

cobas[®] HCV

**Количественный тест для определения нуклеиновых кислот
в системе cobas[®] 4800**

Для диагностики in vitro

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

СОДЕРЖАНИЕ

Назначение

Описание теста

Введение	4
Обоснование необходимости тестирования ВГС	5
Принципы теста	5
Процедуры, лежащие в основе теста.....	5

Реагенты и материалы

Реагенты	7
Хранение реагентов и правила работы с ними	12
Необходимые дополнительные материалы	12
Необходимое оборудование и программное обеспечение, не включенное в поставку	13
Поддерживаемые пробирки для образцов	13

Меры предосторожности и правила работы с реагентами

Меры предосторожности	14
Надлежащая лабораторная практика	15
Обращение с реагентами	15
Контаминация	15
Целостность	16
Утилизация	16
Разлив жидкости и очистка.....	16
Сбор, транспортировка и хранение образцов	17
Сбор образцов.....	17
Транспортировка, хранение и стабильность образцов	17

Инструкция по работе с набором

Постановка теста.....	18
Объем обрабатываемого образца	18
Объем постановки.....	18
Рабочий процесс	19

Результаты

Контроль качества и валидности результатов	22
Интерпретация результатов для контролей.....	22
Интерпретация результатов.....	23
Список сигнальных сообщений для результатов	24
Ограничения процедуры.....	25

Результаты неклинических испытаний теста

Основные характеристики набора	26
Международный стандарт ВОЗ	26
Линейный диапазон	28
Внутрилабораторная воспроизводимость	30
Верификация генотипов	32
Специфичность	33
Корреляция методов	36
Эквивалентность типов образца — плазма с ЭДТА и сыворотка крови	37
Системные нарушения	37
Перекрестная контаминация	37

Дополнительная информация

Основные характеристики теста	38
Условные обозначения	39
Производитель	40
Товарные знаки и патенты	40
Авторское право	40
Литература	41
Редакция документа	43

Назначение

Тест **cobas® HCV** является *in vitro* тестом, основанным на амплификации нуклеиновых кислот, для детекции и количественного анализа РНК вируса гепатита С (ВГС) в образцах человеческой плазмы с ЭДТА или сыворотки крови, полученных от инфицированных ВГС лиц. Данный тест валидирован для детекции и количественного анализа ВГС генотипов с 1 по 6.

Тест предназначен для помощи при диагностике ВГС-инфекции у следующих групп: лица с наличием антител к ВГС и признаков заболевания печени, лица с подозрением на активную инфекцию и наличием антител к ВГС, а также лица с риском инфицирования ВГС и наличием антител к ВГС. Выявление РНК ВГС указывает на репликацию вируса и, следовательно, служит признаком активной инфекции.

Тест предназначен для помощи при наблюдении инфицированных ВГС пациентов, получающих противовирусную терапию. Использование теста позволяет определять исходные уровни РНК ВГС и уровни во время лечения, а также прогнозировать устойчивый и неустойчивый вирусологические ответы на терапию ВГС. Результаты данного теста необходимо интерпретировать в контексте всех значимых клинических и лабораторных показателей.

Описание теста

Введение

Вирус гепатита С (ВГС) является основным этиологическим агентом, ответственным за 90 % — 95 % случаев посттрансфузионного гепатита ¹⁻⁴. Геном ВГС представлен одноцепочечной позитивной цепью вирусной РНК длиной примерно 9500 нуклеотидов, кодирующей 3000 аминокислот. Являясь гемоконтактным вирусом, ВГС может передаваться с кровью и ее компонентами. Широкое внедрение скрининга донорской крови на ВГС привело к значительному снижению риска посттрансфузионного гепатита. Чаще всего инфицирование ВГС связано с внутривенным употреблением наркотиков, в меньшей степени — с другими чрескожными манипуляциями ⁴.

Количественное определение РНК ВГС для измерения исходной вирусной нагрузки и ее мониторинга во время терапии является важнейшим методом оценки эффективности противовирусного ответа на комбинированную терапию пегилированным интерфероном и рибавирином (пегИФН/РБВ) ⁵⁻⁹.

Руководства по ведению и терапии ВГС ^{10, 11} рекомендуют проводить количественный анализ РНК ВГС до начала противовирусной терапии, в определенные временные интервалы во время терапии (управляемая ответом терапия) и через 12 недель или позже после окончания терапии.

Отсутствие выявления РНК ВГС в чувствительном тесте через 12 недель после терапии является целью терапии и свидетельствует о достижении устойчивого вирусологического ответа (УВО) ¹⁰.

Определение вирусной кинетики во время терапии используется для персонализации продолжительности лечения с применением новых противовирусных препаратов прямого действия (ПППД) — ингибиторов вирусной протеазы теллапревира и боцепревира ¹²⁻¹⁵.

Обоснование необходимости тестирования ВГС

Наличие антител к ВГС указывает на встречу организма с ВГС. Однако анти-ВГС-положительный статус не позволяет дифференцировать острую, хроническую и перенесенную инфекции. Обнаружение РНК ВГС в сыворотке или плазме крови указывает на продолжающуюся репликацию вируса и, таким образом, применяется для выявления пациентов с персистирующей ВГС-инфекцией.

Несмотря обширный и постоянно пополняющийся спектр высокоэффективных ВГС-специфичных ПППД, включая ингибиторы протеазы второго поколения, ингибиторы полимеразы и ингибиторы NS5A, а также несмотря на высокий темп разработки перспективных лекарственных препаратов для лечения ВГС-инфекции, мониторинг вирусной нагрузки остается основным лабораторным тестом для подтверждения достижения УВО в результате терапии с применением ПППД^{16–21}.

Таким образом, тест **cobas® HCV** является количественным тестом для детекции РНК ВГС, диагностики активной инфекции и определения вирусной кинетики при применении как в лабораториях, участвующих в клинических испытаниях, так и в лабораториях, проводящих рутинное обследование пациентов с ВГС.

Принципы теста

Тест **cobas® HCV** является количественным тестом для определения нуклеиновых кислот, выполняемым в системе **cobas® 4800 System**. Тест **cobas® HCV** обеспечивает выявление и количественный анализ РНК ВГС в образцах плазмы с ЭДТА и сыворотки от инфицированных пациентов. Два зонда применяются для детекции и количественного определения, но не дифференциации генотипов 1–6 ВГС. Определение вирусной нагрузки проводится относительно количественного стандарта — фрагмента не относящейся к геному ВГС защищенной РНК (Armored RNA) (RNA QS), вносимого в каждый образец во время пробоподготовки. RNA QS также работает как внутренний контроль для мониторинга всего процесса пробоподготовки и амплификации в ПЦР. Также в тесте применяются три внешних контроля: положительный высокотитражный, положительный низкотитражный и отрицательный.

Процедуры, лежащие в основе теста

Тест **cobas® HCV** основан на полностью автоматизированной пробоподготовке (выделении и очистке нуклеиновых кислот) с последующей амплификацией в ПЦР и детекцией. Система **cobas® 4800 System** состоит из прибора **cobas® x 480** и анализатора **cobas® z 480**. Автоматизированное управление данными осуществляется в программе **cobas® 4800**, которая выдает результаты всех тестов как «мишень не выявлена», «< LLoQ (ниже предела количественного определения)», «> ULoQ (выше предела количественного определения)» или «РНК ВГС выявлена, концентрация в линейном диапазоне $LLoQ \leq x \leq ULoQ$ ». Результаты можно просматривать непосредственно на экране системы, экспортировать и распечатывать в виде отчета.

Нуклеиновые кислоты образцов пациентов, внешних контролей и вносимых в образцы молекул защищенной РНК (Armored RNA) (RNA QS) выделяются одновременно. Вирусные нуклеиновые кислоты освобождаются в результате внесения в образец протеазы и лизирующего реагента. Освободившиеся нуклеиновые кислоты связываются с кремниевой поверхностью внесенных в образец магнитных стеклянных частиц. Несвязавшиеся вещества и примеси, например денатурировавшие белки, клеточный дебрис, потенциальные ингибиторы ПЦР, удаляются на последующих этапах отмывки от реагентов, и очищенная нуклеиновая кислота элюируется со стеклянных частиц буфером для элюции при повышенных температурах.

Избирательная амплификация нуклеиновой кислоты-мишени из клинического образца достигается благодаря использованию прямого и обратного праймеров, подобранных к высококонсервативным участкам генома ВГС. Избирательная амплификация RNA QS достигается благодаря использованию специфичных прямого и обратного праймеров, не имеющих гомологии с геномом ВГС. Термостабильный фермент ДНК-полимераза используется для обратной транскрипции и ПЦР-амплификации. В состав мастермикса вместо трифосфата дезокситимидина (dTTP) входит трифосфат дезоксиуридина (dUTP), который встраивается во вновь синтезируемые цепи ДНК (ампликон)^{22–24}. Любые контаминирующие ампликоны из предыдущих постановок ПЦР разрушаются ферментом AmpErase, входящим в состав мастермиксов для ПЦР, перед первым этапом денатурации в ПЦР. Фермент AmpErase катализирует удаление урацила из ДНК, однако он неактивен в отношении РНК и природной ДНК, не содержащей урацил. Вновь синтезируемые при ПЦР ампликоны не разрушаются, поскольку фермент AmpErase инактивируется при температурах отжига праймеров и денатурации в ПЦР.

Мастермикс теста **cobas®** HCV содержит два зонда для детекции последовательностей ВГС и один зонд для детекции RNA QS. Каждый зонд мечен мишень-специфичным флуоресцентным репортерным красителем, что позволяет проводить одновременную детекцию ВГС и RNA QS по двум разным каналам^{25, 26}. При несвязывании с последовательностью-мишенью флуоресцентный сигнал интактного зонда подавляется гасителем. Во время ПЦР-амплификации зонды гибридизуются со специфичными одноцепочечными молекулами ДНК и разрушаются вследствие 5'–3' нуклеазной активности ДНК-полимеразы. Это приводит к разделению репортерного и гасящего красителей и, как следствие, генерированию флуоресцентного сигнала. На каждом цикле ПЦР увеличивается количество разрушенных зондов и происходит кумулятивный рост сигнала от репортерного красителя. Детекция в режиме реального времени и дифференциация продуктов ПЦР происходят благодаря измерению флуоресцентного сигнала от репортерных красителей вирусной мишени и RNA QS.

Реагенты и материалы

Реагенты

Все неоткрытые емкости с реагентами и контролями должны храниться согласно рекомендациям в табл. Хранение реагентов и правила работы с ними.

Набор	Реагенты и их состав	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения ^a
cobas® HCV 120 тестов (P/N: 06979602190)	MMX R1 (cobas® мастермикс реагент 1) Ацетат марганца, гидроксид калия, < 0,1 % азид натрия	10 × 1,75 мл	Нет
	HCV MMX R2 (cobas® HCV мастермикс реагент 2) Трициновый буфер, ацетат калия, 18 % диметилсульфоксид, глицерин, < 0,1 % Tween 20, ЭДТА, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01 % праймеры ВГС, < 0,01 % прямой и обратный праймеры для количественного стандарта, < 0,01 % меченные флуоресцентным красителем олигонуклеотидные зонды для ВГС и количественного стандарта, < 0,01 % олигонуклеотидный аптамер, < 0,01 % Z05D ДНК-полимераза (бактериальная), < 0,01 % фермент AmpErase (урацил-N-гликозилаза) (бактериальный), < 0,1 % азид натрия	10 × 0,5 мл	Нет
	RNA QS (cobas® количественный стандарт РНК) Трис буфер, < 0,05 % ЭДТА, < 0,001 % не относящаяся к ВГС защищенная РНК (Armored RNA) внутреннего контроля, содержащая специфичные сайты посадки праймеров и зонда (неинфекционная РНК, заключенная в бактериофаг MS2), < 0,1 % азид натрия	10 × 1,75 мл	Нет

Набор	Реагенты и их состав	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения ^a
Набор контролей cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit 10 комплектов (P/N: 06979572190)	HBV/HCV/HIV-1 L(+) C (низкотитражный положительный контроль cobas® HBV/HCV/HIV-1) < 0,001 % синтетическая (защищенная) РНК ВИЧ-1 группы М в оболочечном белке бактериофага MS2, < 0,001 % синтетическая (плазмидная) ДНК ВГВ в оболочечном белке бактериофага Лямбда, < 0,001 % синтетическая (защищенная) РНК ВГС в оболочечном белке бактериофага MS2, нормальная человеческая плазма, нереактивная в лицензированных тестах на антитела к ВИЧ-1/2, антитела к ВГС, HBsAg, антитела к HBc; негативная по РНК ВИЧ-1, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ при тестировании методом ПЦР. 0,1 % консервант ProClin® 300	10 × 0,75 мл	  Внимание H317 При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию. P261 Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/паров/аэрозолей. P272 Не выносить загрязненную одежду с рабочего места. P280 Использовать защитные перчатки. P333 + P313 При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться к врачу. P362 + P364 Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед использованием. P501 Утилизировать содержимое/контейнер в специализированном центре. Смесь 55965-84-9: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-он [ЕС № 247-500-7] и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он [ЕС № 220-239-6] (3:1)
	HBV/HCV/HIV-1 H(+) C (высокотитражный положительный контроль cobas® HBV/HCV/HIV-1) < 0,001 % синтетическая (защищенная) РНК ВИЧ-1 группы М в оболочечном белке бактериофага MS2, < 0,001 % синтетическая (плазмидная) ДНК ВГВ в оболочечном белке бактериофага Лямбда, < 0,001 % синтетическая (защищенная) РНК ВГС в оболочечном белке бактериофага MS2, нормальная человеческая плазма, нереактивная в лицензированных тестах на антитела к ВИЧ-1/2, антитела к ВГС, HBsAg, антитела к HBc; негативная по РНК ВИЧ-1, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ при тестировании методом ПЦР. 0,1 % консервант ProClin® 300	10 × 0,75 мл	
	(-) C (cobas® отрицательный контроль) Нормальная человеческая плазма, нереактивная в лицензированных тестах на антитела к ВИЧ-1/2, антитела к ВГС, HBsAg, антитела к HBc; негативная по РНК ВИЧ-1, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ при тестировании методом ПЦР. < 0,1 % консервант ProClin® 300	10 × 0,75 мл	

Набор	Реагенты и их состав	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения ^a
Набор для пробоподготовки cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 240 тестов (P/N: 06979513190)	MGP 2 (cobas® 4800 MGP реагент 2) Магнитные стеклянные частицы, трис буфер, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат, < 0,1 % азид натрия	10 × 8 мл	Нет
	EB 2 (буфер для элюции cobas® 4800 Elution Buffer 2) Трис буфер, 0,2 % метил-4-гидроксibenзоат	10 × 17 мл	
Набор для пробоподготовки cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 960 тестов (P/N: 06979521190)	MGP 2 (cobas® 4800 MGP реагент 2) Магнитные стеклянные частицы, трис буфер, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат, < 0,1 % азид натрия	10 × 16 мл	Нет
	EB 2 (буфер для элюции cobas® 4800 Elution Buffer 2) Трис буфер, 0,2 % метил-4-гидроксibenзоат	10 × 17 мл	
Реагент для промывки cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 тестов (P/N: 05235863190)	WB Дигидрат цитрата натрия, 0,05 % N-метилизотиазолон HCl	10 × 55 мл	Нет
Реагент для промывки cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 тестов (P/N: 05235871190)	WB Дигидрат цитрата натрия, 0,05 % N-метилизотиазолон HCl	10 × 200 мл	Нет
Дилуэнт для образцов cobas® 4800 System Specimen Diluent 2 240 тестов (P/N: 06979556190)	SD 2 Трис буфер, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат, < 0,1 % азид натрия	10 × 8 мл	Нет

Набор	Реагенты и их состав	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения ^a
Лизирующий реагент cobas® 4800 System Lysis Kit 2 240 тестов (P/N: 06979530190)	P 2 (cobas® 4800 протеаза 2) Трис буфер, < 0,05 % ЭДТА, хлорид кальция, ацетат кальция, 8 % (м/о) протеаза ⁶	10 × 1,0 мл	 ОПАСНО H317: При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию. H334: При вдыхании может вызвать аллергическую реакцию (астму или затрудненное дыхание). P261: Избегать вдыхания тумана или паров. P280: Использовать защитные перчатки. P284: Пользоваться средствами защиты органов дыхания. P304 + P340: ПРИ ВДЫХАНИИ: вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении. P333 + P313: При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться за медицинской помощью. P342 + P311: При возникновении симптомов астмы или затрудненного дыхания обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту. 39450-01-6 Сериновая протеиназа (из <i>Tritirachium album</i>)
	LYS 2 (лизирующий реагент cobas® 4800 Lysis Buffer 2) 43 % (м/м) гуанидин тиоцианат ⁶ , 5 % (м/о) полидоканол ⁶ , 2 % (м/о) дитиотреитол, дигидрат цитрата натрия	10 × 27 мл	   ОПАСНО H302: Вредно при проглатывании. H314: Вызывает серьезные ожоги кожи и повреждения глаз. H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями. EUN032: При контакте с кислотой выделяет особо токсичный газ. EUN071: Коррозионное воздействие на дыхательные пути. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Использовать перчатки, спецодежду и средства для защиты глаз/лица/органов слуха. P303 + P361 + P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой. P304 + P340 + P310: ПРИ ВДЫХАНИИ: вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту. P305 + P351 + P338 + P310: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту. P391: Ликвидировать просыпания/проливы/утечки. 593-84-0 Гуанидин тиоцианат 9002-92-0 Полидоканол 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-димеркаптобутан-2,3-диол

Набор	Реагенты и их состав	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения ^a
Лизирующий реагент cobas® 4800 System Lysis Kit 2 960 тестов (P/N: 06979548190)	P 2 (cobas® 4800 протеаза 2) Трис буфер, < 0,05 % ЭДТА, хлорид кальция, ацетат кальция, 8 % (м/о) протеаза ^б	10 × 1,0 мл	 ОПАСНО H317: При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию. H334: При вдыхании может вызвать аллергическую реакцию (астму или затрудненное дыхание). P261: Избегать вдыхания тумана или паров. P280: Использовать защитные перчатки. P284: Пользоваться средствами защиты органов дыхания. P304 + P340: ПРИ ВДЫХАНИИ: вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении. P333 + P313: При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться за медицинской помощью. P342 + P311: При возникновении симптомов астмы или затрудненного дыхания обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту. 39450-01-6 Сериновая протеиназа (из <i>Tritirachium album</i>)
	LYS 2 (лизирующий реагент cobas® 4800 Lysis Buffer 2) 43 % (м/м) гуанидин тиоцианат ^б , 5 % (м/о) полидоканол ^б , 2 % (м/о) дитиотреитол, дигидрат цитрата натрия	10 × 84 мл	   ОПАСНО H302: Вредно при проглатывании. H314: Вызывает серьезные ожоги кожи и повреждения глаз. H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями. EUN032: При контакте с кислотой выделяет особо токсичный газ. EUN071: Коррозионное воздействие на дыхательные пути. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Использовать перчатки, спецодежду и средства для защиты глаз/лица/органов слуха. P303 + P361 + P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой. P304 + P340 + P310: ПРИ ВДЫХАНИИ: вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту. P305 + P351 + P338 + P310: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту. P391: Ликвидировать просыпания/проливы/утечки. 593-84-0 Гуанидин тиоцианат 9002-92-0 Полидоканол 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-димеркаптобутан-2,3-диол

^a Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

^б Опасное для здоровья вещество.

Хранение реагентов и правила работы с ними

Реагент	Температура хранения	Длительность хранения
cobas® HCV	2–8 °C	Стабилен до истечения указанного срока годности.
Набор контролей cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	2–8 °C	Стабилен до истечения указанного срока годности.
Набор для пробоподготовки cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2–8 °C	Стабилен до истечения указанного срока годности.
Реагент для промывки cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	15–25 °C	Стабилен до истечения указанного срока годности.
Дилуэнт для образцов cobas® 4800 System Specimen Diluent 2	2–8 °C	Стабилен до истечения указанного срока годности.
Лизирующий реагент cobas® 4800 System Lysis Kit 2	2–8 °C	Стабилен до истечения указанного срока годности.

Реагенты не замораживать.

Необходимые дополнительные материалы

Материалы	P/N
Планшет cobas® 4800 System Extraction (глубоколуночный) 2,0 мл	06884008001
Планшет cobas® 4800 System AD (микропланшет) 0,3 мл	05232724001
Аппликатор для заклеивающей пленки	04900383001
CORE наконечники, 1000 мкл, 96 шт. в штативе	04639642001
Резервуар для реагентов, 200 мл	05232759001
Резервуар для реагентов, 50 мл	05232732001
Штатив на 24 позиции	04639502001
Штатив на 32 позиции	04639529001
Пакет для твердых отходов	05530873001 (малый) или 04691989001 (большой)
Пластиковый рукав Hamilton STAR	04639669001
Лабораторные перчатки, без талька	Любые одноразовые перчатки без талька.
Вортекс (на одну пробирку)	Любой вортекс.
Центрифуга с бакет-ротором, минимальная RCF 1500	Любая соответствующая центрифуга.

За дополнительной информацией о приобретаемых отдельно материалах обратитесь в местное представительство компании Roche.

Необходимое оборудование и программное обеспечение, не включенное в поставку

Необходимое оборудование и программное обеспечение, не включенное в поставку
Система cobas® 4800 System Прибор cobas® x 480 Анализатор cobas® z 480 Управляющий компьютер
Программа cobas® 4800 System Application Software (Core) 2.2.0 или более поздней версии
Программа cobas® 4800 System cobas® HCV AP 1.1.0 или более поздней версии

Примечание. Обратитесь в местное представительство компании Roche за подробным списком штативов для образцов, штативов для наконечников, штативов для реагентов и штативов с планшетами, подходящих приборам.

Поддерживаемые пробирки для образцов

С тестом можно использовать применяемые в общей практике первичные и вторичные пробирки.

Поддерживаются следующие пробирки для образцов:

Первичные пробирки

Номинальный диаметр (мм)	Объем образца – обработанной (центрифугированной) цельной крови		Добавка (консервант)	
	400 мкл обрабатываемого объема	200 мкл обрабатываемого объема	Плазма с ЭДТА	Сыворотка крови
11–14	1800 мкл и более	1000 мкл и более	С гелем или без геля	С гелем
14,5-16	Более 4000 мкл	Более 4000 мкл	С гелем или без геля	С гелем

Для получения информации о заказе определенных пробирок для образцов и о минимальных объемах образцов для определенных первичных пробирок свяжитесь с местным представительством компании Roche.

Вторичные пробирки

Номинальный диаметр (мм)	Объем образца	
	400 мкл обрабатываемого объема	200 мкл обрабатываемого объема
11-16	1000 мкл и более (минимальный объем определенных вторичных пробирок — менее 1000 мкл)	750 мкл и более (минимальный объем определенных вторичных пробирок — менее 750 мкл)

Для получения информации о заказе определенных пробирок для образцов и о минимальных объемах образцов для определенных вторичных пробирок свяжитесь с местным представительством компании Roche.

Меры предосторожности и правила работы с реагентами

Меры предосторожности

Как и при выполнении любой процедуры, соблюдение правил надлежащей лабораторной практики является условием качественного выполнения данного теста. Вследствие высокой аналитической чувствительности теста необходимо тщательно оберегать от контаминации реагенты, образцы и амплификационные смеси.

- Только для диагностики *in vitro*.
- Тест **cobas®** HCV не валидирован для использования в качестве скринингового теста на наличие ВГС в крови и ее продуктах.
- Все образцы нужно рассматривать как потенциально инфекционные и соблюдать при работе с ними правила биологической безопасности, приведенные в документах Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories и CLSI Document M29-A4^{27, 28}. Только персонал, обученный работе с биологически опасными материалами, а также работе с тестом **cobas®** HCV и системой **cobas®** 4800 System, может выполнять данную процедуру.
- Все материалы человеческого происхождения должны рассматриваться как потенциально инфекционные, работать с ними нужно с соблюдением стандартных мер предосторожности.
- Набор контролей **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 Control Kit содержит плазму, полученную из человеческой крови. Источник был протестирован в лицензированных тест-системах для выявления антител и оказался нереактивным по антителам к ВГС, антителам к ВИЧ-1/2, HBsAg и антителам к HBc. Тестирование методом ПЦР также подтвердило отсутствие РНК ВИЧ-1, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ. Ни один из известных методов не может обеспечить полную гарантию отсутствия инфекционных агентов в продуктах крови человека.
- Не допускайте контакта MGP с источниками магнитного поля.
- **Не замораживайте цельную кровь и другие образцы, находящиеся в первичных пробирках.**
- Для оптимального выполнения теста используйте только входящие в состав системы или рекомендованные для нее производителем расходные материалы.
- Паспорта безопасности материалов (SDS) доступны по запросу в вашем региональном представительстве компании Roche.
- Внимательно следуйте рекомендациям и инструкциям для корректного проведения теста. Любое отклонение от инструкции может повлиять на результаты теста.
- Ложноположительные результаты могут быть получены при отсутствии адекватного контроля перекрестных контаминаций при работе с образцами.
- Дополнительные предупреждения и сведения о мерах предосторожности и процедурах по снижению риска контаминации при работе с прибором **cobas®** x 480 или анализатором **cobas®** z 480 приведены в поддержке пользователя системы **cobas®** 4800 System. При подозрении на контаминацию выполните процедуры по очистке и еженедельному обслуживанию согласно инструкциям в поддержке пользователя системы **cobas®** 4800 System.

Примечание. Специальные инструкции приведены в разделе «Сбор, транспортировка и хранение образцов».

Надлежащая лабораторная практика

- Не пипетируйте ртом.
- Не ешьте, не пейте и не курите в рабочих лабораторных помещениях.
- Тщательно мойте руки после работы с образцами и компонентами набора и после снятия лабораторных перчаток.
- Работайте с любыми реагентами в лабораторных перчатках, лабораторном халате и средствах для защиты глаз. Избегайте попадания данных материалов в глаза, на кожу или слизистые оболочки. При попадании немедленно промойте большим количеством воды. В противном случае могут возникнуть ожоги. При разлитии реагентов залейте их водой, затем вытрите насухо.
- Тщательно очищайте и дезинфицируйте все рабочие поверхности свежеприготовленным 0,5%-м раствором гипохлорита натрия в дистиллированной или деионизованной воде (разведите бытовую хлорку в соотношении 1:10), затем протирайте их 70%-м этанолом.
- Поддерживайте температуру воздуха в лаборатории согласно характеристикам внешней среды, указанным в поддержке пользователя системы **cobas® 4800 System**.

Обращение с реагентами

- Работайте со всеми реагентами, контролями и образцами в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики для предотвращения перекрестной контаминации образцов и контролей.
- Перед началом работы осмотрите все пробирки и флаконы с реагентами и убедитесь в отсутствии протекания. При наличии протечки не используйте данный материал для постановки теста.
- Лизирующий реагент **cobas® 4800 Lysis Buffer 2** содержит гуанидин тиоцианат — потенциально опасное вещество. Не допускайте попадания реагента на кожу, в глаза, на слизистые оболочки. В случае попадания немедленно смойте большим количеством воды; в противном случае может возникнуть ожог.
- Реагенты теста **cobas® HCV**, набор для пробоподготовки **cobas® 4800 Sample Preparation Kit 2** и дилуент для образцов **cobas® 4800 System Specimen Diluent 2** содержат в качестве консерванта азид натрия. Не допускайте попадания реагента на кожу, в глаза, на слизистые оболочки. В случае попадания немедленно смойте большим количеством воды; в противном случае может возникнуть ожог. При проливе этих реагентов залейте их водой и затем вытрите.
- Не допускайте контакта лизирующего реагента **cobas® 4800 Lysis Buffer 2**, содержащего гуанидин тиоцианат, с раствором гипохлорита натрия (хлорки). Данная смесь может выделять высокотоксичный газ.

Контаминация

- Для предотвращения контаминации необходимо работать в одноразовых лабораторных перчатках и менять их при переходе от работы с образцами к работе с реагентами теста **cobas® HCV**. Не допускайте контаминации перчаток при работе с образцами и контролями. Работайте с образцами и реагентами из наборов в лабораторных перчатках, лабораторном халате и средствах для защиты глаз.
- Не допускайте микробную и рибонуклеазную контаминацию реагентов.
- Перекрестная контаминация, допущенная при работе с образцами, может привести к ложноположительным результатам.

Целостность

- Не используйте набор по истечении срока годности.
- Не объединяйте реагенты.
- Не используйте одноразовые материалы с истекшим сроком годности.
- Все одноразовые материалы предназначены для однократного использования. Не используйте их повторно.
- Все оборудование должно эксплуатироваться в соответствии с инструкциями производителя.

Утилизация

- Реагенты теста **cobas®** HCV, набор для пробоподготовки **cobas®** 4800 System Sample Preparation Kit 2 и дилуэнт для образцов **cobas®** 4800 System Specimen Diluent 2 содержат азид натрия (см. раздел **Меры предосторожности**). Азид натрия может вступать в реакцию со свинцом и медью, которые содержатся в трубах канализации, что приводит к образованию взрывоопасных азидов. При сливе отходов, содержащих азид натрия, в лабораторную раковину смывайте их большим количеством холодной воды, чтобы предотвратить образование азидов.
- Утилизируйте неиспользованные реагенты и отходы в соответствии с государственными, федеральными и региональными правилами.

Примечание. При утилизации жидких отходов следуйте инструкции, приведенной в поддержке пользователя системы **cobas® 4800 System**.

Разлив жидкости и очистка

- Лизирующий реагент **cobas®** 4800 Lysis Buffer 2 содержит гуанидин тиоцианат. При разливе жидкости, содержащей гуанидин тиоцианат, обработайте поверхность лабораторным моющим средством и водой. Если разлитая жидкость содержит потенциально инфекционный материал, СНАЧАЛА обработайте поверхность лабораторным моющим средством и водой, затем 0,5%-м раствором гипохлорита натрия.
- Если разлив произошел в приборе **cobas®** x 480, выполните очистку, следуя инструкциям поддержки пользователя системы **cobas®** 4800 System.
- Не используйте раствор гипохлорита натрия (хлорку) для очистки прибора **cobas®** x 480 или анализатора **cobas®** z 480. Проводите очистку прибора **cobas®** x 480 и анализатора **cobas®** z 480 в соответствии с процедурами, описанными в поддержке пользователя системы **cobas®** 4800 System.

Сбор, транспортировка и хранение образцов

Примечание. *Работайте со всеми образцами как с потенциально инфекционными материалами.*

Храните все образцы при рекомендованных температурах.

Стабильность образцов снижается при повышенных температурах.

При работе с замороженными образцами во вторичных пробирках поместите образцы в условия комнатной температуры (15–30 °C) до полного оттаивания, затем недолго перемешайте (например, на вортексе в течение 3–5 с) и осадите в центрифуге весь объем образца на дне пробирки.

Сбор образцов

Кровь должна быть собрана в пробирки для отделения сыворотки SST™, пробирки для отделения плазмы BD Vacutainer® PPT™ для молекулярной диагностики или в стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта.

Примечание. *Для подготовки образцов сыворотки и плазмы крови необходимо следовать инструкциям производителя пробирок.*

Транспортировка, хранение и стабильность образцов

- Образцы цельной крови, собранные в пробирки для отделения сыворотки SST™, пробирки для отделения плазмы BD Vacutainer® PPT™ для молекулярной диагностики или в стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта, могут храниться и (или) транспортироваться до 24 часов при температуре от 2 °C до 25 °C до отделения плазмы/сыворотки и последующего тестирования.
- Образцы плазмы/сыворотки могут храниться во вторичных пробирках до 24 часов при температуре от 2 °C до 25 °C, до 72 часов при температуре от 2 °C до 8 °C и до 6 недель при температуре ≤ -18 °C. Отделенные образцы плазмы/сыворотки во вторичных пробирках сохраняют стабильность в течение трех циклов замораживания/оттаивания, если хранятся при температуре ≤ -18 °C.
- Если необходимо транспортировать образцы, они должны быть упакованы и маркированы в соответствии с правилами транспортировки образцов и инфекционных агентов, действующими в данной стране, и (или) международными правилами.

Инструкция по работе с набором

Постановка теста

Объем обрабатываемого образца

Базовый объем обрабатываемого образца для теста **cobas® HCV** составляет 400 мкл. Для образцов меньшего объема можно выбрать опцию пробоподготовки из объема 200 мкл. В этом случае в систему необходимо дополнительно загрузить дилуэнт для образцов **cobas® 4800 System Specimen Diluent 2**. Система укажет пользователю на необходимость этого действия, если при создании задания в поле с типом образца было выбрано Diluted serum or plasma (Разведенная сыворотка или плазма).

Рис. 1. Схема постановки теста **cobas® HCV**

1	Запуск системы
2	Обслуживание прибора
3	Извлечение образцов и реагентов из хранения
4	Запуск постановки
5	Сканирование карточек с параметрами
6	Загрузка образцов
7	С использованием ЛИС: подтверждение задания Без использования ЛИС: создание задания
8	Загрузка расходных материалов (глубоколуночные планшеты, микропланшеты, штативы с наконечниками)
9	Загрузка реагентов
10	Запуск пробоподготовки
11	Выгрузка и заклеивание микропланшета
12	Загрузка микропланшета в анализатор
13	Извлечение образцов, использованных реагентов и глубоколуночного планшета
14	Просмотр результатов
15	С использованием ЛИС: отправка результатов в ЛИС
16	Разгрузка анализатора

Примечание. Подробные инструкции приведены в поддержке пользователя системы **cobas® 4800 System**.

Объем постановки

Общие реагенты для пробоподготовки (набор для пробоподготовки **cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2**, лизирующий реагент **cobas® 4800 System Lysis Kit 2** и реагент для промывки **cobas® 4800 System Wash Buffer Kit**) доступны в наборах двух объемов, каждый из которых рассчитан на 10 постановок, включающих либо до 24, либо до 96 образцов, включая контроли и клинические образцы. Тест **cobas® HCV** доступен в виде набора единственного объема, рассчитанного на тестирование до 120 (10 × 12) образцов, включая контроли и клинические образцы. Набор контролей

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit доступен в виде набора единственного объема и рассчитан на все конфигурации постановки. В каждую постановку теста необходимо включать один низкотитражный положительный контроль HBV/HCV/HIV-1, один высокотитражный положительный контроль HBV/HCV/HIV-1 и один отрицательный контроль. Максимальное число образцов в одной постановке - 93 клинических образца и 3 контроля.

На Рис. 1 приведена схема постановки теста.

Примечание. Для оптимального использования общих реагентов для пробоподготовки рекомендуется объем постановки 1–21 образцов (набор объемом 10 × 24 теста) или 1–93 образцов (набор объемом 10 × 96 тестов). Тем не менее в одной постановке не допускается сочетать реагент для промывки **cobas® 4800 System Wash Buffer Kit**, набор для пробоподготовки **cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2** и лизирующий реагент **cobas® 4800 System Lysis Kit 2** из наборов разных объемов. Например, если при запуске постановки сканирован флакон с реагентом для промывки на 96 тестов, необходимо использовать остальные реагенты для пробоподготовки также из наборов на 96 тестов.

Рабочий процесс

Постановка теста **cobas®** HCV полностью управляется программой **cobas®** 4800. Постановка включает в себя пробоподготовку в приборе **cobas®** x 480 и последующую амплификацию/детекцию в анализаторе **cobas®** z 480. Тест **cobas®** HCV можно проводить отдельно от других тестов или в смешанной постановке тестов с идентичными автоматизированным выделением нуклеиновых кислот и профилем ПЦР для амплификации и детекции. На этапе выбора теста программное обеспечение отобразит список тестов, совместимых с тестом **cobas®** HCV в режиме смешанной постановки. Подробные сведения приведены в поддержке пользователя системы **cobas®** 4800 System.

1. Запустите систему, следуя инструкциям поддержки пользователя системы **cobas®** 4800 System.
2. Выполните действия по обслуживанию, следуя инструкциям поддержки пользователя системы **cobas®** 4800 System.
3. Подготовьте все необходимые реагенты и расходные материалы. Перед загрузкой в прибор **cobas®** x 480 реагенты должны быть комнатной температуры, за исключением реагентов HCV MMX R2 и MMX R1. Реагенты HCV MMX R2 и MMX R1 можно загружать непосредственно из места хранения при 2–8 °C, поскольку они нагреются до комнатной температуры в приборе **cobas®** x 480 до начала их использования.

Примечание. Все реагенты и резервуары для них снабжены штрихкодом и предназначены для однократного использования. Программа **cobas®** 4800 отслеживает расходование реагентов и резервуаров для них и отвергает использованные ранее.

4. Запустите новую постановку и выберите тип постановки HCV. Чтобы выполнить смешанную постановку, выберите другие совместимые типы постановки (т. е. HIV-1, CMV или HCV GT) в добавление к HCV.
5. Следуя указаниям навигатора программы, сканируйте штрихкод контрольных диапазонов и калибровочных коэффициентов, указанных на карточке с параметрами.

Примечание. Сканируйте карточки с параметрами реагентов с неистекшим сроком годности. Программное обеспечение не отслеживает дату истечения срока годности реагентов, указанную на карточках с параметрами. Перед сканированием штрихкода проверяйте дату истечения срока годности, напечатанную на карточке с параметрами или на наборах реагентов.

6. Загрузите образцы. Можно загружать первичные или вторичные пробирки, при этом минимальный объем образца зависит от типа и размера пробирки. Подробные сведения приведены в разделе о поддерживаемых пробирках для образцов.
7. Создайте рабочее задание. Существует три способа создать рабочее задание.
 - С помощью редактора образцов перед загрузкой штатива с образцами в прибор **cobas®** x 480 (кнопка Editor в правой части основного меню). Рабочие задания можно сохранять, редактировать и загружать повторно при необходимости. При выборе запрашиваемых результатов выберите HCV.
 - С помощью навигатора программы для новой постановки, следуя указаниям навигатора при загрузке образцов в прибор **cobas®** x 480. Штрихкоды образцов будут сканированы автоматически, при этом необходимо задать запрашиваемые результаты для каждого образца. При выборе запрашиваемых результатов выберите HCV.
 - С помощью ЛИС вашего учреждения.

Подробные сведения приведены в поддержке пользователя системы **cobas®** 4800 System. Загрузите образцы и задайте/выберите задание или загрузите задание из ЛИС.

8. Загрузите расходные материалы, следуя инструкциям навигатора программы. Не загружайте и не вынимайте отдельные наконечники из частично использованных штативов, так как программа отслеживает количество оставшихся наконечников. Если оставшихся наконечников недостаточно для выполнения постановки, программа предупредит оператора.
9. Загрузите реагенты.

Загрузите реагенты для пробоподготовки в резервуары для реагентов, снабженные штрихкодом. Резервуары для реагентов бывают двух объемов: 200 мл и 50 мл. Следуя указаниям навигатора программы, выберите нужный объем резервуаров для реагентов. Штрихкод на резервуарах для реагентов должен быть обращен к правой стороне штатива. Для загрузки реагентов для пробоподготовки используйте правило «сканировать — сканировать — налить — поставить»:

- сканируйте штрихкод флакона с реагентом;
- сканируйте штрихкод резервуара для реагента;
- налейте реагент в резервуар;
- поставьте заполненный резервуар в соответствующую позицию на штативе для реагентов.

Примечание. Система **cobas®** 4800 System снабжена внутренними часами для мониторинга продолжительности пребывания реагентов в приборе. После сканирования WB или LYS 2 предоставляется 1 час до завершения загрузки и нажатия кнопки Start. Таймер обратного отсчета отображается на вкладке Workplace. Если допустимое время будет превышено, система не разрешит запуск постановки.

Примечание. Чтобы обеспечить точный перенос MGP, тщательно перемешайте флакон с MGP вручную или на вортексе непосредственно перед переносом реагента в резервуар.

10. Загрузите флаконы с реагентами для амплификации/детекции (HCV MMX R2, MMX R1 и RNA QS), пробирки с контролями [HBV/HCV/HIV-1 L(+)C, HBV/HCV/HIV-1 H(+)C и (–) C] и флаконы с реагентами для выделения (P 2 и SD 2) непосредственно в штативы для реагентов.

Примечание. *Чтобы не допустить аварийной отмены постановки или контаминации, слегка постучите флаконом с реагентом по столу для предотвращения образования пузырьков/пленки жидкости. Открывайте контроли, начиная с расположенных ближе к вам (от позиции 24 к позиции 1). Смените лабораторные перчатки после работы с положительными контролями.*

11. Запустите пробоподготовку. После успешного завершения пробоподготовки активируются кнопки Sample Preparation results (Результаты пробоподготовки) и Unload (Выгрузка). При необходимости можно нажать кнопку Sample Preparation results и просмотреть результаты пробоподготовки, затем нажать Unload, чтобы выгрузить штатив с планшетом. Также можно сразу нажать Unload, чтобы выгрузить штатив с планшетом без просмотра результатов пробоподготовки. См. поддержку пользователя системы cobas® 4800 System.
12. Чтобы запечатать и перенести микропланшет в анализатор cobas® z 480 после его выгрузки, следуйте инструкциям поддержки пользователя системы cobas® 4800 System.
13. Установите микропланшет в анализатор, затем запустите постановку амплификации и детекции, следуя инструкциям поддержки пользователя системы cobas® 4800 System.

Примечание. *Система cobas® 4800 System снабжена внутренними часами для мониторинга времени после внесения выделенных образцов в активированный мастермикс. Амплификацию и детекцию следует начинать как можно раньше, но не позднее 40 минут после завершения пробоподготовки в приборе cobas® x 480. Таймер обратного отсчета отображается на вкладке Workplace. По истечении времени обратного отсчета система прерывает постановку.*

14. Уберите образцы, использованные реагенты и глубоколуночный планшет согласно инструкциям поддержки пользователя системы cobas® 4800 System.
15. Чтобы просмотреть и принять результаты, следуйте инструкциям поддержки пользователя системы cobas® 4800 System после завершения постановки амплификации и детекции.
16. Если используете ЛИС: отправьте результаты в ЛИС.
17. Чтобы выгрузить микропланшет из анализатора cobas® z 480, следуйте инструкциям поддержки пользователя системы cobas® 4800 System.

Результаты

Система **cobas**® 4800 System автоматически определяет концентрацию РНК ВГС в образцах и контролях. Концентрация РНК ВГС выражается в Международных единицах в миллилитре (МЕ/мл).

Контроль качества и валидности результатов

- Один отрицательный контроль (–) С и два положительных контроля, низкотитражный положительный контроль HBV/HCV/HIV-1 L(+)С и высокотитражный положительный контроль HBV/HCV/HIV-1 H(+)С, присутствуют в каждой постановке.
- Проверьте валидность постановки в программе **cobas**® 4800 и (или) в отчете.
- Невалидность результатов определяется программой **cobas**® 4800 автоматически на основании невалидных тестов отрицательного и положительного контролей.

Интерпретация результатов для контролей

Табл. 1. Интерпретация результатов для отрицательного и положительных контролей

Отрицательный контроль	Результат	Интерпретация
(–) С	Target Not Detected	Валидный контроль. РНК ВГС не выявлена.
	Invalid	Невалидный результат, или рассчитанное значение для отрицательного контроля не является негативным.
Положительный контроль	Результат	Интерпретация
HBV/HCV/HIV-1 L(+)С	Titer	Валидный контроль. Рассчитанный титр находится в пределах контрольного диапазона.
	Invalid	Невалидный результат, или рассчитанное значение для низкотитражного положительного контроля находится вне допустимого диапазона.
HBV/HCV/HIV-1 H(+)С	Titer	Валидный контроль. Рассчитанный титр находится в пределах контрольного диапазона.
	Invalid	Невалидный результат, или рассчитанное значение для высокотитражного положительного контроля находится вне допустимого диапазона.

Интерпретация результатов

Примечание. Валидность всех тестов и постановки определяется программой cobas® 4800.

Примечание. Валидная постановка может содержать как валидные, так и невалидные результаты отдельных образцов.

В Табл. 2 приведена интерпретация результатов, полученных для образцов в случае валидной постановки.

Табл. 2. Интерпретация результатов по отдельным мишеням теста

cobas® HCV	Представление результата и его интерпретация
Target Not Detected	РНК ВГС не выявлена. Интерпретируйте результат как «ВГС не выявлен».
< Titer Min	Рассчитанная концентрация ниже нижнего предела количественного определения (LLoQ) теста. Интерпретируйте результат как «ВГС выявлен, менее (минимальная концентрация)». Минимальная концентрация = 1,50E + 01 МЕ/мл (400 мкл) Минимальная концентрация = 2,50E + 01 МЕ/мл (200 мкл)
Titer	Рассчитанная концентрация находится в пределах линейного диапазона теста: выше или равна минимальной концентрации и меньше или равна максимальной концентрации. Интерпретируйте результат как «(Концентрация) ВГС выявлена».
> Titer Max ^a	Рассчитанная концентрация выше верхнего предела количественного определения (ULoQ) теста. Интерпретируйте результат как «ВГС выявлен, более (максимальная концентрация)». Максимальная концентрация = 1,00E + 08 МЕ/мл (400 мкл и 200 мкл)

^a Результат образца > Titer Max указывает на выявление образца, положительного по ВГС в концентрации, превышающей верхний предел количественного определения теста (ULoQ). Если нужно получить количественный результат, исходный образец следует развести ВГС-негативной плазмой с ЭДТА или сывороткой, в зависимости от типа исходного образца, и повторить тестирование. Затем умножьте полученный результат на коэффициент разведения.

Список сигнальных сообщений для результатов

В таблице перечислены все сигнальные сообщения, относящиеся к интерпретации результатов.

Табл. 3. Список сигнальных сообщений

Код сигнального сообщения	Описание	Рекомендуемое действие
R4800	Мишень невалидна из-за сбоя в вычислениях.	Мишень невалидна из-за сбоя в вычислениях. 1. Повторно тестируйте образец. 2. Если проблема сохраняется, обратитесь в службу поддержки компании ООО «Рош Диагностика Рус».
R4801	Невалидный количественный стандарт.	Количественный стандарт для образца невалиден. 1. Повторно тестируйте образец. 2. Если проблема сохраняется, обратитесь в службу поддержки компании ООО «Рош Диагностика Рус».
R4802	Невалидный внешний контроль.	Невалидный внешний контроль. ^a 1. Повторите постановку целиком, используя свежие реагенты. 2. Если проблема сохраняется, обратитесь в службу поддержки компании ООО «Рош Диагностика Рус».
R4803	Невалидный количественный стандарт.	Количественный стандарт для внешнего контроля невалиден. 1. Повторите постановку целиком, используя свежие реагенты. 2. Если проблема сохраняется, обратитесь в службу поддержки компании ООО «Рош Диагностика Рус».
R4804	Внешний контроль вне допустимого диапазона.	Внешний контроль находится вне допустимого диапазона. ^b 1. Повторите постановку целиком, используя свежие реагенты. 2. Если проблема сохраняется, обратитесь в службу поддержки компании ООО «Рош Диагностика Рус».
X3	Ошибка: обнаружен сгусток. Образец не обработан.	Убедитесь в том, что работа с образцами осуществлялась в соответствии с описанием рабочего процесса. 1. Проверьте образец на наличие сгустков. 2. Повторно тестируйте образец.
X4	Ошибка: произошла ошибка пипетирования. Образец не обработан.	Наиболее вероятная причина — недостаточный объем образца или механическая ошибка при пипетировании. 1. Убедитесь в достаточном объеме образца. 2. Проверьте правильность установки пластины для сброса наконечников. 3. Повторно тестируйте образец.

^a Это сигнальное сообщение для образца. Оно появляется, когда внешний контроль в постановке признан невалидным.

^b Это сигнальное сообщение включает в себя все ситуации, когда внешний контроль невалиден (детекция мишени или титр).

Примечание. При появлении любых сигнальных сообщений системы следуйте инструкции, приведенной в поддержке пользователя системы cobas® 4800 System.

Ограничения процедуры

1. Тест **cobas**® HCV валидирован только для работы с набором контролей **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, набором для пробоподготовки **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2, лизирующим реагентом **cobas**® 4800 System Lysis Kit 2, реагентом для промывки **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit и дилуентом для образцов **cobas**® 4800 System Specimen Diluent 2.
2. Надежность результатов теста зависит от соблюдения правил сбора, транспортировки, хранения и обработки образцов. Следуйте инструкциям, описанным в данном документе (вкладыш в упаковку) и в поддержке пользователя системы **cobas**® 4800 System.
3. Данный тест валидирован только для работы с образцами плазмы с ЭДТА и сыворотки. Тестирование образцов другого типа может привести к получению неточных результатов.
4. Количественное определение РНК ВГС зависит от количества вирусных частиц, содержащихся в образце, которое зависит от адекватности методов сбора образцов, факторов пациента (например, симптомов) и (или) стадии инфекции.
5. Редкие мутации в высококонсервативных участках вирусного генома, являющихся мишенями теста **cobas**® HCV, могут препятствовать посадке праймеров или зондов и в результате приводить к определению заниженного количества вируса или получению ложноотрицательного результата.
6. Прогностическая ценность теста зависит от распространенности заболевания в конкретной популяции.
7. Внесение фермента AmpErase в мастермикс **cobas**® HCV обеспечивает избирательность амплификации нуклеиновых кислот-мишеней; тем не менее надлежащая лабораторная практика и тщательное соблюдение процедур, описанных в данной инструкции, являются необходимыми условиями предотвращения контаминации реагентов и амплификационных смесей.
8. К работе с данным продуктом допускается только персонал, обученный проведению ПЦР и работе с системой **cobas**® 4800 System.
9. Для работы с данным продуктом валидированы только прибор **cobas**® x 480 и анализатор **cobas**® z 480. Другие приборы для пробоподготовки или ПЦР-системы не могут использоваться для работы с данным продуктом.
10. Вследствие естественных различий между технологиями пользователю рекомендуется, прежде чем заменить одну технологию на другую, провести корреляционные испытания для двух методов, чтобы оценить возможные различия между технологиями. Пользователи должны следовать политике и процедурам, принятым в их организации.
11. Перекрестная контаминация может приводить к получению ложноположительных результатов. По результатам доклинических испытаний, частота перекрестной контаминации между образцами в тесте **cobas**® HCV составила 0,0 %. Перекрестная контаминация между разными постановками не наблюдалась.
12. Тест **cobas**® HCV не предназначен для применения в качестве скринингового теста на присутствие ВГС в крови или ее продуктах.

Результаты неклинических испытаний теста

Основные характеристики набора

Предел обнаружения (LoD)

Международный стандарт ВОЗ

Предел обнаружения для теста **cobas® HCV** определяли методом анализа разведений Международного стандарта ВОЗ для РНК ВГС для диагностических тестов методом амплификации нуклеиновых кислот (4-й Международный стандарт ВОЗ) генотипа 1а, полученного от NIBSC, в ВГС-негативной человеческой плазме с ЭДТА и сыворотке крови по протоколам постановки для образцов объемом 400 мкл и 200 мкл. Панели из шести концентраций, а также негативный образец тестировали с использованием трех лотов наборов реагентов **cobas® HCV** в нескольких постановках в течение нескольких дней несколькими операторами на нескольких приборах.

Результаты для образцов плазмы с ЭДТА и сыворотки крови для обоих объемов образцов приведены в Табл. 4 — Табл. 7. Полученные результаты продемонстрировали, что тест **cobas® HCV** позволяет обнаруживать РНК ВГС в концентрации 9,2 МЕ/мл в образцах плазмы с ЭДТА и 7,6 МЕ/мл в образцах сыворотки крови с частотой выявления ≥ 95 % по PROBIT при постановке с образцами объемом 400 мкл и в концентрации 15,2 МЕ/мл в образцах плазмы с ЭДТА и 15,3 МЕ/мл в образцах сыворотки крови с частотой выявления ≥ 95 % по PROBIT при постановке с образцами объемом 200 мкл.

Табл. 4. Предел обнаружения для образцов плазмы с ЭДТА (400 мкл)

Номинальная концентрация (РНК ВГС, МЕ/мл)	Число валидных повторов	Число позитивных повторов	Частота выявления
42,0	125	125	100,0 %
21,0	124	124	100,0 %
15,0	125	123	98,4 %
9,0	124	117	94,4 %
5,0	126	103	81,8 %
3,0	125	80	64,0 %
0,0	36	0	0,0 %
LoD по PROBIT при частоте выявления 95 %	9,2 МЕ/мл Доверительный интервал 95 %: 7,8-11,5 МЕ/мл		

Табл. 5. Предел обнаружения для образцов сыворотки крови (400 мкл)

Номинальная концентрация (РНК ВГС, МЕ/мл)	Число валидных повторов	Число позитивных повторов	Частота выявления
42,0	125	125	100,0 %
21,0	126	126	100,0 %
15,0	126	126	100,0 %
9,0	126	120	95,2 %
5,0	126	110	87,3 %
3,0	126	86	68,3 %
0,0	36	0	0,0 %
LoD по PROBIT при частоте выявления 95 %	7,6 МЕ/мл Доверительный интервал 95 %: 6,5-9,5 МЕ/мл		

Табл. 6. Предел обнаружения для образцов плазмы с ЭДТА (200 мкл)

Номинальная концентрация (РНК ВГС, МЕ/мл)	Число валидных повторов	Число позитивных повторов	Частота выявления
60,0	126	126	100,0 %
45,0	125	125	100,0 %
25,0	125	125	100,0 %
18,0	124	119	96,0 %
10,0	126	106	84,1 %
5,0	124	69	55,7 %
0,0	36	0	0,0 %
LoD по PROBIT при частоте выявления 95 %	15,2 МЕ/мл Доверительный интервал 95 %: 13,1-18,5 МЕ/мл		

Табл. 7. Предел обнаружения для образцов сыворотки крови (200 мкл)

Номинальная концентрация (РНК ВГС, МЕ/мл)	Число валидных повторов	Число позитивных повторов	Частота выявления
60,0	126	126	100,0 %
45,0	126	126	100,0 %
25,0	126	123	97,6 %
18,0	126	125	99,2 %
10,0	126	106	84,1 %
5,0	125	73	58,4 %
0,0	36	0	0,0 %
LoD по PROBIT при частоте выявления 95 %	15,3 МЕ/мл Доверительный интервал 95 %: 13,1-18,7 МЕ/мл		

Линейный диапазон

Линейность теста **cobas® HCV** определяли методом тестирования серии разведений, которая включала 13 образцов панели, перекрывающих предполагаемый линейный диапазон для преобладающего генотипа ВГС (генотип 1a). Высокотитражные образцы панели готовили из стоковой концентрации защищенной РНК (Armored RNA, arRNA), образцы панели с меньшим титром готовили из клинических образцов (КО). Линейная панель была подготовлена таким образом, чтобы давать перекрытие величиной примерно $2 \log_{10}$ между образцами двух разных типов.

Для образцов объемом 400 мкл тест **cobas® HCV** является линейным для плазмы с ЭДТА и сыворотки в диапазоне от 15 МЕ/мл до $1,0E + 08$ МЕ/мл и демонстрирует максимальное отклонение от оптимальной нелинейной регрессии менее чем $\pm 0,08 \log_{10}$. В пределах линейного диапазона точность теста составила $\pm 0,20 \log_{10}$ для образцов плазмы с ЭДТА и $\pm 0,23 \log_{10}$ для образцов сыворотки крови.

Для образцов объемом 200 мкл тест **cobas® HCV** является линейным для плазмы с ЭДТА и сыворотки в диапазоне от 25 МЕ/мл до $1,0E + 08$ МЕ/мл и демонстрирует максимальное отклонение от оптимальной нелинейной регрессии менее чем $\pm 0,09 \log_{10}$. В пределах линейного диапазона точность теста составила $\pm 0,20 \log_{10}$ для образцов плазмы с ЭДТА и $\pm 0,25 \log_{10}$ для образцов сыворотки крови.

Соответствующие результаты приведены на Рис. 2 до Рис. 5.

Рис. 2. Линейность при тестировании образцов плазмы с ЭДТА (400 мкл)

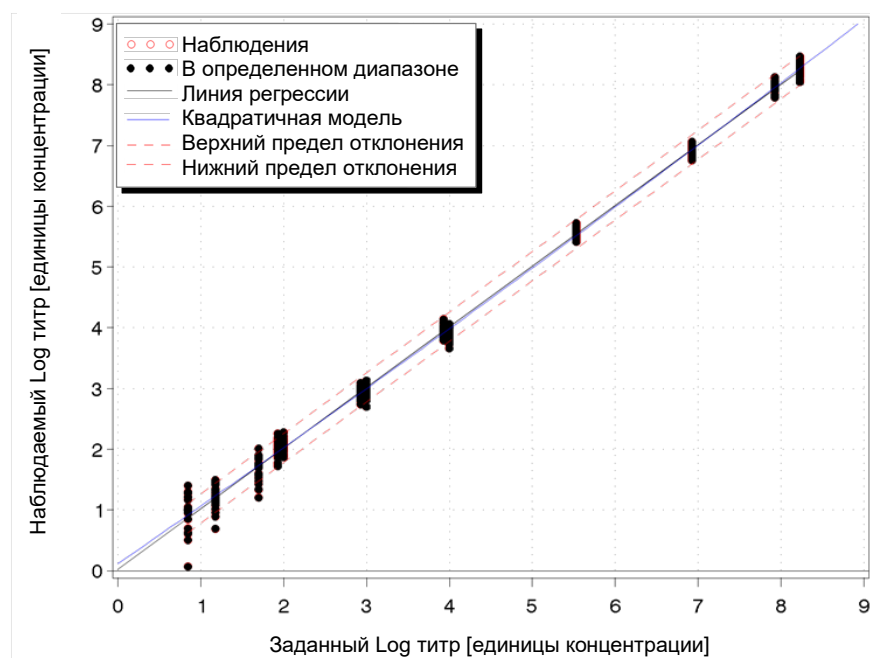


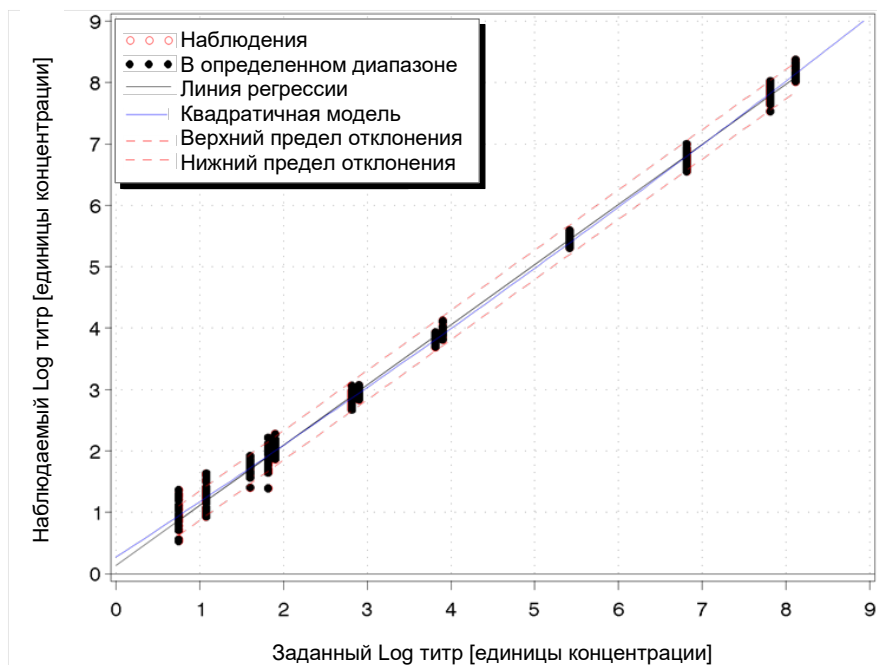
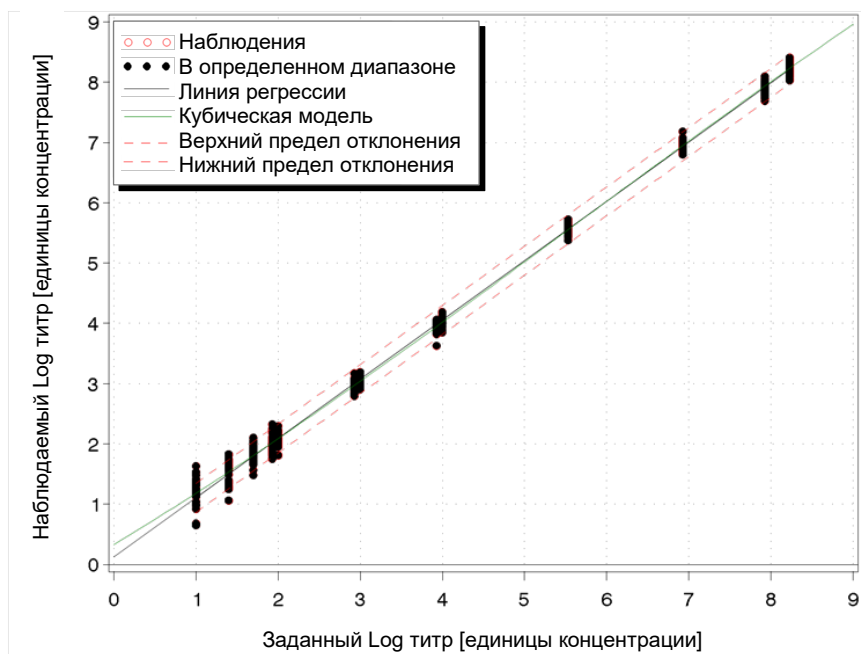
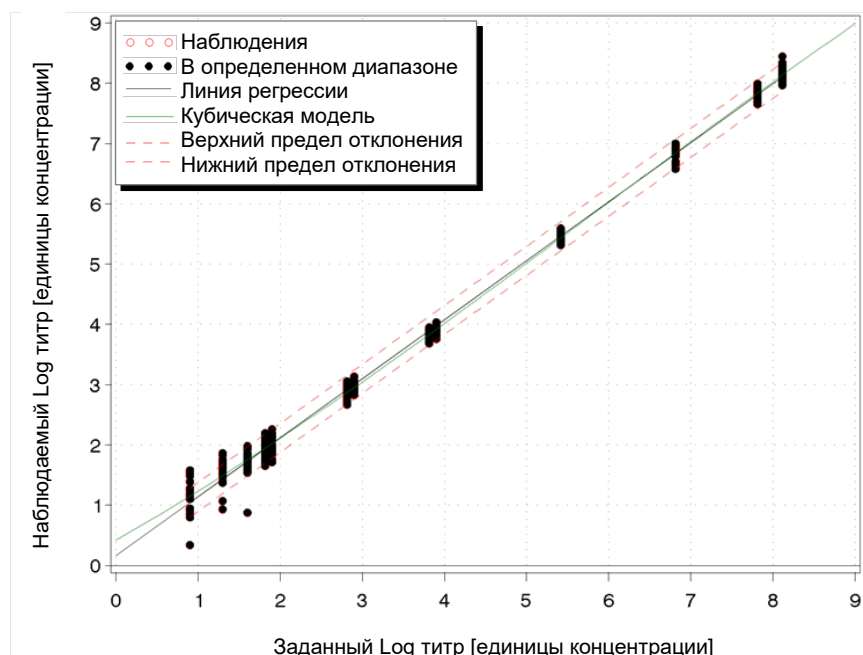
Рис. 3: Линейность при тестировании образцов сыворотки крови (400 мкл)**Рис. 4:** Линейность при тестировании образцов плазмы с ЭДТА (200 мкл)

Рис. 5. Линейность при тестировании образцов сыворотки крови (200 мкл)

Внутрилабораторная воспроизводимость

Воспроизводимость теста **cobas® HCV** определяли методом анализа серии разведений клинических образцов (КО), содержащих ВГС (генотип 1a), или синтетической защищенной РНК ВГС (arRNA) в ВГС-негативной плазме с ЭДТА или сыворотке крови. Всего тестировали пять разведений в 72 повторях для каждой концентрации, типа образца и объема образца с тремя лотами набора реагентов теста **cobas® HCV** в двух приборах с участием трех операторов на протяжении 12 дней. Каждый образец проходил полную постановку теста **cobas® HCV** в системе **cobas® 4800 System**. Таким образом, данные по воспроизводимости отражают все аспекты тестирования. Полученные результаты приведены в Табл. 8 до Табл. 11.

Тест **cobas® HCV** продемонстрировал высокую степень воспроизводимости для трех лотов набора реагентов, тестируемых в диапазоне концентраций от $1,0E + 03$ МЕ/мл до $1,0E + 08$ МЕ/мл для образцов объемом 200 мкл и 400 мкл.

Табл. 8. Внутрилабораторная воспроизводимость теста **cobas® HCV** (образцы плазмы с ЭДТА объемом 400 мкл) *

Номинальная концентрация (МЕ/мл)	Определенная концентрация (МЕ/мл)	Тип материала	Плазма с ЭДТА			
			Лот 1	Лот 2	Лот 3	Все лоты
			CO	CO	CO	Общее CO
$1,0E + 08$	$8,5E + 07$	arRNA	0,05	0,06	0,05	0,06
$1,0E + 07$	$8,5E + 06$	arRNA	0,06	0,06	0,06	0,06
$4,0E + 05$	$3,4E + 05$	arRNA	0,06	0,05	0,06	0,06
$1,0E + 04$	$9,9E + 03$	КО	0,10	0,10	0,10	0,10
$1,0E + 03$	$9,9E + 02$	КО	0,09	0,08	0,07	0,08

* Значения концентраций рассматривали как имеющие log-нормальное распределение и анализировали выраженными в $\log_{10}$. Столбцы со значениями стандартного отклонения (CO) представляют общие значения концентрации в логарифмической шкале для каждого из трех лотов набора реагентов.

Табл. 9. Внутрिलाбораторная воспроизводимость теста cobas® HCV (образцы сыворотки объемом 400 мкл) *

Номинальная концентрация (МЕ/мл)	Определенная концентрация (МЕ/мл)	Тип материала	Сыворотка крови			
			Лот 1	Лот 2	Лот 3	Все лоты
			CO	CO	CO	Общее CO
1,0E + 08	6,5E + 07	arRNA	0,07	0,12	0,14	0,12
1,0E + 07	6,5E + 06	arRNA	0,07	0,07	0,09	0,08
4,0E + 05	2,6E + 05	arRNA	0,07	0,06	0,07	0,07
1,0E + 04	7,9E + 03	KO	0,07	0,05	0,08	0,07
1,0E + 03	7,9E + 02	KO	0,07	0,05	0,06	0,06

* Значения концентраций рассматривали как имеющие log-нормальное распределение и анализировали выраженными в $\log_{10}$. Столбцы со значениями стандартного отклонения (CO) представляют общие значения концентрации в логарифмической шкале для каждого из трех лотов набора реагентов.

Табл. 10. Внутрिलाбораторная воспроизводимость теста cobas® HCV (образцы плазмы с ЭДТА объемом 200 мкл) *

Номинальная концентрация (МЕ/мл)	Определенная концентрация (МЕ/мл)	Тип материала	Плазма с ЭДТА			
			Лот 1	Лот 2	Лот 3	Все лоты
			CO	CO	CO	Общее CO
1,0E + 08	8,5E + 07	arRNA	0,07	0,09	0,06	0,07
1,0E + 07	8,5E + 06	arRNA	0,05	0,05	0,05	0,05
4,0E + 05	3,4E + 05	arRNA	0,04	0,05	0,07	0,05
1,0E + 04	9,9E + 03	KO	0,06	0,06	0,07	0,06
1,0E + 03	9,9E + 02	KO	0,06	0,07	0,05	0,06

* Значения концентраций рассматривали как имеющие log-нормальное распределение и анализировали выраженными в $\log_{10}$. Столбцы со значениями стандартного отклонения (CO) представляют общие значения концентрации в логарифмической шкале для каждого из трех лотов набора реагентов.

Табл. 11. Внутрिलाбораторная воспроизводимость теста cobas® HCV (образцы сыворотки объемом 200 мкл) *

Номинальная концентрация (МЕ/мл)	Определенная концентрация (МЕ/мл)	Тип материала	Сыворотка крови			
			Лот 1	Лот 2	Лот 3	Все лоты
			CO	CO	CO	Общее CO
1,0E + 08	6,5E + 07	arRNA	0,05	0,06	0,06	0,06
1,0E + 07	6,5E + 06	arRNA	0,07	0,07	0,05	0,06
4,0E + 05	2,6E + 05	arRNA	0,08	0,05	0,07	0,07
1,0E + 04	7,9E + 03	KO	0,04	0,04	0,04	0,04
1,0E + 03	7,9E + 02	KO	0,04	0,06	0,05	0,05

* Значения концентраций рассматривали как имеющие log-нормальное распределение и анализировали выраженными в $\log_{10}$. Столбцы со значениями стандартного отклонения (CO) представляют общие значения концентрации в логарифмической шкале для каждого из трех лотов набора реагентов.

Верификация генотипов

Способность теста **cobas® HCV** выявлять генотипы ВГС определяли указанным ниже образом.

- Верификация предела обнаружения для генотипов с 1b по 6
- Верификация линейности для генотипов с 1b по 6
- Определение концентрации проводили с помощью теста **cobas® HCV**.

Верификация предела обнаружения для генотипов с 1b по 6

Клинические образцы, содержащие РНК ВГС шести разных генотипов (1b, 2, 3, 4, 5, 6), разводили в плазме с ЭДТА и сыворотке крови до концентрации LoD для доминирующего генотипа (генотип ВГС 1a), определенного на основании анализа 95 % частоты выявления LoD (15,0 МЕ/мл). Частоту выявления определяли при тестировании каждой концентрации в 42 повторях для каждого генотипа и типа образца. Полученные результаты подтвердили способность теста **cobas® HCV** выявлять генотипы ВГС 1b, 2, 3, 4, 5 и 6 в концентрации 15 МЕ/мл с верхним односторонним доверительным интервалом 95 %, превышающим ожидаемую частоту выявления 95 %.

Табл. 12. Верификация LoD для генотипов ВГС 1b–6 в образцах плазмы с ЭДТА объемом 400 мкл

Генотип	Частота выявления	Верхний односторонний доверительный интервал 95 %
Генотип 1b	95,2 %	99,1 %
Генотип 2	100,0 %	100,0 %
Генотип 3	100,0 %	100,0 %
Генотип 4	100,0 %	100,0 %
Генотип 5	100,0 %	100,0 %
Генотип 6	97,6 %	99,9 %

Табл. 13. Верификация LoD для генотипов ВГС 1b–6 в образцах сыворотки объемом 400 мкл

Генотип	Частота выявления	Верхний односторонний доверительный интервал 95 %
Генотип 1b	100,0 %	100,0 %
Генотип 2	100,0 %	100,0 %
Генотип 3	100,0 %	100,0 %
Генотип 4	100,0 %	100,0 %
Генотип 5	100,0 %	100,0 %
Генотип 6	100,0 %	100,0 %

Верификация линейного диапазона для генотипов от 1b до 6

Серия разведений, которая использовалась для верификации линейности теста **cobas® HCV** для разных генотипов, состояла из девяти образцов, перекрывающих весь ожидаемый линейный диапазон. Высокотитражные образцы панели готовили из стоковой концентрации синтетической защищенной РНК (Armored RNA, arRNA), образцы панели с меньшим титром готовили путем разведения высокотитражных клинических образцов (КО). Линейная панель была подготовлена таким образом, чтобы давать перекрывание величиной не менее $2 \log_{10}$ между образцами двух разных типов. Линейный диапазон теста **cobas® HCV** составлял от LLoQ (15,0 МЕ/мл для образцов объемом 400 мкл) до ULoQ ($1,0 \times 10^8$ МЕ/мл) и содержал как минимум два клинически важных значения. Каждую концентрацию тестировали в образцах плазмы с ЭДТА в 12 повторях.

Линейность в линейном диапазоне теста **cobas® HCV** была подтверждена для всех шести генотипов (1b, 2, 3, 4, 5 и 6). Максимальное отклонение между линейной регрессией и оптимальной нелинейной регрессией не превышало $0,14 \log_{10}$.

Специфичность

Специфичность теста **cobas® HCV** определяли методом тестирования ВГС-негативных образцов плазмы с ЭДТА и сыворотки крови от индивидуальных доноров. В общей сложности тестировали 612 образцов плазмы с ЭДТА и 613 образцов сыворотки крови (всего 1225 образцов) с тремя лотами набора реагентов **cobas® HCV**. 609 образцов плазмы с ЭДТА и 613 образцов сыворотки оказались отрицательными по РНК ВГС. При тестировании данной панели образцов специфичность теста **cobas® HCV** составила 99,5 % для плазмы (доверительный интервал 95 %: $\geq 98,7$ %) и 100,0 % (доверительный интервал 95 %: $\geq 99,5$ %) для сыворотки.

Аналитическая специфичность

Аналитическую специфичность теста **cobas® HCV** определяли методом тестирования панели разведений патогенов (Табл. 14) в позитивной к РНК ВГС и негативной к РНК ВГС плазме с ЭДТА. Патогены вносили в нормальную, не содержащую вирус человеческую плазму с ЭДТА и тестировали в присутствии и в отсутствие РНК ВГС. Отрицательный результат в тесте **cobas® HCV** получали для всех патогенов в образцах без ВГС, положительный результат был получен для всех патогенов, тестируемых в присутствии ВГС. Кроме того, средний $\log_{10}$ титра каждого ВГС-позитивного образца, содержащего потенциально кросс-реактивные микроорганизмы, находился в пределах $\pm 0,09 \log_{10}$ от среднего $\log_{10}$ титра соответствующего положительного образца.

Табл. 14. Микроорганизмы, тестируемые для определения перекрестной реактивности

Вирусы		Бактерии	Грибы
Аденовирус типа 5	Вирус простого герпеса, типы 1 и 2	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida albicans</i>
Цитомегаловирус	Папилломавирус человека	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Вирус Денге, типы 1, 2, 3 и 4	Вирус гриппа А		
Вирус Эпштейн-Барр	Вирус энцефалита долины Муррей		
Вирус FSME (штамм NYPR)	Вирус энцефалита Ст. Луис		
Вирус гепатита А	Вирус варицелла зостер		
Вирус гепатита В	Вирус Западного Нила		
Вирус иммунодефицита человека 1	Вирус желтой лихорадки		
Т-клеточный лимфотропный вирус человека, типы 1 и 2	Вирус Зика		
Вирус герпеса человека, тип 6			

Аналитическая специфичность: интерферирующие вещества

Образцы с повышенными уровнями триглицеридов (27,9–29,0 г/л), прямого билирубина (0,18–0,22 г/л), непрямого билирубина (0,19–0,2 г/л), альбумина (57,8–60,6 г/л), гемоглобина (1,8–2,3 г/л) и человеческой ДНК (2 мг/л) тестировали в присутствии и в отсутствие РНК ВГС. Было показано, что тестируемые вещества не оказывали интерферирующего влияния на тест **cobas**® HCV. Также определяли потенциальное влияние маркеров аутоиммунных заболеваний, таких как системная красная волчанка (СКВ), ревматоидный артрит (РА) и наличие антиядерных антител (АЯА).

Кроме того, лекарственные препараты, приведенные в Табл. 15, тестировали в концентрациях, превышающих в три раза C_{max} в присутствии и в отсутствие РНК ВГС.

Все потенциально интерферирующие препараты не оказывали интерферирующего влияния на результаты теста. Отрицательный результат в тесте **cobas**® HCV получали для всех образцов без ВГС, положительный результат был получен для всех образцов, тестируемых в присутствии ВГС. Кроме того, средний $\log_{10}$ титра каждого ВГС-позитивного образца, содержащего потенциально интерферирующие вещества, находился в пределах $\pm 0,04 \log_{10}$ среднего $\log_{10}$ титра соответствующего положительного образца.

Табл. 15. Лекарственные препараты, тестировавшиеся для определения интерферирующего влияния на количественное определение РНК ВГС в тесте **cobas® HCV**

Класс лекарственного препарата	Международное непатентованное название препарата	
Иммуномодуляторы	Пегинтерферон α -2a Пегинтерферон α -2b	Рибавирин
Ингибитор проникновения ВИЧ	Маравирок	
Ингибиторы интегразы ВИЧ	Элвитегравир/Кобицистат	Ралтегравир
Ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы ВИЧ	Эфавиренз Этравирин	Невирапин Рилпивирин
Ингибиторы протеазы ВИЧ	Атазанавир Дарунавир Фозампренавир Лопинавир	Нелфинавир Ритонавир Саквинавир Типранавир
Ингибиторы протеазы ВГС	Боцепревир Симепревир	Телапревир
Ингибиторы обратной транскриптазы или ДНК-полимеразы	Абакавир Ацикловир Адефовир дипивоксил Цидофовир Эмтрицитабин Энтекавир Фоскарнет	Ганцикловир Ламивудин Софосбувир Телбивудин Тенофовир Валганцикловир Зидовудин
Препараты для лечения оппортунистических инфекций	Азитромицин Кларитромицин Этамбутол Флуконазол Изониазид	Пиразинамид Рифабутин Рифампицин Сульфаметоксазол Триметоприм

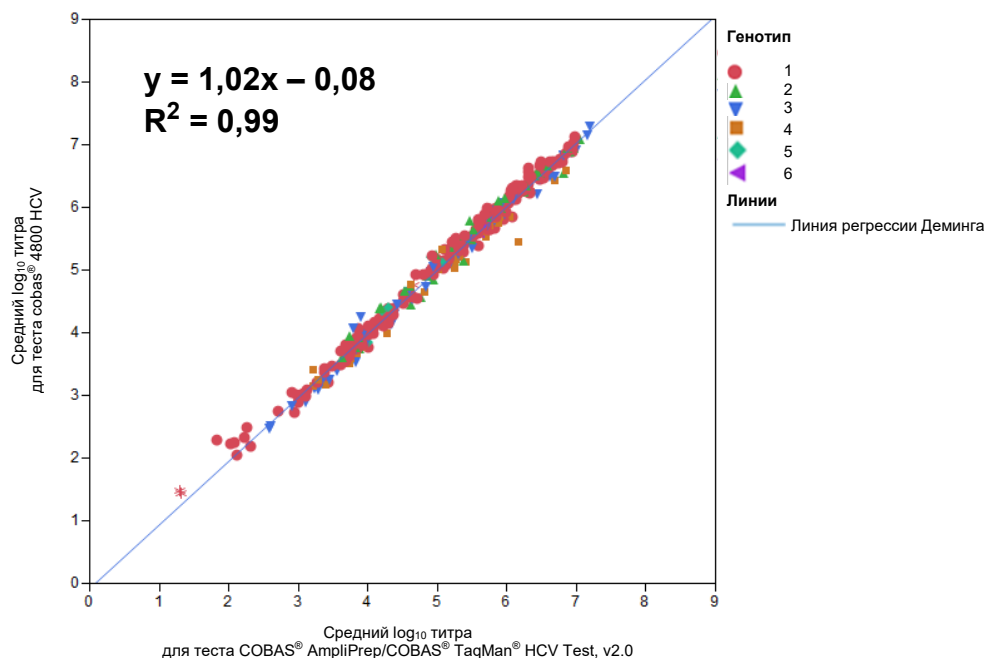
Корреляция методов

Сравнительные испытания теста cobas® HCV и теста COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative Test, v2.0

Сравнительные испытания тестов **cobas® HCV** и **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative Test, v2.0** (TaqMan® HCV Test, v2.0) проводили методом анализа образцов сыворотки крови и плазмы с ЭДТА, полученных от пациентов с ВГС-инфекцией. Всего 176 образцов плазмы с ЭДТА и 176 образцов сыворотки крови, содержащих разные генотипы ВГС, анализировались в двух повторах и дали валидные результаты, укладывающиеся в диапазон количественного определения обоих тестов. Для полученных результатов был проведен регрессионный анализ методом Деминга. Среднее отклонение значений концентраций для тестируемых образцов в двух тестах составило $0,0 \log_{10}$ (95%-й доверительный интервал: -0,01; 0,01).

Результаты анализа методом регрессии Деминга приведены на Рис. 6. Значок * на рисунках обозначает однократное определение. Разные генотипы обозначены цветом.

Рис. 6. Регрессионный анализ результатов тестов **cobas® HCV** и **TaqMan® HCV Test, v2.0** при тестировании образцов плазмы с ЭДТА и сыворотки крови

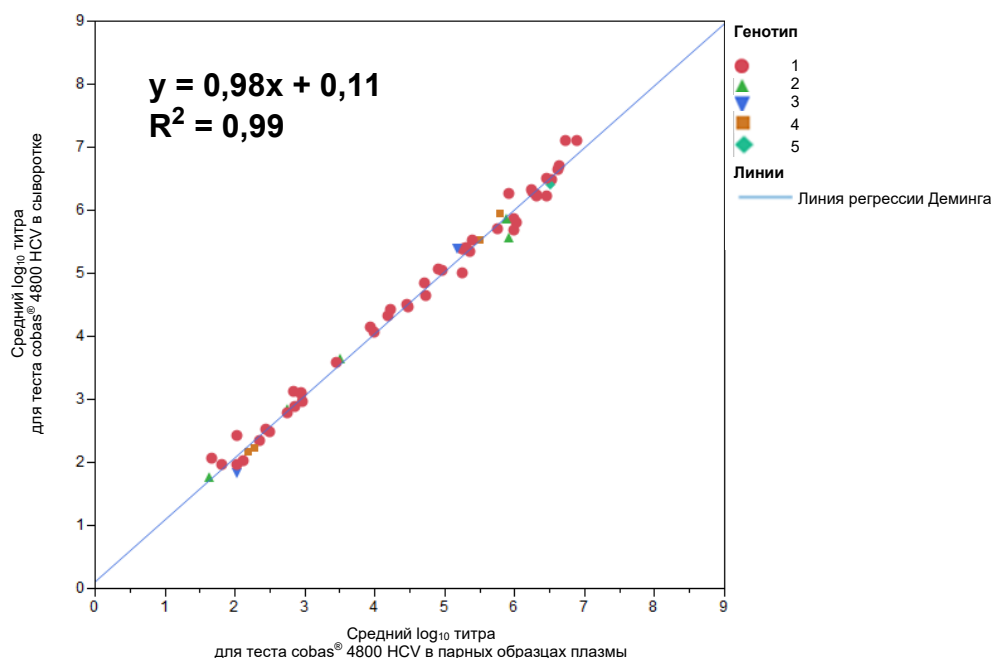


Эквивалентность типов образца — плазма с ЭДТА и сыворотка крови

Для оценки эквивалентности типов образца анализировали 114 парных образцов плазмы с ЭДТА и сыворотки крови. Из них 59 парных образцов были положительными по ВГС. Положительные по ВГС образцы содержали генотипы с 1 по 5 в концентрациях, перекрывающих весь линейный диапазон теста.

Среднее отклонение значений концентраций для парных образцов плазмы с ЭДТА и сыворотки крови составило $0,04 \log_{10}$ (95%-й доверительный интервал: 0,00; 0,08) (Рис. 7).

Рис. 7. Эквивалентность результатов при тестировании образцов плазмы с ЭДТА и сыворотки крови



Системные нарушения

Частоту системной ошибки для теста **cobas®** HCV определяли при тестировании в 100 повторях образцов плазмы с ЭДТА, в которые вносили ВГС. Данные образцы тестировали в целевой концентрации примерно $3 \times \text{LLoQ}$ (45,0 МЕ/мл).

Полученные результаты показали, что все повторы дали валидный результат, позитивный по ВГС, при этом частота системной ошибки составила 0,0 %. Нижняя граница двустороннего 95%-го доверительного интервала была равна 0,0 %, верхняя — 3,6 % [0,0 %; 3,6 %].

Перекрестная контаминация

Частоту перекрестной контаминации в тесте **cobas®** HCV определяли при тестировании 230 повторов образцов нормальной ВГС-отрицательной человеческой плазмы с ЭДТА и 235 повторов высоко-титражного образца ВГС в концентрации $1,8E + 08$ МЕ/мл. Всего было проведено пять постановок, в которых положительные и отрицательные образцы были расставлены в шахматном порядке.

229 из 230 повторов отрицательных образцов дали отрицательный результат. Таким образом, частота перекрестной контаминации составила 0,0 % при одностороннем 95%-м доверительном интервале, равном 1,3 %.

Дополнительная информация

Основные характеристики теста

Тип образцов	Плазма с ЭДТА, сыворотка крови
Объем обрабатываемого образца	400 мкл или 200 мкл
Аналитическая чувствительность	9,2 МЕ/мл (400 мкл) 15,3 МЕ/мл (200 мкл)
Линейный диапазон	400 мкл: 15,0 МЕ/мл — $1,0 \times 10^8$ МЕ/мл 200 мкл: 25,0 МЕ/мл — $1,0 \times 10^8$ МЕ/мл
Специфичность	99,5 % (односторонний 95-процентный доверительный интервал: 98,7 %)
Выявляемые генотипы	Генотипы 1–6 ВГС

Условные обозначения

Приведенные ниже символы применяются для маркировки продукции для ПЦР-диагностики компании Roche.

Табл. 16. Символы, применяемые для маркировки продукции для ПЦР-диагностики компании Roche

Age/DOB	Возраст или дата рождения		Устройство не для исследования по месту лечения	QS IU/PCR	МЕ КС на ПЦР-реакцию; при подсчете результатов значения представляйте в виде Международных единиц (МЕ) КС на ПЦР-реакцию.
	Вспомогательное программное обеспечение		Устройство не предназначено для самостоятельного тестирования	SN	Серийный номер
Assigned Range [copies/mL]	Заданный диапазон (копий/мл)		Дистрибьютер (Примечание. Соответствующая страна/регион могут быть указаны под символом.)	Site	Лаборатория
Assigned Range [IU/mL]	Заданный диапазон (МЕ/мл)		Не использовать повторно	Procedure Standard	Стандартная процедура
EC REP	Авторизованный представитель в Европейском сообществе		Женский	STERILE EO	Стерилизовано этиленоксидом
BARCODE	Список штрихкодов		Только для испытаний IVD		Хранить в темноте
LOT	Номер лота	GTIN	Глобальный номер товара		Температурный диапазон
	Биологическая опасность		Импортер		Файл с описанием теста
REF	Номер по каталогу	IVD	Медицинское устройство для диагностики <i>in vitro</i>		Этой стороной вверх
	СЕ маркировка соответствия требованиям ЕС — это изделие соответствует применимым требованиям для выдачи сертификата в ЕС на медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>	LLR	Нижний предел заданного диапазона	Procedure UltraSensitive	Сверхчувствительная процедура
Collect Date	Дата сбора		Мужской	UDI	Уникальный идентификатор устройства
	Обратитесь к инструкции		Производитель	ULR	Верхний предел заданного диапазона
	Рассчитано на <n> тестов	CONTROL -	Отрицательный контроль	Urine Fill Line	Линия заполнения мочой
CONTENT	Состав набора		Нестерильно	Rx Only	Только для США. Федеральное законодательство ограничивает право продажи данного устройства терапевтом или по его рецепту.
CONTROL	Контроль		Ф. И. О. пациента		Использовать до
	Дата производства		Номер пациента		
	Устройство для исследования по месту лечения		Оторвите здесь		
	Устройство для самостоятельного тестирования	CONTROL +	Положительный контроль		
		QS copies / PCR	Копии количественного стандарта (КС) на ПЦР-реакцию; при подсчете результатов значения представляйте в виде копий КС на ПЦР-реакцию.		

Техническая поддержка

Для получения технической поддержки (помощи) обратитесь в местный филиал в вашем регионе:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Производитель

Табл. 17. Производитель



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

Сделано в США

Товарные знаки и патенты

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

Авторское право

© Roche Molecular Systems, Inc., 2024.



Литература

1. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 1989;244(4902):359-362.
2. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, McQuillan GM, Kuhnert WL, Alter MJ. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med*. 2006;144(10):705-714.
3. Rustgi VK. The epidemiology of hepatitis C infection in the United States. *J Gastroenterol*. 2007;42(7):513-521.
4. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2001;345(1):41-52.
5. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med*. 1998;339(21):1485-1492.
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med*. 1998;339(21):1493-1499.
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet*. 2001;358(9286):958-965.
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2002;347(13):975-982.
9. Hadziyannis SJ, Sette H, Jr, Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med*. 2004;140(5):346-355.
10. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. American Association for the Study of Liver Disease (AASLD) Practice Guidelines. Diagnosis, Management, and Treatment of Hepatitis C: An Update *Hepatology*. 2009;49(4):1335-1374.
11. Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; American Association for Study of Liver Diseases. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2011;54(4):1433-1444.
12. Poordad F, McCone J, Jr, Bacon BR, et al. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*. 2011;364(13):1195-1206.
13. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2011;364(25):2405-2416.
14. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med*. 2011;364(13):1207-1217.
15. Zeuzem S, Andreone P, Pol S, et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med*. 2011;364(25):2417-2428.
16. Lawitz E, Mangia A, Wyles D, t al. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *N Engl J Med*. 2013;368(20):1878-1887.
17. Jacobson IM, Gordon SC, Kowdley KV, et al. Sofosbuvir for hepatitis C genotype 2 or 3 in patients without treatment options. *N Engl J Med*. 2013;368(20):1867-1877.
18. Liang TJ, Ghany MG. Current and future therapies for hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 2013;368(20):1907-1917.

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

Редакция документа

Сведения о редакции документа	
Doc Rev. 7.0 02/2024	Обновлена информация о безопасности наборов лизирующего реагента Lysis Kit 2. Обновлена страница символов. Добавлен раздел Техническая поддержка. Обновлен раздел Товарные знаки и патенты, в том числе ссылка. Обновлена информация об текущих экономических операторах. Добавлена информация о стране производства. Обновлено фирменное оформление cobas®. Добавлен символ «Rx Only». В случае возникновения вопросов свяжитесь с местным представительством компании Roche.