

cobas[®] HCV GT

**Test do określania genotypu wirusa HCV
do użytku z systemem cobas[®] 4800**

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

cobas[®] HCV GT	120 Tests	P/N: 06984274190
cobas[®] HCV GT Control Kit	10 Sets	P/N: 06984339190
cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit 2	240 Tests 960 Tests	P/N: 06979513190 P/N: 06979521190
cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit	240 Tests 960 Tests	P/N: 05235863190 P/N: 05235871190
cobas[®] 4800 System Lysis Kit 2	240 Tests 960 Tests	P/N: 06979530190 P/N: 06979548190

SPIS TREŚCI

Zastosowanie

Podsumowanie oraz opis testu

Informacje podstawowe	4
Uzasadnienie badań określających genotyp HCV	4
Objaśnienie testu	4
Zasady procedury	5

Materiały i odczynniki

Odczynniki.....	6
Wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania odczynników.....	11
Wymagane materiały dodatkowe.....	11
Urządzenia i oprogramowanie wymagane, lecz niedostarczane.....	12

Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania

Ostrzeżenia i środki ostrożności	13
Dobra praktyka laboratoryjna	14
Użytkowanie odczynników	14
Zanieczyszczenie	14
Integralność.....	15
Utylizacja	15
Rozlanie płynów i czyszczenie.....	15
Pobieranie, transport i przechowywanie próbek	16
Pobieranie próbek	16
Transport, przechowywanie i stabilność próbek	16

Instrukcja użytkowania

Wykonywanie oznaczenia.....	17
Wielkość przebiegu	17
Przebieg pracy	18

Wyniki

Kontrola jakości i ważność wyników	20
Interpretacja wyników kontroli	20
Interpretacja wyników	20
Lista flag wyników	21
Ograniczenia metody	22

Ocena skuteczności w badaniach nieklinicznych

Najważniejsze parametry działania testu.....	23
Granica wykrywalności (LoD)	24
Powtarzalność.....	24

Zakażenia genotypami mieszanymi.....	25
Swoistość	26
Swoistość analityczna	26
Swoistość analityczna — substancje wpływające na wynik testu	27
Korelacja metody	28
Błąd całego systemu	29
Zanieczyszczenie pomiędzy próbkami	29

Dodatkowe informacje

Najważniejsze cechy testu	29
Oznaczenia	30
Pomoc techniczna	31
Wytwórca	31
Znaki towarowe i patenty	31
Prawo autorskie	31
Piśmiennictwo	32
Wersja dokumentu	33

Zastosowanie

cobas® HCV GT to test amplifikacji kwasów nukleinowych *in vitro* do jakościowej identyfikacji wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV) o genotypie od 1 do 6 i genotypie 1, podtypy a i b w ludzkim osoczu EDTA lub surowicy pobranych od osób z przewlekłym zakażeniem HCV, z użyciem systemu **cobas® 4800**: aparatu **cobas® x 480** do automatycznego przetwarzania próbek i analizatora **cobas® z 480** do zautomatyzowanej amplifikacji i detekcji. Test **cobas® HCV GT** jest przeznaczony do selekcji osób z przewlekłym zakażeniem HCV do leczenia przeciwwirusowego i określenia czasu trwania schematów leczenia zgodnie z informacjami dotyczącymi przepisania leczenia przeciwwirusowego.

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. Genotypy i podtypy HCV występują na całym świecie, a różne genotypy dominują w pewnych obszarach geograficznych. Różnorodność genotypów HCV, jakie mogą występować w określonej lokalizacji geograficznej, wymaga identyfikacji genotypu wirusa, którym zakażony został pacjent, przed przepisaniem leczenia przeciwwirusowego.

Uzasadnienie badań określających genotyp HCV

Z historycznego punktu widzenia pacjentom z przewlekłym zakażeniem HCV przepisywano leczenie peginterferonem i rybawiryną, o różnym czasie trwania, po wyznaczeniu genotypu wirusa HCV, którym zakażony został pacjent, w oparciu o prawdopodobieństwo uzyskania trwałej odpowiedzi wirusologicznej (SVR) po zakończeniu leczenia przeciwwirusowego.⁵ Pacjentom z genotypem 2 i 3 przepisywano 24 tygodnie leczenia peginterferonem i rybawiryną, zaś pacjenci z genotypem 1 wykazywali korzystniejszy współczynnik odpowiedzi klinicznej po 48 tygodniach leczenia. Ponieważ od roku 2011 zarejestrowano wiele środków przeciwwirusowych o bezpośrednim działaniu, obecnie istnieje wiele zarejestrowanych opcji schematów leczenia dla każdego genotypu⁶ ze specyficznymi skojarzeniami leków i wskazówkami dotyczącymi czasu trwania leczenia. Zastosowanie określonego schematu leczenia w większym stopniu zależy od lokalnego, specyficznego dla kraju statusu rejestracji leków i warunków ich refundacji. Zasadniczo przyjmuje się, że przed rozpoczęciem leczenia konieczne jest określenie genotypu wirusa HCV i podtypu genotypu 1 (1a/1b), gdyż pozwoli to dokonać wyboru leczenia.

Objaśnienie testu

Test **cobas® HCV GT** to ilościowy test amplifikacji kwasu nukleinowego wykonywany z użyciem systemu **cobas® 4800**. Test **cobas® HCV GT** wykorzystuje przeprowadzaną w czasie rzeczywistym reakcję łańcuchową polimerazy z odwrotną transkrypcją (RT-PCR) w celu identyfikacji genotypów od 1 do 6 wirusa HCV oraz podtypów 1a i 1b przez zastosowanie specyficznych dla genotypu i podtypu starterów i znakowanych fluorescencyjnie sond oligonukleotydowych. Test wykrywa także wirusa HCV niezależnie od genotypu, wykorzystując startery i sondy w wysoce konserwatywnym regionie genomu wirusa HCV, co służy jako kontrola mająca na celu monitorowanie całego procesu przygotowania próbki i procesu RT-PCR.

Zasady procedury

Test **cobas**® HCV GT opiera się na całkowicie zautomatyzowanym przygotowaniu próbek (ekstrakcji i oczyszczaniu kwasów nukleinowych), po którym przeprowadzana jest amplifikacja i detekcja podczas reakcji RT-PCR w czasie rzeczywistym. System **cobas**® 4800 składa się z aparatu **cobas**® x 480 wykorzystywanego do automatycznego przetwarzania próbek i analizatora **cobas**® z 480 — do automatycznej amplifikacji i detekcji. Automatyczne przetwarzanie danych jest prowadzone przez oprogramowanie **cobas**® 4800, które przypisuje wynik testu dla wszystkich badań jako jeden lub więcej genotypów i podtypów, wynik nieokreślony (wykryto RNA wirusa HCV, lecz nie określono genotypu ani podtypu) lub wynik błędny (nie wykryto RNA wirusa HCV). Wyniki można analizować bezpośrednio na ekranie systemu, można je eksportować lub wydrukować w postaci raportu.

Kwasy nukleinowe z próbek pobranych od pacjentów i zewnętrzne kontrole są uwalniane przez dodanie do próbki proteinazy i chaotropowego odczynnika do lizy. Uwolnione kwasy nukleinowe łączą się z silikonową powierzchnią szklanych cząstek magnetycznych. Niezwiązane substancje i zanieczyszczenia, takie jak zdenaturowane białka, pozostałości komórek i potencjalne inhibitory reakcji PCR są odpłukiwane na kolejnych etapach płukania, a oczyszczone kwasy nukleinowe są następnie wmywane ze szklanych cząstek magnetycznych w podwyższonej temperaturze z użyciem buforu do elucji.

Każda próbka jest poddawana amplifikacji w trzech reakcjach RT-PCR w czasie rzeczywistym. Specyficzna dla genotypu i podtypu amplifikacja i detekcja genotypów od 1 do 6 wirusa HCV i podtypów 1a i 1b w drodze reakcji RT-PCR jest uzyskiwana przez zastosowanie specyficznych dla genotypu i podtypu starterów i znakowanych fluorescencyjnie sond. Każda reakcja obejmuje także startery i sondy dla wysoce konserwatywnego regionu genomu wirusa HCV, co zapewnia amplifikację i detekcję wirusa HCV niezależnie od genotypu, jako kontrolę wewnętrzną. Sondy są znakowane czterema różnymi fluorescencyjnymi barwnikami reporterowymi, co pozwala na równoczesną detekcję wirusa HCV i maksymalnie trzech genotypów lub podtypów w każdej reakcji.

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).⁷⁻⁹ 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.

Każda z sond oligonukleotydowych w odczynniku Master Mix testu **cobas**® HCV GT jest znakowana niefluorescencyjnym barwnikiem wygaszającym i fluorescencyjnym barwnikiem reporterowym. Jeśli sondy pozostają nienaruszone, fluorescencja barwnika reporterowego jest tłumiona barwnikiem wygaszającym. Podczas reakcji amplifikacji PCR sondy ulegają hybrydyzacji z miejscami docelowymi między miejscami wiązania starterów, a polimeraza DNA wydłuża startery. Aktywność nukleazy w kierunku od końca 5' do 3' w przypadku polimerazy DNA rozszczepia zhybrydowane sondy, co powoduje rozdzielenie barwnika reporterowego i wygaszającego oraz wygenerowanie sygnału fluorescencyjnego. Z każdym cyklem PCR generowana jest zwiększająca się liczba rozszczepionych sond i wzrasta sumaryczny sygnał barwnika reporterowego. Wykrywanie i rozróżnianie w czasie rzeczywistym produktów PCR są osiągane przez pomiar fluorescencji uwolnionych barwników reporterowych w każdym cyklu PCR, co wykonuje automatycznie analizator **cobas**® z 480.

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 GT 120 testów (P/N: 06984274190)	MMX R1 (Odczynnik 1 cobas® Master Mix) Octan magnezu, wodorotlenek potasu, < 0,1% azydku sodu	10 × 1,75 ml	Nie dotyczy
	HCV GT MMX R2A (Odczynnik Master Mix 2A cobas® HCV GT) Bufor trycynowy, octan potasu, 18% dimetylosulfotlenku, glicerol, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% starterów HCV, < 0,01% znakowanych barwnikami fluorescencyjnymi sond oligonukleotydowych, < 0,01% aptameru oligonukleotydowego, < 0,01% kwasu poliadenylowego, < 0,01% polimerazy DNA Z05D (bakteryjnej), < 0,01% enzymu AmpErase (uracylo-N-glikozylazy) (bakteryjnej), < 0,1% azydku sodu	10 × 0,5 ml	Nie dotyczy
	HCV GT MMX R2B (Odczynnik Master Mix 2B cobas® HCV GT) Bufor trycynowy, octan potasu, 18% dimetylosulfotlenku, glicerol, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% starterów HCV, < 0,01% znakowanych barwnikami fluorescencyjnymi sond oligonukleotydowych, < 0,01% aptameru oligonukleotydowego, < 0,01% kwasu poliadenylowego, < 0,01% polimerazy DNA Z05D (bakteryjnej), < 0,01% enzymu AmpErase (uracylo-N-glikozylazy) (bakteryjnej), < 0,1% azydku sodu	10 × 0,5 ml	Nie dotyczy
	HCV GT MMX R2C (Odczynnik Master Mix 2C cobas® HCV GT) Bufor trycynowy, octan potasu, 18% dimetylosulfotlenku, glicerol, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% starterów HCV, < 0,01% znakowanych barwnikami fluorescencyjnymi sond oligonukleotydowych, < 0,01% aptameru oligonukleotydowego, < 0,01% kwasu poliadenylowego, < 0,01% polimerazy DNA Z05D (bakteryjnej), < 0,01% enzymu AmpErase (uracylo-N-glikozylazy) (bakteryjnej), < 0,1% azydku sodu	10 × 0,5 ml	Nie dotyczy

Zestaw	Elementy i składniki odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie ^a
cobas® HCV GT Control Kit 10 zestawów (P/N: 06984339190)	HCV GT (+)C (Kontrola dodatnia cobas® HCV GT) < 0,001% syntetycznego (Armored) RNA HCV opłaszczanego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, prawidłowe osocze ludzkie niereaktywne w testach na obecność przeciwciał przeciwko HIV-1/2, przeciwciał przeciwko HCV, antygenowi HBsAg, przeciwciał przeciwko 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	10 × 0,75 ml	  OSTRZEŻENIE H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P261: Unikać wdychania mgły lub par. P273: Unikać uwolnienia do środowiska. 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 Masa reakcyjna 5-chloro-2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu i 2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu (3:1).
	(-) C (Kontrola ujemna cobas®) Prawidłowe osocze ludzkie niereaktywne w licencjonowanych testach na obecność przeciwciał przeciwko HIV-1/2, przeciwciał przeciwko HCV, antygenowi HBsAg, przeciwciał przeciwko HBc; RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV niewykrywalnego przy użyciu metod PCR < 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300	10 × 0,75 ml	  OSTRZEŻENIE H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania mgły lub par. P272: Zanieczyszczoną odzież ochronną 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 Masa reakcyjna 5-chloro-2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu i 2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu (3:1).
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 240 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	

Zestaw	Elementy i składniki odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie ^a
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 960 testów (P/N: 06979521190)	MGP 2 (cobas® 4800 MGP Reagent 2 – Odczynnik 2 cobas® 4800 MGP) Szkłane cząstki magnetyczne, bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesanu, < 0,1% azydku 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 240 testów (P/N: 05235863190)	WB Dwuwodny cytrynian sodu, 0,05% N-metyloizotiazolonu HCl	10 × 55 ml	Nie dotyczy
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 testów (P/N: 05235871190)	WB Dwuwodny cytrynian sodu, 0,05% N-metyloizotiazolonu HCl	10 × 200 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.) ditiotreititol, 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. Splukać 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.) 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, 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 GT	2–8°C	Zachowuje trwałość do momentu upływu wskazanej daty ważności.
cobas® HCV GT 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 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 GT 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 próbki na próbki

Test akceptuje powszechnie stosowane próbki pierwotne i wtórne.

Obsługiwane są następujące próbki na próbki:

Probówki pierwotne

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

Probówki wtórne

Średnica nominalna (mm)	Objętość wejściowa próbki
	Objętość przetwarzania 400 µl
11-16	1000 µl lub więcej (określone próbki wtórne mają minimalną objętość wejściową poniżej 1000 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 GT nie jest przeznaczony do przesiewowego badania na obecność wirusa HCV we krwi lub produktach krwiopochodnych ani do stosowania jako test diagnostyczny, potwierdzający zakażenie wirusem HCV.
- 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.^{10,11} Procedurę tę powinien wykonywać wyłącznie personel biegły w pracy z materiałami niebezpiecznymi biologicznie oraz w stosowaniu testu **cobas®** HCV GT i systemu **cobas®** 4800 System.
- Wszystkie materiały pochodzenia ludzkiego należy uważać za potencjalnie zakaźne i postępować z nimi z zastosowaniem ogólnych środków ostrożności.
- Zestaw kontrolny **cobas®** HCV GT zawiera osocze pochodzące z krwi ludzkiej. Materiał źródłowy był badany z wykorzystaniem licencjonowanych testów serologicznych na obecność przeciwciał i nie wykazywał obecności przeciwciał przeciwko wirusom HCV, HIV-1/2, antygenowi HBsAg ani przeciwciał przeciwko antygenowi HBc. Testowanie metodami PCR nie wykazało 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.
- Ściśle 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 GT** i zestaw **cobas® 4800 Sample Preparation Kit 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 GT** 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 pulwowaniu.
- 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 GT i zestaw **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2 zawierają azydek sodu jako środek konserwujący (patrz rozdział „**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 mieszadle 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.
- Próbkę 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 ≤ –18°C. Oddzielone próbki osocza/surowicy w probówkach wtórnych są stabilne przez trzy cykle zamrażania/odmrażania, gdy są przechowywane w temperaturze ≤ –18°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

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

1	Uruchomienie systemu.
2	Wykonanie czynności konserwacyjnych aparatów.
3	Wyjęcie próbek i odczynników z miejsca przechowywania.
4	Rozpoczęcie przebiegu
5	Załadowanie próbek
6	W przypadku korzystania z systemu LIS: potwierdzenie zlecenia pracy. W przypadku braku systemu LIS: utworzenie zlecenia pracy.
7	Załadowanie materiałów eksploatacyjnych (płytki głębokodołkowej, płytki mikrodołkowej, statywów na końcówki)
8	Załadowanie odczynników
9	Rozpoczęcie przebiegu przygotowania próbek.
10	Wyjęcie i uszczelnienie płytki mikrodołkowej.
11	Załadowanie płytki mikrodołkowej w analizatorze.
12	Wyjęcie próbek, zużytych odczynników i płytki głębokodołkowej.
13	Przeanalizowanie wyników.
14	W przypadku korzystania z systemu LIS: przesłanie wyników do systemu LIS.
15	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 GT** jest dostępny w jednym rozmiarze zestawu, który wystarcza do zbadania 120 (10×12) próbek, włączając kontrole i próbki. Zestaw kontrolny **cobas® HCV GT Control Kit** jest dostępny w jednym rozmiarze 10 zestawów dodatniej i ujemnej kontroli, i może zostać wykorzystany we wszystkich konfiguracjach przebiegu. Każda partia testowa HCV GT musi zawierać jedną dodatnią i jedną ujemną kontrolę. W przypadku przebiegu **cobas® HCV GT** z jednym testem maksymalna dopuszczalna liczba próbek to 30 próbek pacjentów i 2 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 1-22 próbek (zestaw testowy 10×24) lub łącznie 1-30 próbek (zestaw testowy 10×96). 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 GT 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 GT można przeprowadzać pojedynczo lub w partiach mieszanych z testami, które mają wspólny taki sam zautomatyzowany proces ekstrakcji próbki oraz profil PCR do amplifikacji i detekcji. Na etapie wyboru oprogramowanie wyświetli testy, które są zgodne z testem cobas® HCV GT 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 GT MMX R2A, HCV GT MMX R2B, HCV GT MMX R2C i MMX R1, przed załadowaniem do aparatu cobas® x 480 muszą znajdować się w temperaturze pokojowej. Odczynniki HCV GT MMX R2A, HCV GT MMX R2B, HCV GT MMX R2C 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 GT. Aby przeprowadzić serię partii mieszanej, wybierz inne rodzaje odpowiednich przebiegów pracy (tj. HIV-1, HCV lub CMV) oprócz HCV GT.
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 nieprzeterminowanymi odczynnikami. Oprogramowanie nie sprawdza 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, 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 GT”.
 - 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 zdefiniowanie żądanych wyników dla każdej próbki. Podczas wybierania żądanych wyników należy zaznaczyć opcję „HCV GT”.
 - Przez skorzystanie z systemu LIS placówki.

Dodatkowe szczegóły można znaleźć w podręczniku użytkownika systemu **cobas® 4800 System**. Załaduj 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 opatrzonych 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 upływał.*

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 GT MMX R2A, HCV GT MMX R2B, HCV GT MMX R2C i MMX R1) i fiolki kontroli [HCV GT(+)C oraz (–) C] bezpośrednio w nośniku na odczynniki.

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 dodatkimi 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 genotyp wirusa HCV i podtyp 1a i 1b dla próbek.

Kontrola jakości i ważność wyników

- W każdej partii przetwarzana jest jedna ujemna kontrola (–) C i jedna kontrola dodatnia HCV GT(+).
- 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	Valid	Kontrola jest ważna. Nie wykryto HCV RNA.
	Invalid	Wynik dla kontroli ujemnej jest błędny.
Kontrola dodatnia	Wynik	Interpretacja
HCV GT (+)C	Valid	Kontrola jest ważna.
	Invalid	Wynik dla kontroli dodatniej jest błędny.

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: Wyniki i interpretacja

cobas® HCV GT	Raport wyniku i jego interpretacja
Invalid	Jedna, dwie lub wszystkie trzy reakcje są błędne. Kontrola wewnętrzna HCV nie jest wykrywana w jednej, dwóch lub wszystkich trzech reakcjach.
Indeterminate	Kontrole wewnętrzne HCV są wykrywane we wszystkich trzech reakcjach, ale nie zidentyfikowano genotypu lub podtypu.
1; 1a; 1b; 2; 3; 4; 5; lub 6	Zidentyfikowane genotypy są podawane w kolejności alfanumerycznej, oddzielone średnikiem.

Lista flag wyników

Tabela poniżej wymienia wszystkie flagi dotyczące interpretacji wyniku.

Tabela 3: Lista flag

Kod flagi	Opis	Zalecane działanie
R20	Wynik dla kontroli dodatniej jest błędny.	Wartości kontroli dodatnich były nieważne. 1. Powtórz cały przebieg ze świeżymi odczynnikami. 2. Jeżeli problem powtarza się, skontaktuj się z serwisem firmy Roche.
R21	Wynik dla kontroli ujemnej jest błędny.	Wartości kontroli ujemnych były nieważne. Aby uniknąć przeniesienia, należy postępować zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej. 1. Powtórz cały przebieg ze świeżymi odczynnikami. 2. Jeżeli problem powtarza się, skontaktuj się z serwisem firmy Roche.
R4805	Błąd: Wynik końcowy jest nieważny, ponieważ co najmniej jedna reakcja jest nieważna.	Jeżeli pozostała wystarczająca objętość, pierwotną próbkę należy zbadać ponownie. Jeżeli wyniki nadal są nieważne, należy pozyskać nową próbkę.
R4806	Informacja: Wykryto genotypowanie HCV, ale genotyp jest nieokreślony.	Do określenia genotypu obecnego w próbce należy użyć alternatywnej metody.
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.

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

Ograniczenia metody

1. Test **cobas**® HCV GT był oceniany tylko w połączeniu z zestawami **cobas**® HCV GT Control Kit, **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2, **cobas**® 4800 System Lysis Kit 2 i **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit.
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. Identyfikacja genotypów wirusa HCV zależy od liczby cząstek wirusa obecnych w próbce i mogą na nią 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 sondy używane w teście **cobas**® HCV GT — chociaż rzadkie — mogą wpływać na wiązanie starterów i/lub sond, co może być przyczyną niepowodzenia identyfikacji genotypu próbki.
6. Dodanie do odczynnika Master Mix **cobas**® HCV GT 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.
7. Tego produktu mogą używać wyłącznie osoby przeszkolone w zakresie technik PCR i używania systemu **cobas**® 4800.
8. 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.
9. 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.
10. Zanieczyszczenie krzyżowe próbek może spowodować wyniki fałszywie dodatnie. Częstość zanieczyszczenia krzyżowego między próbkami testu **cobas**® HCV GT została określona w badaniach nieklinicznych na poziomie 0,0%. Nie zaobserwowano zanieczyszczenia krzyżowego pomiędzy przebiegami.
11. Test **cobas**® HCV GT nie jest przeznaczony do przesiewowego badania na obecność wirusa HCV we krwi lub produktach krwiopochodnych ani do stosowania jako test diagnostyczny, potwierdzający zakażenie wirusem HCV.
12. Identyfikacja genotypu 6 przez test **cobas**® HCV GT jest ograniczona do podtypów 6a i 6b.

Ocena skuteczności w badaniach nieklinicznych

Najważniejsze parametry działania testu

Dokładność

Dokładność testu **cobas®** HCV GT była oceniana przez zbadanie 379 próbek dodatnich dla wirusa HCV i porównanie wyników z genotypami określonymi w drodze sekwencjonowania kwasu nukleinowego (Tabela 4). Badanie przeprowadzono dla dwóch serii testów **cobas®** HCV GT. Wyniki badania genotypu wykonywane przy użyciu testu **cobas®** HCV GT i metodą sekwencjonowania kwasu nukleinowego były zgodne w przypadku 352 z 353 próbek, co oznacza, że ogólna dokładność określenia genotypu to 99,7%. Dokładność testu **cobas®** HCV GT w przypadku określenia genotypu 1, podtypy 1a i 1b została oceniona przy użyciu 99 próbek genotypu 1a i 50 próbek genotypu 1b (Tabela 5). Ogólna dokładność dla podtypu wyniosła 100% (148/148).

Tabela 4: Dokładność dla genotypów 1–6

Genotyp wirusa HCV określony metodą sekwencjonowania	Liczba badań ^a	Wyniki z genotypami mieszanymi	Wyniki nieokreślone ^b	Liczba włączonych wyników ^c	Wyniki testu cobas® HCV GT zgodne z uzyskanymi metodą sekwencjonowania	Odsetek prawidłowo zidentyfikowanych próbek (dokładność)	95% CI ^d	
							LL	UL
1 ^e	151	0	2	149	149	100 (149/149)	97,6	100
2	65	3	0	62	62	100 (62/62)	94,2	100
3 ^f	60	1	12	47	46	97,9 (46/47)	88,7	100
4 ^g	57	2	0	55	55	100 (55/55)	93,5	100
5	27	0	3	24	24	100 (24/24)	85,8	100
6 ^h	19	0	3	16	16	100 (16/16)	79,4	100
Ogółem	379	6	20	353	352	99,7 (352/353)	98,4	100

^a Obejmuje wszystkie próbki z prawidłowymi wynikami testu **cobas®** HCV GT.

^b Test **cobas®** HCV GT zwraca wynik nieokreślony, jeśli wykryto wirusa HCV, lecz nie zidentyfikowano genotypu.

^c Liczba badań – (Wyniki z genotypami mieszanymi + wyniki nieokreślone)

^d Dwustronny 95% przedział ufności.

^e Obejmuje 99 próbek genotypu 1a, 50 próbek genotypu 1b i 2 próbki genotypu 1l zidentyfikowane metodą sekwencjonowania kwasu nukleinowego.

^f Jedną próbką genotypu 3 dała wynik 1a przy użyciu testu **cobas®** HCV GT.

^g Obejmuje próbki 43 genotypu 4a, 9 próbek genotypu 4 podtypu innego niż a i 5 próbek genotypu 4 niezidentyfikowanego podtypu.

^h Obejmuje 18 próbek podtypu 6a i jedną próbkę genotypu 6b.

Tabela 5: Dokładność dla genotypu 1, podtypu 1a i 1b

Genotyp wirusa HCV określony metodą sekwencjonowania	Liczba badań ^a	Wyniki z podtypami mieszanymi	Wyniki nieokreślone i wyniki z genotypem 1 ^b	Liczba włączonych wyników ^c	Wyniki testu cobas® HCV GT zgodne z uzyskanymi metodą sekwencjonowania	Odsetek prawidłowo zidentyfikowanych próbek (dokładność)	95% CI ^d	
							LL	UL
1a	99	0	0	99	99	100 (99/99)	96,3	100
1b ^e	50	0	1	49	49	100 (49/49)	92,8	100
Ogółem	149	0	1	148	148	100 (148/148)	97,5	100

^a Obejmuje wszystkie próbki genotypu 1a i 1b z prawidłowymi wynikami testu **cobas®** HCV GT.

^b Test **cobas®** HCV GT zwraca wynik nieokreślony, jeśli wykryto wirusa HCV, lecz nie zidentyfikowano genotypu. W przypadku obliczania dokładności dla podtypu wynik „gt 1” bez określenia genotypu 1a lub 1b jest uznawany za nieokreślony.

^c Liczba badań – (Wyniki z genotypami mieszanymi + wyniki nieokreślone)

^d Dwustronny 95% przedział ufności.

^e Dla jednej próbki genotypu 1b w teście **cobas®** HCV GT uzyskano wynik „gt 1”, bez określenia genotypu 1a czy 1b.

Granica wykrywalności (LoD)

Granice wykrywalności testu **cobas®** HCV GT określono, badając rozcieńczenia próbek zawierających wirusa HCV, przygotowanych z użyciem HCV-ujemnej ludzkiej surowicy lub HCV-ujemnego ludzkiego osocza pobranego na EDTA (Tabela 6). Dla każdego genotypu jedna próbka zawierająca HCV została rozcieńczona w HCV-ujemnej ludzkiej surowicy lub HCV-ujemnym ludzkim osoczu pobranym na EDTA do osiągnięcia stężeń 1000, 500, 250, 125, 50 i 25 jednostek międzynarodowych na ml (dla genotypu 5 stężenia wyniosły 1000, 750, 500, 250, 125 i 50 IU/ml). Panele zawierające sześć stężeń każdego genotypu oraz ujemne pod względem wirusa HCV osocze lub surowicę zostały poddane testom z użyciem wielu przebiegów, dni, operatorów i urządzeń, z wykorzystaniem trzech serii testów **cobas®** HCV GT, z 20–24 pomiarami dla każdej serii odczytników, z całkowitą liczbą 60–72 pomiarów na próbkę. Najniższe stężenia, które pozwalały uzyskać prawidłowy wynik genotypu w $\geq 95\%$ testów przedstawiono w Tabeli 6.

Tabela 6: Granica wykrywalności* (IU/ml) testu **cobas®** HCV GT

Rodzaj próbki	Genotyp HCV						
	1a	1b	2	3	4	5	6
Osocze	125	250	125	125	125	1000	125
Surowica	125	125	50	125	125	500	125

* Najniższe badane stężenia z prawidłowymi wynikami genotypu w co najmniej 95% testów

Powtarzalność

Powtarzalność testu **cobas®** HCV GT została wyznaczona przez zbadanie metodą ślepej próby w badaniu randomizowanym piętnastoelementowego panelu, z 2 powtórzeniami na przebieg, 2 przebiegami dziennie, 5 dniami na serię odczytników i 3 seriami odczytników, przy użyciu jednego aparatu i przez jednego operatora, dla całkowitej liczby 60 testów na próbkę (Tabela 7). Panel składał się z dwóch rozcieńczeń jednej próbki klinicznej dla każdego genotypu, przygotowanej z użyciem HCV-ujemnej ludzkiej surowicy lub HCV-ujemnego ludzkiego osocza pobranego na EDTA i próbki z HCV-ujemną ludzką surowicą lub osoczem. Każdy genotyp został włączony do panelu w dwóch stężeniach: niskim (500–1000 IU/ml) i średnim (10 000–20 000 IU/ml) lub wysokim ($\geq 100\,000$ IU/ml). Całkowity odsetek prawidłowych wyników testu **cobas®** HCV GT wynosił 99,8% (890/892).

Tabela 7: Powtarzalność testu cobas® HCV GT

Genotyp	Stężenie (IU/ml)	Rodzaj próbki	Całkowita liczba wyników ^a	Liczba prawidłowych wyników	Odsetek prawidłowych wyników ^b
1a	910	Surowica	60	60 ^c	100 (60/60)
1a	330 000	Osocze	60	60	100 (60/60)
1b	970	Surowica	58	58	100 (58/58)
1b	350 000	Osocze	59	59	100 (59/59)
2	780	Surowica	59	59	100 (59/59)
2	13 000	Osocze	60	60	100 (60/60)
3	570	Osocze	60	60	100 (60/60)
3	96 000	Surowica	60	60	100 (60/60)
4	940	Surowica	59	59	100 (59/59)
4	180 000	Osocze	59	59	100 (59/59)
5	1 000	Surowica	59	57 ^d	96,6 (57/59)
5	16 000	Osocze	60	60	100 (60/60)
6	800	Osocze	60	60	100 (60/60)
6	17 000	Surowica	59	59	100 (59/59)
HCV-ujemne	0	Osocze	30	30	100 (30/30)
HCV-ujemne	0	Surowica	30	30	100 (30/30)
Ogółem			892	890	99,8 (890/892)

^a Osiem z całkowitej liczby 900 testów nie dało żadnego wyniku z powodu błędu spowodowanego skrzepem.

^b Odsetek prawidłowych wyników = Liczba prawidłowych wyników / Całkowita liczba wyników.

^c 58 z 60 testów dało wynik 1; 1a i 2 testy dały wynik 1a.

^d Jeden test dał wynik nieokreślony, a jeden test dał wynik 1; 5.

Zakażenia genotypami mieszanymi

Identyfikacja zakażeń genotypami mieszanymi została oceniona przez zbadanie wszystkich możliwych kombinacji dwóch genotypów dla genotypów 1a, 1b i od 2 do 6, dla trzech różnych współczynników stężeń: 1:1 (1000:1000 IU/ml), 1:1 (1E+06:1E+06 IU/ml), 10:1 (1E+04:1E+03 IU/ml) i 100:1 (1E+05:1E+03 IU/ml). Każda próbka była badana w trzech powtórzeniach. Test cobas® HCV GT zidentyfikował oba genotypy w 100% (63/63) testów mieszanin 1:1 dla 1E+06 IU/ml i w 95,2% (60/63) testów mieszanin 1:1 dla 1000 IU/ml (Tabela 8). Test cobas® HCV GT zidentyfikował genotyp mniejszościowy w 85,7% (108/126) testów mieszanin 10:1 i w 63,5% (80/126) testów mieszanin 100:1. Test cobas® HCV GT zidentyfikował genotyp większościowy w 100% testów (252/252) w mieszaninach 10:1 i 100:1.

Tabela 8: Identyfikacja zakażeń genotypami mieszanymi

Stężenia ^a (IU/ml)	Współczynnik stężenia	Liczba przetestowanych kombinacji	Całkowita liczba testów	Identyfikacja obu genotypów ^b
1 × 10 ⁶ : 1 × 10 ⁶	1:1	21	63	100% (63/63)
1 × 10 ³ : 1 × 10 ³	1:1	21	63	95,2% (60/63) ^c
1 × 10 ⁴ : 1 × 10 ³	10:1	42	126	85,7% (108/126) ^d
1 × 10 ⁵ : 1 × 10 ³	100:1	42	126	63,5% (80/126) ^e

^a Mieszanina o wysokim stężeniu 1:1 zawierająca genotyp 5 została zbadana dla 1 × 10⁵ IU/ml.

^b W mieszaninach nierównych stężeń (10:1 i 100:1) genotyp większościowy został zidentyfikowany w 100% (252/252) testów.

^c W mieszaninach 1:1 dla 1 × 10³ IU/ml genotyp 3 został zidentyfikowany w 83% (15/18) testów. Wszystkie inne genotypy zostały zidentyfikowane w 100% testów.

^d W mieszaninach 10:1 genotyp 3 został zidentyfikowany w 0/18 testów, gdy stanowił genotyp mniejszościowy. Wszystkie inne genotypy zostały zidentyfikowane w 100% testów, gdy stanowiły genotyp mniejszościowy.

^e W mieszaninach 100:1 genotypy 1b, 2, 3 i 6 zostały zidentyfikowane odpowiednio w 83% (15/18), 44% (8/18), 0% (0/18) i 17% (3/18) testów, gdy stanowiły genotyp mniejszościowy. Genotypy 1a, 4 i 5 zostały zidentyfikowane w 100% testów, gdy stanowiły genotyp mniejszościowy.

Swoistość

Swoistość testu **cobas®** HCV GT została określona w drodze zbadania 52 próbek osocza pobranego na EDTA i 52 próbek surowicy pobranych od 104 zdrowych HCV-ujemnych dawców, przy użyciu dwóch serii testów **cobas®** HCV GT. Test **cobas®** HCV GT jest przeznaczony do stosowania u osób z przewlekłym zakażeniem HCV. Test wykrywa wirusa HCV, niezależnie od genotypu, jako kontrolę wewnętrzną. Jeśli wirus HCV nie zostanie wykryty, test **cobas®** HCV GT zwraca wynik błędny. Wszystkie 104 testy w badaniu specyficzności zwróciły wyniki błędne, co jest prawidłowe dla próbek niezawierających wirusa HCV.

Swoistość analityczna

Swoistość analityczna testu **cobas®** HCV GT była oceniana w panelu rozcieńczeń 27 patogenów (Tabela 9) w HCV-ujemnym osoczu pobranym na EDTA; zbadano próbki z wirusem HCV o genotypie 1a w stężeniu wynoszącym w przybliżeniu 1500 IU/ml oraz bez wirusa. Wirus HCV o genotypie 1a został wykryty we wszystkich próbkach zawierających wirusa HCV i patogeny, co dowodzi, że patogeny nie zakłócają procesu detekcji. Wyniki błędne (przewidywane wyniki dla próbek niezawierających wirusa HCV) zostały uzyskane z użyciem testu **cobas®** HCV GT dla wszystkich zawierających patogeny próbek bez HCV, co dowodzi, że patogeny nie wykazują reaktywności krzyżowej z testem **cobas®** HCV GT. Test **cobas®** HCV GT wykrywa wirusa HCV, niezależnie od genotypu, jako kontrolę wewnętrzną. Jeśli wirus HCV nie zostanie wykryty, test **cobas®** HCV GT zwraca wynik błędny.

Tabela 9: Patogeny testowane pod kątem reakcji krzyżowej

Wirusy		Bakterie	Drożdżaki
Adenowirus typ 5	Wirus Herpes simplex typu 1 i 2	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida albicans</i>
Wirus cytomegalii	Wirus brodawczaka ludzkiego	<i>Staphylococcus aureus</i>	
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

Próbki osocza z podwyższonymi poziomami trójglicerydów (27,9–30,0 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) badano z użyciem testu **cobas®** HCV GT zarówno w obecności, jak i przy braku HCV o genotypie 1a, w stężeniu wynoszącym w przybliżeniu 1500 IU/ml. Wirus HCV o genotypie 1a został zidentyfikowany we wszystkich próbkach zawierających wirusa HCV, a wynik błędny (przewidywany wynik dla próbek HCV-ujemnych) został uzyskany dla wszystkich próbek niezawierających HCV, co dowodzi, że te substancje nie zakłócają działania testu **cobas®** HCV GT. Próbki osocza uzyskane od dawców HCV-ujemnych zawierające markery immunologiczne toczenia rumieniowatego układowego (SLE), reumatoidalnego zapalenia stawów (RA) oraz przeciwciała przeciwjądrowych (ANA) poddano badaniu testem **cobas®** HCV GT zarówno w obecności, jak i przy braku wirusa HCV o genotypie 1a, w stężeniu wynoszącym w przybliżeniu 1500 IU/ml, i nie odnotowano wpływu na działanie testu **cobas®** HCV GT.

Próbki osocza zawierające leki wymienione w Tabela 10 w stężeniu wynoszącym trzykrotność stężenia maksymalnego C_{max} były badane przy użyciu testu **cobas®** HCV GT zarówno w obecności, jak i przy braku wirusa HCV o genotypie 1a, w stężeniu wynoszącym w przybliżeniu 1500 IU/ml. Wirus HCV o genotypie 1a został wykryty we wszystkich próbkach zawierających wirusa HCV, a wynik błędny (przewidywany wynik dla próbek HCV-ujemnych) został uzyskany dla wszystkich próbek niezawierających HCV, co dowodzi, że leki te nie zakłócają działania testu **cobas®** HCV GT.

Tabela 10: Składniki leków badane pod kątem interferencji z identyfikacją genotypu przez test **cobas®** HCV GT

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
Proteaza HCV	Boceprewir	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 skuteczności testu cobas® HCV GT w porównaniu z produktem do diagnostyki *in vitro* opatrzonym znakiem CE

Porównano skuteczność testu **cobas® HCV GT** i produktu do diagnostyki *in vitro* polegającej na określaniu genotypu wirusa HCV, opatrzonego znakiem CE, pod kątem identyfikacji genotypów od 1 do 6 wirusa HCV przez zbadanie 379 HCV-dodatnich próbek z użyciem obu metod (Tabela 11). W ramach tego badania obie metody pozwoliły na uzyskanie prawidłowych wyników, z jednym genotypem, w przypadku 334 z 379 próbek. Dwie próbki nie przyniosły wyników z użyciem produktu porównawczego z powodu błędów systemu, a w przypadku 43 próbek uzyskano wyniki nieokreślone lub wyniki z genotypem mieszanym przy użyciu jednej lub obu metod. Procent zgodności między testem **cobas® HCV GT** a produktem porównawczym do identyfikacji genotypów od 1 do 6 wirusa HCV wynosił 99,7% (333/334). Zgodność między produktem porównawczym a testem **cobas® HCV GT** do identyfikacji podtypów 1a i 1b genotypu 1 została wyznaczona w oparciu o wyniki 99 próbek z genotypem 1a i 50 próbek z genotypem 1b, zidentyfikowanych metodą sekwencjonowania kwasu nukleinowego. Prawidłowe wyniki identyfikujące podtyp zostały uzyskane przy użyciu obu metod w przypadku 142 z 149 próbek. Jedna próbka z genotypem 1a i 4 próbki z genotypem 1b (zidentyfikowane metodą sekwencjonowania kwasu nukleinowego) przyniosły wynik w postaci genotypu 1 dla produktu porównawczego, bez identyfikacji podtypu 1a ani 1b. Jedna próbka z genotypem 1b (zidentyfikowana metodą sekwencjonowania kwasu nukleinowego) dała wynik nieokreślony dla produktu porównawczego, a jedna próbka z genotypem 1b dała wynik z genotypem 1 przy użyciu testu **cobas® HCV GT**. Procent zgodności między testem **cobas® HCV GT** a produktem porównawczym do identyfikacji podtypów 1a i 1b wirusa HCV wynosił 100,0% (142/142).

Tabela 11: Porównanie testu **cobas® HCV GT** z urządzeniem do diagnostyki *in vitro* opatrzonym znakiem CE, do identyfikacji genotypów od 1 do 6 wirusa HCV

Wynik badania genotypu dla produktu porównawczego	Liczba wyników ^a	Wyniki testu cobas® HCV GT zgodne z wynikami produktu porównawczego	Procent zgodności	95% CI ^b	
				LL	UL
1	150 ^c	149 ^c	99,3 (149/150)	96,3	100
2	52	52	100,0 (52/52)	93,2	100
3	44	44	100,0 (44/44)	92,0	100
4	50	50	100,0 (50/50)	92,9	100
5	24	24	100,0 (24/24)	85,8	100
6	14	14	100,0 (14/14)	76,8	100
Ogółem	334	333	99,7 (333/334)	98,3	100

^a Obejmuje wszystkie próbki z ważnym wynikiem z jednym genotypem, zarówno dla produktu porównawczego, jak i dla testu **cobas® HCV GT**. Wyłączono próbki z wynikiem błędnym, nieokreślonym lub wyniki z mieszanym genotypem, uzyskane wskutek użycia dowolnej lub obu metod.

^b Dwustronny 95% przedział ufności.

^c Jedna próbka, w przypadku której uzyskano wynik z genotypem 1 przy użyciu produktu porównawczego, dała wynik z genotypem 6 badana testem **cobas® HCV GT** i metodą sekwencjonowania kwasu nukleinowego. Jedna próbka z wynikiem z genotypem 1 uzyskanym w badaniu zarówno produktem porównawczym, jak i testem **cobas® HCV GT**, uzyskała wynik z genotypem 3 w badaniu metodą sekwencjonowania kwasu nukleinowego.

Tabela 12: Porównanie testu **cobas® HCV GT** z urządzeniem do diagnostyki *in vitro* opatrzonym znakiem CE, do identyfikacji podtypów 1a i 1b genotypu 1

Wynik badania genotypu dla produktu porównawczego	Liczba wyników ^a	Wyniki testu cobas® HCV GT zgodne z wynikami produktu porównawczego	Procent zgodności	95% CI ^b	
				LL	UL
1a	98	98	100,0 (98/98)	96,3	100
1b	44	44	100,0 (44/44)	92,0	100
Ogółem	142	142	100,0 (142/142)	97,5	100

^a Obejmuje wszystkie próbki z genotypem 1a i 1b zidentyfikowane metodą sekwencjonowania kwasu nukleinowego, w przypadku których uzyskano prawidłowe wyniki w badaniu produktem porównawczym i testem **cobas® HCV GT**. Wyłączono próbki z wynikiem błędnym, nieokreślonym lub wyniki z mieszanym genotypem, uzyskane wskutek użycia dowolnej lub obu metod.

^b Dwustronny 95% przedział ufności.

Błąd całego systemu

Wskaźnik błędu całego systemu, mogącego prowadzić do uzyskania wyników fałszywie ujemnych, dla testu **cobas® HCV GT** określono badając całkowitą liczbę 200 powtórzeń próbek osocza pobranego na EDTA i surowicy z wirusem HCV o genotypie 1a, dodanym do osiągnięcia stężenia 375 IU/ml, co stanowi w przybliżeniu trzykrotność granicy wykrywalności dla genotypu 1a. Test **cobas® HCV GT** prawidłowo zidentyfikował genotyp 1a we wszystkich 200 próbkach, co daje błąd całego systemu wynoszący 0,0% (górna granica jednostronnego 95% przedziału ufności 1,49%).

Zanieczyszczenie pomiędzy próbkami

Wskaźnik zanieczyszczenia między próbkami dla testu **cobas® HCV GT** został określony w drodze wykonania ośmiu partii testów **cobas® HCV GT**, każdej składającej się z 15 powtórzeń badania próbki osocza pobranego na EDTA, zawierającej kontrolę dodatnią HCV GT w postaci cząsteczek Armored RNA w stężeniu równoważnym 1,0E+08 IU/ml i 15 powtórzeń badania próbki HCV-ujemnej zawierającej osocze pobrane na EDTA. Probki zostały umieszczone w statywach na próbki w odpowiednich miejscach w układzie naprzemiennym, aby utworzyć schemat na płytce do ekstrakcji próbek w aparacie **cobas® x 480**. Wszystkie 120 powtórzeń badań HCV-ujemnego osocza pobranego na EDTA dały wynik błędny, oczekiwany wynik dla próbek HCV-ujemnych, co daje zanieczyszczenia między próbkami 0,0% (górna granica jednostronnego 95% przedziału ufności 2,47%).

Dodatkowe informacje

Najważniejsze cechy testu

Rodzaj próbki	Próbki osocza pobranego na EDTA, surowicy
Objętość przetwarzania próbki	400 µl
Identyfikowane genotypy i podtypy	Genotypy 1–6 wirusa HCV i podtypy a i b genotypu 1.
Dokładność	Dla identyfikacji genotypów 1–6 wirusa HCV: 99,7% Dla identyfikacji podtypów 1a i 1b genotypu 1 wirusa HCV: 100%
Czułość analityczna	Surowica: od 50 do 125 IU/ml (genotypy 1a, 1b, 2, 3, 4 i 6), 500 IU/ml (genotyp 5) Osocze: od 125 do 250 IU/ml (genotypy 1a, 1b, 2, 3, 4 i 6), 1000 IU/ml (genotyp 5)

Oznaczenia

Na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR stosuje się następujące oznaczenia.

Tabela 13: 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 powtórnie	Procedure Standard Procedura standardowa
EC REP Autoryzowany Przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej	 Kobieta	STERILE EO Produkt sterylizowany tlenkiem etylenu
BARCODE Arkusze 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 ultraczuła
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 (pomocy) technicznego należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem:

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

Wytwórca

Tabela 14: 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.



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. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, Balan V, Diago M, Marcellin P, et al.; PEGASYS International Study Group. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med*. 2004;140:346-355.
6. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014;60:392-420.
7. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-128.
8. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-493.
9. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-878.
10. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Wersja dokumentu

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