése szérumban

Genotípus	5 IU/ml			15 IU/ml			45 IU/ml		
	Érvényes ismétlések száma	Pozitívok száma	Találati arány (%)	Érvényes ismétlések száma	Pozitívok száma	Találati arány (%)	Érvényes ismétlések száma	Pozitívok száma	Találati arány (%)
1a	63	45	71	62	62	100	63	63	100
1b	62	50	81	63	63	100	63	63	100
2a	62	47	76	61	60	98	63	63	100
2b	63	42	67	63	62	98	63	63	100
3	63	58	92	63	63	100	63	63	100
4	63	40	64	63	62	98	63	63	100
5	62	46	74	61	60	98	62	62	100
6	63	51	81	63	63	100	63	63	100

D. Diagnosztikai érzékenység

A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 diagnosztikai érzékenységét egyéni HCV RNS-pozitív EDTA-s plazma- vagy szérumminták (összesen 337 eredmény) vizsgálatával határozták meg a COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 két reagenstétele segítségével. Valamennyi minta pozitív eredményt adott HCV RNS-re. Ebben a panelben a COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 diagnosztikai érzékenysége 100% (egyoldali alsó 95%-os konfidenciahatár: $\geq 99,1\%$).

Ezen felül a COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 diagnosztikai érzékenysége szerokonverzió során lett értékelve. A 10 kereskedelmi forgalomban lévő (egyéni plazmadonoroktól, HCV antitest szerokonverzió során begyűjtött) HCV szerokonverziós panel vizsgálata egy tétel COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 reagenssel történt. A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 10-ből 10 szerokonverziós panel esetében korábban észlelte a HCV-t az Abbott HCV EIA (enzim immunoassay) 2.0 szerológiai referenciához viszonyítva. Egy másik NAT vizsgálattal, a COBAS® AMPLICOR HCV Test, v2.0-val összehasonlítva a COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 10-ből 2 panel esetén korábban, 10-ből 8 panel esetén pedig az első vérzés napján észlelte a HCV RNS-t.

E. Specifititás

A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 specifikitását véradókból származó HCV RNS-negatív és szeronegativ EDTA-s plazma, illetve szérum vizsgálatával határozták meg. Egyéni EDTA-s plazma- és szérummintákat (összesen 500 eredmény) vizsgáltak a COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 két reagenstétele segítségével. 499 minta negatív eredményt adott HCV RNS-re. Ebben a panelben a COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 specifikitása 99,8% (egyoldali alsó 95%-os konfidenciahatár: $\geq 99,1\%$).

F. Analitikai specifikitás

A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 analitikai specifikitását különböző kórokozók (lásd 6. táblázat) HCV RNS-pozitív és HCV RNS-negatív klinikai EDTA-s plazmamintákkal készült magas titerű törzssoldatainak hígításával értékelték. A non-HCV kórokozók egyike sem zavarta a teszt teljesítményét, vagy adott álpozitív eredményt a COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 során.

6. táblázat
Analitikai specifikitás minták

Non-HCV flavavírusok West Nile vírus St. Louis Encephalitis vírus Murray Valley Encephalitis vírus Dengue vírus 1, 2, 3, 4 típusok Sárgalázvírus Zika vírus FSME vírus (HYPR törzs)	Vírusok Adenovírus 5-ös típus Cytomegalovírus Epstein-Barr vírus Hepatitis B vírus Hepatitis A vírus HIV-1 Humán T-sejtes lymphotrop vírus 1 és 2 Human herpes vírus 6 Herpes simplex vírus 1 és 2 Influenza A Humán papillomavírus Varicella-zoster vírus
Baktériumok <i>Propionibacterium acnes</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	
Sarjadzógomba <i>Candida albicans</i>	

G. Teljesítőképesség összehasonlítása a COBAS® AMPLICOR HCV Test, v2.0 vizsgálattal

A COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 teljesítményét a COBAS® AMPLICOR HCV Test, v2.0 vizsgálattal hasonlították össze HCV-fertőzött betegekből származó szérum- és EDTA-s plazmaminták vizsgálata során. Összesen 463 darab 1–6 genotípust és 1–4 genotípust reprezentáló EDTA-s plazma- és szérumminta lett analizálva párhuzamos vizsgálat során, kétszeresen. 436 EDTA-s plazma- és szérumminta lett pozitív, amely mindkét vizsgálat kimutatási tartományán belül 100%-osan pozitív megfelelést mutatott a COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 és a COBAS® AMPLICOR HCV Test, v2.0 között. 27 minta eredménye ki lett zárva az adatfeldolgozásból; 3 minta nem volt elégséges mennyiségű a COBAS® AMPLICOR HCV Test, v2.0 elvégzéséhez, 4 minta eredményezett „Target Not Detected” eredményt mindkét teszt összes mérésében, 8 minta eltérő eredményt adott a 2 ismétlés között mindkét teszt esetén, 12 minta eltérő eredményt adott a két teszt esetében [a kizárás magyarázata: ezen minták HCV-koncentrációi a COBAS® AMPLICOR HCV Test, v2.0, a plazma (95% kimutatási arányhoz tartozó) 50 IU/ml és a szérum 60 IU/ml kimutatási határa alatt maradtak]. A vizsgált összes negatív EDTA-s plazma- és szérumminta (összesen 200 eredmény) érvényes volt, és negatív eredményt adott, amely 100%-os negatív megfelelést jelent a COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 és a COBAS® AMPLICOR HCV Test, v2.0 között.

HIVATKOZÁSOK

1. Choo Q-L., Kuo G, Weiner AJ, Overby LR., Bradley DW and Houghton M. 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis viral genome. *Science* **244**:359-362.
2. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP et al. 2006. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med* **144**:705-714.
3. Rustgi VK. 2007. The epidemiology of hepatitis C infection in the United States. *J Gastroenterol* **42**:513-521.
4. Lauer GM, Walker BD. 2001. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* **345**:41-52.
5. Caruntu FA, Benea L. 2006. Acute hepatitis C virus infection: Diagnosis pathogenesis, treatment. *JGLD* **15**:249-256.
6. Gretsch D, del la Rosa D, Corey L and Carithers R. 1996. Assessment of Hepatitis C viremia using molecular amplification technologies. *Viral Hepat Rev* **2**:85-96.
7. Young KKY, Resnick R and Myers TW. 1993. Detection of hepatitis C virus RNA by a combined reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay. *J Clin Microbiol* **31**:882-886.
8. NIH. 1997. Management of Hepatitis C. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement #105.
9. Bukh J, Purcell RH and Miller RH. 1992. Sequence analysis of the 5' noncoding region of hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**:4942-4946.
10. Longo MC, Berninger MS and Hartley JL. 1990. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene* **93**:125-128.
11. U.S. Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th Edition, HHS Publication No. (CDC) 21-1112; December 2009.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline – 3rd Edition. CLSI Document M29-A3. CLSI: Wayne, PA 2005.
13. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 49th Edition. 2008.
14. Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P.S., and Griffith, R. 1992. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Bio-Technology* **10**:413-417.
15. Heid, C.A., Stevens, J., Livak, J.K., and Williams, P.M. 1996. Real time quantitative PCR. *Genome Research* **6**:986-994.

Dokumentum verzióinformációi	
Doc. Rev. 3.0 (Mfg-US) 02/2019	A CE-jelölés alatti bejelentett szervezet frissítve. Esetleges kérdésével forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.
Doc. Rev. 4.0 (Mfg-US) 09/2019	Frissített TÁROLÁSI ÉS KEZELÉSI KÖVETELMÉNYEK , amelyek szerint a felhasználónak használat előtt szemrevételezéssel ellenőriznie kell a terméket, hogy nem látja-e rajta szivárgás jeleit, és ha igen, nem használhatja a terméket. A Roche www.roche.com webcímének hozzáadása. A harmonizált szimbólumok oldala frissítve. Esetleges kérdésével forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.



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



Distributed by

Roche Diagnostics (Schweiz) AG
Industriestrasse 7
6343 Rotkreuz, Switzerland

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics, SL
Avda. Generalitat, 171-173
E-08174 Sant Cugat del Vallès
Barcelona, Spain

Roche Diagnostics
201, boulevard Armand-Frappier
H7V 4A2 Laval, Québec, Canada
(For Technical Assistance call:
Pour toute assistance technique,
appeler le: 1-877-273-3433)

Roche Diagnostics
2, Avenue du Vercors
38240 Meylan, France

Distributore in Italia:
Roche Diagnostics S.p.A.
Viale G. B. Stucchi 110
20052 Monza, Milano, Italy

Distribuidor em Portugal:
Roche Sistemas de Diagnósticos Lda.
Estrada Nacional, 249-1
2720-413 Amadora, Portugal

Roche Diagnostica Brasil Ltda.
Av. Engenheiro Billings, 1729
Jaguare, Building 10
05321-010 São Paulo, SP Brazil

Védjegyek és szabadalmak

Lásd: <http://www. Roche-diagnostics.us/patents>

©2019 Roche Molecular Systems, Inc.

09/2019
Doc Rev. 4.0 (Mfg-US)

07941706001-04



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



A következő szimbólumok használatosak a Roche PCR diagnosztikai termékek jelölésére.



Segédsoftver



Lotszám



Meghatalmazott képviselő
az Európai Közösségben



Biológiai veszély



Vonalkód adatlap



Katalógusszám



Olvassa el a használati útmutatót



Csak IVD teljesítmény értékelésre



Tartalma <n> vizsgálathoz
legendő



Megadott tartomány alsó határa



A csomag tartalma



Gyártó



Forgalmazó



Sötétben tárolandó



In vitro diagnosztikai felhasználásra



Hőmérsékletkorlát



Vizsgálatdefiníciós fájl



Lejárat dátuma



Megadott tartomány felső határa



Globális kereskedelmi cikkszám



Gyártás napja

Rx Only

Csak az USA-ban: Az USA
szövetségi törvényei értelmében
az eszköz csak orvos részére
vagy rendelvényére adható ki.



Ez a termék eleget tesz az *in vitro* diagnosztikai orvostechnikai
eszközökről szóló 98/79 EK irányelv előírásainak.