



Rx Only

cobas[®] HCV

Ilościowy test kwasu nukleinowego do użytku z systemami cobas[®] 5800/6800/8800

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

cobas[®] HCV

P/N: 09040765190

cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

P/N: 09040773190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 09051554190

Spis treści

Przeznaczenie	5
Podsumowanie oraz objaśnienie testu	5
Odczynniki i materiały	7
Odczynniki i kontrole do testu cobas ® HCV.....	7
Odczynniki cobas omni do przygotowywania próbek.....	10
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników	11
Wymagania dotyczące użytkowania systemu cobas ® 5800	11
Wymagania dotyczące użytkowania systemów cobas ® 6800/8800	12
Materiały dodatkowe wymagane dla systemu cobas ® 5800	13
Materiały dodatkowe wymagane dla systemów cobas ® 6800/8800	13
Wymagane urządzenia i oprogramowanie.....	14
Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania	15
Ostrzeżenia i środki ostrożności.....	15
Użytkowanie odczynników	15
Dobra praktyka laboratoryjna.....	16
Pobieranie, transport i przechowywanie próbek	17
Próbki	17
Instrukcja użytkowania	18
Uwagi proceduralne.....	18
Wykonanie testu cobas ® HCV w systemie cobas ® 5800	19
Wykonanie testu cobas ® HCV w systemach cobas ® 6800/8800	20
Wyniki	21
Kontrola jakości i ważność wyników w systemie cobas ® 5800.....	21
Wyniki kontroli w systemie cobas ® 5800	21
Kontrola jakości i ważność wyników w systemach cobas ® 6800/8800.....	21
Flagi kontroli w systemach cobas ® 6800/8800	22
Interpretacja wyników	22
Interpretacja wyników w systemie cobas ® 5800.....	23
Interpretacja wyników w systemach cobas ® 6800/8800	23
Ograniczenia metody.....	23

Niekliniczna ocena wiarygodności 24

Najważniejsze parametry działania wykonywanego w systemach cobas ® 6800/8800 Systems.....	24
Granica wykrywalności (LoD)	24
Zakres liniowości.....	26
Precyzja wewnątrz laboratorium	28
Weryfikacja genotypu.....	31
Swoistość	33
Swoistość analityczna	33
Swoistość analityczna — substancje interferujące	33
Korelacja metody.....	35
Równoważność materiału próbki — osocze krwi pobranej na EDTA w porównaniu z surowicą.....	36
Błąd systemowy.....	36
Kontaminacja między próbkami.....	36

Ocena klinicznej wiarygodności testu..... 37

Zmienność między seriami i odtwarzalność.....	37
Zmienność między seriami.....	37
Odtwarzalność	39
Porównanie między systemami cobas ® 6800 i cobas ® 8800 – zmienność między seriami i odtwarzalność.....	41
Przydatność kliniczna.....	41
Przewidywanie odpowiedzi na leczenie antywirusowe.....	43
Porównanie między systemami cobas ® 6800 i cobas ® 8800 – przydatność kliniczna.....	45
Przydatność diagnostyczna.....	46
Reaktywność krzyżowa u uczestników z chorobą wątroby niezwiązaną z HCV.....	47
Porównanie między systemami cobas ® 6800 i cobas ® 8800 pod kątem rozpoznania	50
Wnioski	50
Równoważność/porównanie systemu.....	50

Dodatkowe informacje	51
Najważniejsze cechy testu	51
Oznaczenia	52
Pomoc techniczna	53
Wytwórca i importer.....	53
Znaki towarowe i patenty	53
Prawo autorskie	53
Piśmiennictwo	54
Wersja dokumentu.....	56

Przeznaczenie

Test **cobas**® HCV jest testem amplifikacji kwasów nukleinowych w warunkach in vitro, służącym zarówno do wykrywania, jak i do oceny ilościowej RNA wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV), genotypy od 1 do 6, w osoczu ludzkim lub surowicy krwi pobranej na EDTA od osób zakażonych HCV.

Test **cobas**® HCV jest testem pomocniczym w diagnostyce zakażeń HCV u następujących pacjentów: u osób z obecnością przeciwciał przeciwko HCV z objawami choroby wątroby, u osób z podejrzeniem czynnego zakażenia z obecnością przeciwciał przeciwko HCV oraz u osób narażonych na zakażenie wirusem HCV z obecnością przeciwciał przeciwko HCV. Wykrycie RNA wirusa HCV wskazuje na replikację wirusa i z tego powodu jest dowodem czynnego zakażenia.

Test jest przeznaczony do stosowania wobec pacjentów z przewlekłym zakażeniem wirusem HCV w połączeniu z klinicznymi i laboratoryjnymi oznakami zakażenia. Test można wykorzystać do przewidywania prawdopodobieństwa wystąpienia trwałej odpowiedzi wirusologicznej (SVR) na wczesnym etapie leczenia antywirusowego oraz do oceny odpowiedzi na tę terapię (leczenie uzależnione od odpowiedzi; RGT) mierzonej jako zmiana poziomu RNA HCV w osoczu krwi pobranej na EDTA lub w surowicy. Wyniki należy interpretować w oparciu o wszystkie istotne dane kliniczne i laboratoryjne.

Podsumowanie oraz objaśnienie testu

Informacje podstawowe

Wirus zapalenia wątroby typu C (HCV) uważany jest za główny czynnik etiologiczny odpowiedzialny za 90–95% przypadków wirusowego zapalenia wątroby po przetoczeniach krwi.^{1–4} HCV to wirus zawierający pojedynczy łańcuch sensowny RNA, którego genom zawiera około 9500 nukleotydów kodujących 3000 aminokwasów. Jako wirus występujący we krwi, HCV może być przenoszony przez krew i produkty krwiopochodne. Powszechne stosowanie badań przesiewowych krwi w kierunku obecności wirusa HCV doprowadziło do znacznego obniżenia ryzyka zapalenia wątroby związanego z przetoczeniami. Największa częstość zakażeń wirusem HCV występuje w związku z używaniem narkotyków dożylnych oraz, w mniejszym stopniu, z innymi rodzajami przezskórnej ekspozycji.⁴

Oznaczanie ilościowe RNA HCV w celu pomiaru wyjściowego miana wirusa oraz monitorowania leczenia jest uznana metodą, wykazującą skuteczność odpowiedzi przeciwwirusowej na leczenie pegylowanym interferonem w połączeniu z rybawiryną (pegIFN/RBV).^{5–9} Wytyczne dotyczące postępowania i leczenia w przypadku zakażenia wirusem HCV^{10, 11} zalecają przeprowadzanie testów ilościowych na obecność RNA HCV przed rozpoczęciem terapii antywirusowej, w określonych momentach terapii (leczenia uzależnionego od odpowiedzi, RGT) oraz po 12 lub więcej tygodniach od zakończenia leczenia.

Celem leczenia jest stwierdzenie za pomocą czułego testu braku wykrywalnego poziomu RNA HCV 12 tygodni po zakończeniu leczenia, które wskazuje na osiągnięcie trwałej odpowiedzi wirusologicznej (SVR).¹⁰

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

Uzasadnienie badań na obecność HCV

W czasach bardzo dynamicznych i szeroko zakrojonych badań nad przyszłością leczenia zakażeń HCV monitorowanie miana wirusa pozostaje głównym badaniem laboratoryjnym potwierdzającym uzyskanie SVR w terapiach DAA, takich jak inhibitory proteazy drugiej generacji, inhibitory polimerazy HCV oraz inne mechanizmy posiadające właściwości przeciwwirusowe.^{16–19}

Podsumowując, test **cobas**® HCV do stosowania w systemach **cobas**® 5800/6800/8800 Systems to ilościowy test służący do wykrywania RNA wirusa HCV oraz kinetyki wirerii, stosowany w laboratoriach obsługujących badania kliniczne oraz w rutynowej praktyce klinicznej podczas opieki nad pacjentami z zakażeniem HCV.

Objaśnienie testu

Test **cobas**® HCV to ilościowy test stosowany w systemie **cobas**® 5800, **cobas**® 6800 lub **cobas**® 8800. Test **cobas**® HCV umożliwia wykrywanie oraz ilościowe oznaczanie RNA HCV w próbkach osocza krwi pobranej na EDTA lub w surowicy zakażonych pacjentów. Wykorzystuje on podwójne sondy do wykrywania i określania ilości, ale nie rozróżniania genotypów 1–6. Liczba kopii wirusa jest określana ilościowo wobec standardu ilościowego opłaszczonego RNA innego niż HCV (RNA-QS), który jest wprowadzany do każdej próbki podczas jej przygotowania. RNA-QS spełnia również funkcję kontroli wewnętrznej, monitorującej cały proces przygotowania próbki oraz amplifikacji PCR. Dodatkowo test wykorzystuje trzy kontrole zewnętrzne: o wysokim mianie dodatnim, o niskim mianie dodatnim i kontrolę ujemną. Zewnętrzne kontrole wysokododatnie i niskododatnie wytwarza się przez rozcieńczanie z materiału wyjściowego o mianie spójnym z międzynarodowym standardem WHO HCV. Każda seria zestawu do amplifikacji/detekcji została skalibrowana w odniesieniu do międzynarodowego standardu WHO HCV.

Zasady procedury

Test **cobas**® HCV opiera się na całkowicie zautomatyzowanym przygotowaniu próbek (ekstrakcji i oczyszczaniu kwasów nukleinowych), po którym przeprowadzana jest amplifikacja i detekcja podczas reakcji PCR. System **cobas**® 5800 zaprojektowano jako urządzenie zintegrowane. **cobas**® 6800/8800 składa się z modułu podawania próbek, modułu transferu, modułu przetwarzania oraz modułu analitycznego. Automatyczne przetwarzanie danych jest prowadzone przez oprogramowanie systemu **cobas**® 5800 lub **cobas**® 6800/8800, które przypisuje wynik testu dla wszystkich badań jako nie wykryto targetu, < dolnej granicy oznaczalności, > górnej granicy oznaczalności lub wykryto RNA HCV, wartość w liniowym zakresie oznaczalności (dolna granica oznaczalności < x < górna granica oznaczalności). Wyniki można analizować bezpośrednio na ekranie systemu, eksportować lub drukować w postaci raportu w formacie PDF.

Kwasy nukleinowe z próbek pacjentów, kontrole zewnętrzne i dodane cząsteczki opłaszczonego RNA-QS są izolowane równocześnie. Podsumowując, kwasy nukleinowe wirusów są uwalniane przez dodanie do próbki proteiny i odczynnik lizujący. Uwolniony kwas nukleinowy wiąże się z silikonową powierzchnią dodanych szklanych cząstek magnetycznych. Niezwiązane substancje i zanieczyszczenia, takie jak zdenaturowane białko, debris komórkowy i potencjalne inhibitory reakcji PCR są usuwane na kolejnych etapach płukania buforem, a oczyszczony kwas nukleinowy jest następnie wmywany w podwyższonej temperaturze ze szklanych cząstek magnetycznych z użyciem buforu do elucji.

Wybiórcza amplifikacja docelowego kwasu nukleinowego z próbki pacjenta jest osiągnięta przez zastosowanie docelowych swoistych dla wirusa starterów, wiodącego i odwrotnego, które są wybierane w obrębie wysoce konserwatywnych obszarów HCV. Selektywna amplifikacja RNA-QS uzyskiwana jest przez użycie specyficznych dla sekwencji starterów wiodącego i odwrotnego, które wybierane są tak, aby nie były homologiczne z genomem HCV. Do odwrotnej transkrypcji oraz amplifikacji w procesie PCR wykorzystywana termostabilna polimeraza DNA. Sekwencje docelowa oraz RNA-QS amplifikowane są jednocześnie przy użyciu uniwersalnego profilu amplifikacji PCR ze wstępnie zdefiniowanymi etapami temperatury i liczby cykli. Odczynnik Mastermiks zamiast trifosforanu deoksytymidyny (dTTP) zawiera trifosforan deoksyurydyny (dUTP), który wbudowywany jest do nowo syntetyzowanego DNA (amplikonu).^{20–22} Jakikolwiek zanieczyszczające amplikony z poprzednich reakcji PCR są usuwane w pierwszym etapie cyklu termicznego dzięki aktywności enzymu AmpErase, który znajduje się w mieszaninie reakcyjnej PCR. Jednak nowo powstały amplikon nie jest eliminowany, gdyż enzym AmpErase w temperaturze przekraczającej 55°C ulega inaktywacji.

Mastermiks **cobas**® HCV zawiera dwie sondy wykrywające swoiste dla badanych sekwencji HCV i jedną dla RNA-QS. Sondy znakowane są za pomocą swoistych dla sekwencji docelowych fluorescencyjnych barwników reporterowych, pozwalających na równoczesne wykrywanie docelowej sekwencji HCV i RNA-QS w dwóch różnych kanałach detekcji.^{23,24} W przypadku niezwiązania z sekwencją docelową sygnał fluorescencyjny nienaruszonych sond jest tłumiony przez barwnik wygaszający. Podczas amplifikacji PCR hybrydacja sond do swoistych sekwencji jednoniciowej matrycy DNA skutkuje cięciem sondy przez polimerazę DNA w wyniku posiadanej przez nią aktywności nukleazy w kierunku od końca 5' do 3', co powoduje rozdzielenie barwników reporterowych i wygaszającego oraz wygenerowanie sygnału fluorescencyjnego. Z każdym cyklem PCR generowana jest zwiększająca się liczba rozszczepionych sond i jednocześnie wzrasta sumaryczny sygnał barwnika reporterowego. Wykrycie w czasie rzeczywistym i rozróżnienie produktów PCR ma miejsce poprzez pomiar fluorescencji uwolnionych barwników reporterowych reprezentujących docelowe wirusy i RNA-QS.

Odczynniki i materiały



Odczynniki i kontrole do testu cobas® HCV

Wszystkie nieotwarte odczynniki i kontrole należy przechowywać zgodnie z zaleceniami, które zawiera Tabela 1 do Tabela 4.

Tabela 1 cobas® HCV

cobas® HCV Przechowywać w temperaturze 2–8°C Kaseta na 192 testów (P/N 09040765190)		
Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw 192 testów
Roztwór proteinyzy (PASE)	Bufor Tris, < 0,05% EDTA, chlorek wapnia, octan wapnia, 8% (udział wagowo-obj.) proteinyzy EUH210: Karta charakterystyki dostępna na żądanie. EUH208: Może powodować wystąpienie reakcji alergicznej. Zawiera: subtylizyna, 9014-01-1	22,3 ml
RNA Quantitation Standard (RNA-QS)	Bufor trycynowy, < 0,05% EDTA, < 0,001% konstruktów opłaszczonych RNA innego niż HCV zawierającego regiony sekwencji swoiste dla starterów i sond (niezakaźny RNA w bakteriofagu MS2), < 0,1% azydku sodu	21,2 ml
Bufor do elucji (EB)	Bufor Tris, 0,2% metylo-4-hydroksybenzoesan	21,2 ml
Mastermiks 1 (MMX-R1)	Octan magnezu, wodorotlenek potasu, < 0,1% azydku sodu	7,5 ml
HCV Mastermiks 2 (HCV MMX-R2)	Bufor trycynowy, octan potasu, 18% dimetylosulfotlenku, glicerol, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP i dUTP, < 0,01% starterów wiodącego i odwrotnego dla HCV, < 0,01% starterów wiodącego i odwrotnego standardu ilościowego, < 0,01% znakowanych barwnikami fluorescencyjnymi sond oligonukleotydowych, swoistych dla HCV i standardu ilościowego HCV, < 0,01% aptameru oligonukleotydowego, < 0,01% polimerazy DNA Z05D, < 0,1% enzymu AmpErase (uracylo-N-glikozylazy) (bakteryjnej), < 0,1% azydku sodu	9,7 ml


Tabela 2 cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit Przechowywać w temperaturze 2–8°C (P/N 09040773190)			
Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie*
Kontrola nisko dodatnia HBV/HCV/HIV-1 (HBV/HCV/HIV-1 L(+))C	<p>< 0,001% RNA wirusa HIV-1 grupy M opłaszczonego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, < 0,001% syntetycznego (plazmidowego) DNA wirusa HBV opłaszczonego białkiem kapsydowym bakteriofaga Lambda, < 0,001% syntetycznego RNA wirusa HCV opłaszczonego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, prawidłowe osocze ludzkie niewykazujące reaktywności w licencjonowanych testach na obecność przeciwciał przeciwko wirusowi HIV-1/2, HCV, antygenowi HBsAg ani przeciwciał przeciwko antygenowi HBc; RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV niewykrywalnego metodami PCR</p> <p>0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**</p>	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	 <p>OSTRZEŻENIE</p> <p>H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. H412 Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. 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-4-izotiazolino-3-on [WE nr 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazolo-3-on [WE nr 220-239-6] (3:1).</p>
Kontrola wysoko dodatnia HBV/HCV/HIV-1 (HBV/HCV/HIV-1 H(+))C	<p>< 0,001% syntetycznego RNA wirusa HIV-1 grupy M opłaszczonego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2 o wysokim mianie, < 0,001% syntetycznego (plazmidowego) DNA wirusa HBV opłaszczonego białkiem kapsydowym bakteriofaga Lambda, < 0,001% syntetycznego RNA wirusa HCV opłaszczonego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, prawidłowe osocze ludzkie niewykazujące reaktywności w licencjonowanych testach na obecność przeciwciał przeciwko wirusowi HIV-1/2, HCV, antygenowi HBsAg ani przeciwciał przeciwko antygenowi HBc; RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV niewykrywalnego metodami PCR</p> <p>0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**</p>	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	 <p>OSTRZEŻENIE</p> <p>H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P272: Zanieczyszczoną odzież ochronnej nie wносить poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Masa reakcyjna: 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolino-3-on [WE nr 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazolo-3-on [WE nr 220-239-6] (3:1).</p>

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

** Substancja niebezpieczna.

Tabela 3 cobas® NHP Negative Control Kit

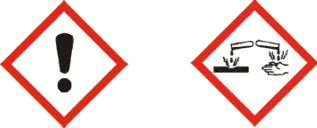
cobas® NHP Negative Control Kit Przechowywać w temperaturze 2–8°C (P/N 09051554190)			
Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie*
Kontrola ujemna z prawidłowego osocza ludzkiego (NHP-NC)	Prawidłowe osocze ludzkie niereaktywne w licencjonowanych testach na obecność przeciwciał przeciwko HCV, przeciwciał przeciwko HIV-1/2, antygenu 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**	16 ml (16 × 1 ml)	 <p>OSTRZEŻENIE</p> <p>H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry.</p> <p>P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy.</p> <p>P272: Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wnosić poza miejsce pracy.</p> <p>P280: Stosować rękawice ochronne.</p> <p>P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.</p> <p>P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem.</p> <p>P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów.</p> <p>55965-84-9 Masa reakcyjna: 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolino-3-on [WE nr 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazolo-3-on [WE nr 220-239-6] (3:1).</p>

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

** Substancja niebezpieczna.

Odczynniki cobas omni do przygotowywania próbek

Tabela 4 Odczynniki cobas omni do przygotowywania próbek*

Odczynniki	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Przechowywać w temperaturze 2–8°C (P/N 06997546190)	Szklane cząstki magnetyczne, bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesu, < 0,1% azydku sodu	480 testów	Nie dotyczy
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Przechowywać w temperaturze 2–8°C (P/N 06997511190)	Bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesu, < 0,1% azydku sodu	4 × 875 ml	Nie dotyczy
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Przechowywać w temperaturze 2–8°C (P/N 06997538190)	43% (udział wagowy) tiocyjanian guanidyny***, 5% (udział wagowo-obj.) polidokanol***, 2% (udział wagowo-obj.) ditiotreitol***, dwuwodny cytrynian sodu	4 × 875 ml	 <p>NIEBEZPIECZEŃSTWO</p> <p>H302 + H332: Działa szkodliwie po połknięciu i w następstwie wdychania.</p> <p>H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.</p> <p>H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.</p> <p>EUH032: W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy.</p> <p>P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy.</p> <p>P273: Unikać uwolnienia do środowiska.</p> <p>P280: Stosować ochronę oczu/ochronę twarzy.</p> <p>P303 + P361 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): natychmiast zdjęć całą skażoną odzież. Splukać skórę pod strumieniem wody.</p> <p>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 ZATRUCIE/lekarzem.</p> <p>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 ZATRUCIE/lekarzem.</p> <p>593-84-0 Tiocyjanian guanidyny 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diol</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Przechowywać w temperaturze 15–30°C (P/N 06997503190)	Dwuwodny cytrynian sodu, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesan	4,2 l	Nie dotyczy

* Te odczynniki nie są dołączone do zestawu testu cobas® HCV. Należy zapoznać się z listą wymaganych materiałów dodatkowych (Tabela 9).

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

*** Substancja niebezpieczna.

Wymagania dotyczące przechowywania odczynników

Odczynniki należy przechowywać i użytkować zgodnie z informacjami, które prezentuje Tabela 5, Tabla 6 i Tabela 7.

Jeśli odczynniki nie zostały umieszczone w systemie **cobas**® 5800 ani w systemach **cobas**® 6800/8800, należy przechowywać je w odpowiedniej temperaturze, zgodnie z informacjami, które zawiera Tabela 5.

Tabela 5 Przechowywanie odczynników (umieszczonych poza systemem)

Odczynnik	Temperatura przechowywania
cobas ® HCV	2–8°C
cobas ® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	2–8°C
cobas ® NHP Negative Control Kit	2–8°C
cobas omni Lysis Reagent	2–8°C
cobas omni MGP Reagent	2–8°C
cobas omni Specimen Diluent	2–8°C
cobas omni Wash Reagent	15–30°C

Wymagania dotyczące użytkowania systemu **cobas**® 5800

Odczynniki umieszczone w systemie **cobas**® 5800 przechowywane są w odpowiedniej temperaturze, a ich data przydatności do użycia monitorowana jest przez system. System umożliwia wykorzystanie odczynników tylko w przypadku spełnienia wszystkich warunków, które zawiera Tabla 6. System automatycznie uniemożliwia wykorzystanie przeterminowanych odczynników. Tabla 6 umożliwia użytkownikowi zrozumienie warunków użytkowania odczynników wymuszanych przez system **cobas**® 5800.

Tabela 6 Warunki dotyczące daty ważności odczynników wymuszane przez system **cobas**® 5800

Odczynnik	Data ważności zestawu	Stabilność otwartego zestawu	Liczba przebiegów pracy, do których można wykorzystać zestaw	Stabilność na pokładzie aparatu
cobas ® HCV – 192	Nieprzekroczona	90 dni od pierwszego użycia	Maksymalnie 40 przebiegów	Maks. 36 dni*
cobas ® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy ^a	Nie dotyczy	Maks. 36 dni*
cobas ® NHP Negative Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy ^a	Nie dotyczy	Maks. 36 dni*
cobas omni Lysis Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni MGP Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Specimen Diluent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Wash Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy

^a Odczynniki jednorazowe.

* Czas jest mierzony od umieszczenia po raz pierwszy odczynnika w systemie **cobas**® 5800.

Wymagania dotyczące użytkowania systemów cobas® 6800/8800

Odczynniki umieszczone w systemach cobas® 6800/8800 przechowywane są w odpowiedniej temperaturze, a ich data przydatności do użycia monitorowana jest przez system. Systemy cobas® 6800/8800 umożliwiają wykorzystanie odczynników tylko w przypadku spełnienia wszystkich warunków, które zawiera Tabela 7. System automatycznie uniemożliwia wykorzystanie przeterminowanych odczynników. Tabela 7 umożliwia zrozumienie wymuszonych przez systemy cobas® 6800/8800 warunków użytkowania odczynników.

Tabela 7 Warunki dotyczące daty ważności odczynników wymuszane przez systemy cobas® 6800/8800

Odczynnik	Data ważności zestawu	Stabilność otwartego zestawu	Liczba przebiegów pracy, do których można wykorzystać zestaw	Stabilność na pokładzie urządzenia (łącznie czas w urządzeniu poza chłodziarką)
cobas® HCV	Nieprzekroczona	90 dni od pierwszego użycia	Maksymalnie 40 przebiegów	Maksymalnie 40 godzin
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy ^a	Nie dotyczy	Maksymalnie 8 godzin
cobas® NHP Negative Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy ^a	Nie dotyczy	Maksymalnie 10 godzin
cobas omni Lysis Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni MGP Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Specimen Diluent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Wash Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy

^a Odczynniki jednorazowe.

* Czas jest mierzony od umieszczenia po raz pierwszy odczynnika w systemach cobas® 6800/8800.

Materiały dodatkowe wymagane dla systemu cobas® 5800

Tabela 8 Materiały i materiały zużywalne do użytku z systemem cobas® 5800

Materiał	P/N
cobas omni Processing Plate 24	08413975001
cobas omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Końcówki CORE TIPS z filtrem, 1 ml	04639642001
Końcówki CORE TIPS z filtrem, 300 µl	07345607001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Worek na odpady stałe lub Worek na odpady stałe z wkładką	07435967001 lub 08030073001

Materiały dodatkowe wymagane dla systemów cobas® 6800/8800

Tabela 9 Materiały i materiały zużywalne do użytku z systemami cobas® 6800/8800

Materiał	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Worek na odpady stałe i pojemnik na odpady stałe lub Worek na odpady stałe z wkładką i szuflada na zestawy	07435967001 i 07094361001 lub 08030073001 i 08387281001

Wymagane urządzenia i oprogramowanie

W urządzeniu **cobas® 5800** należy zainstalować oprogramowanie systemu **cobas® 5800** oraz pakiet oprogramowania do analizy **cobas® HCV** dla urządzenia **cobas® 5800**. Z systemem zostanie dostarczone oprogramowanie Data Manager oraz komputer PC dla systemu **cobas® 5800**.

W urządzeniu(-ach) należy zainstalować oprogramowanie **cobas® 6800/8800** oraz pakiet oprogramowania do analizy **cobas® HCV** dla systemów **cobas® 6800/8800**. Z systemem dostarczany jest serwer Instrument Gateway (IG).

Tabela 10 Urządzenia

Wyposażenie	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System (opcja, na ruchomej platformie)	05524245001 i 06379672001
cobas® 6800 System (nieruchomy)	05524245001 i 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Moduł dostarczania próbek	06301037001

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z podręcznikiem użytkownika i/lub instrukcją obsługi systemu **cobas® 5800** lub systemów **cobas® 6800/8800**.

Uwaga: szczegółową listę zamówień na statywy próbkowe, statywy na niedrożne końcówki i tace na statywy akceptowane przez urządzenia można uzyskać po skontaktowaniu się z przedstawicielem serwisu 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 niniejszego testu podczas użytkowania odczynników oraz mieszanin do amplifikacji należy zachować szczególną ostrożność, aby zapobiec zanieczyszczeniu.

- Do stosowania wyłącznie w diagnostyce *in vitro*.
- Test **cobas**® HCV nie jest przeznaczony do badań przesiewowych na obecność wirusa HCV we krwi lub produktach krwiopochodnych.
- Ze wszystkimi próbkami 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.^{25, 26} Procedurę tę powinien wykonywać wyłącznie personel przeszkolony w pracy z materiałami zakaźnymi oraz w stosowaniu testu **cobas**® HCV i systemu **cobas**® 5800/6800/8800 System.
- Wszystkie materiały pochodzenia ludzkiego należy uważać za potencjalnie zakaźne i postępować z nimi z zastosowaniem ogólnych środków ostrożności. W przypadku rozlania materiału należy natychmiast odkazić świeżo przygotowanym 0,5% roztworem podchlorynu sodu w destylowanej lub dejonizowanej wodzie (wybielacz rozcieńczony w stosunku 1:10) lub postępować zgodnie z procedurami przyjętymi w danym ośrodku.
- **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit oraz **cobas**® NHP Negative Control Kit zawierają osocze uzyskane z krwi ludzkiej. Materiał źródłowy był badany z wykorzystaniem licencjonowanych testów z użyciem przeciwciał i nie wykazywał obecności przeciwciał przeciwko wirusom HCV, HIV-1/2, antygenowi HBsAg ani przeciwciał przeciwko antygenowi HBc. Badanie prawidłowego osocza ludzkiego z użyciem metod PCR również nie wykazało obecności RNA wirusa HIV-1 (grup M i O), 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 zamrażać pełnej krwi ani innych próbek przechowywanych w próbkach pierwotnych.**
- W celu zagwarantowania optymalnego działania testu należy stosować wyłącznie dostarczone lub wymienione potrzebne materiały zużywalne.
- Karty charakterystyki są dostępne na żądanie w lokalnym 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 pracy z próbkami i ich przygotowywania nie stosuje się odpowiedniej kontroli kontaminacji pomiędzy próbkami, może dojść do uzyskania fałszywie dodatnich wyników.
- Jeśli oczekiwane miano wirusa wynosi < 100 IU/ml, nie należy stosować próbki o objętości pierwotnej wynoszącej 200 µl.
- Należy poinformować lokalny właściwy organ o wszelkich poważnych zdarzeniach, które mogą wystąpić podczas stosowania tego testu.

Użytkowanie odczynników

- Aby uniknąć zanieczyszczenia pomiędzy próbkami lub kontrolami, ze wszystkimi odczynnikami, kontrolami i próbkami należy postępować zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej.
- Przed użyciem należy ocenić wzrokowo każdą kasetę odczynnikową, rozcieńczalnik, odczynnik do lizy i odczynnik płuczający, aby upewnić się, że nie ma jakiegokolwiek wycieku. W razie wystąpienia wycieku nie wolno używać tego materiału do badania.

- **cobas omni** Lysis Reagent zawiera izotiocyanian 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.
- Zestawy testu **cobas®** HCV, **cobas omni** MGP Reagent oraz **cobas omni** Specimen Diluent zawierają azydek sodu jako substancję konserwującą. 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 **cobas omni** Lysis Reagent, zawierającego tiocyanian guanidyny, z roztworem podchlorynu sodu (wybielaczem). Połączenie to może skutkować wytworzeniem silnie trującego gazu.
- Wszystkie materiały, które przypadkowo weszły w kontakt z próbkami i odczynnikami, należy utylizować zgodnie z przepisami krajowymi i lokalnymi.

Dobra praktyka laboratoryjna

- Nie należy pipetować za pomocą ust.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić tytoniu w obszarach roboczych.
- Podczas pracy z próbkami i odczynnikami należy nosić rękawiczki laboratoryjne, fartuch oraz osłonę oczu. W celu uniknięcia zanieczyszczenia należy zmieniać rękawice pomiędzy czynnościami związanymi z próbkami i użytkowaniem zestawów **cobas®** HCV oraz odczynników **cobas omni**. Podczas pracy z próbkami i kontrolami należy unikać zanieczyszczenia rękawiczek.
- Po zakończeniu pracy z próbkami i zestawami odczynnikowymi oraz po zdjęciu rękawiczek należy dokładnie umyć ręce.
- 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 przetrzeć powierzchnię 70% etanolem.
- Jeśli na powierzchni urządzenia **cobas®** 5800 dojdzie do rozlania płynu, należy postępować zgodnie z instrukcjami zamieszczonymi w podręczniku użytkownika i/lub instrukcji obsługi systemu **cobas®** 5800 w celu prawidłowego wyczyszczenia i odkażenia powierzchni urządzenia (urządzeń).
- Jeśli na powierzchni urządzenia **cobas®** 6800/8800 dojdzie do rozlania płynu, należy postępować zgodnie z instrukcjami zamieszczonymi w podręczniku użytkownika i/lub instrukcji obsługi systemów **cobas®** 6800/8800 w celu prawidłowego wyczyszczenia i odkażenia powierzchni urządzenia (urządzeń).

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 wpływa na stabilność próbek.

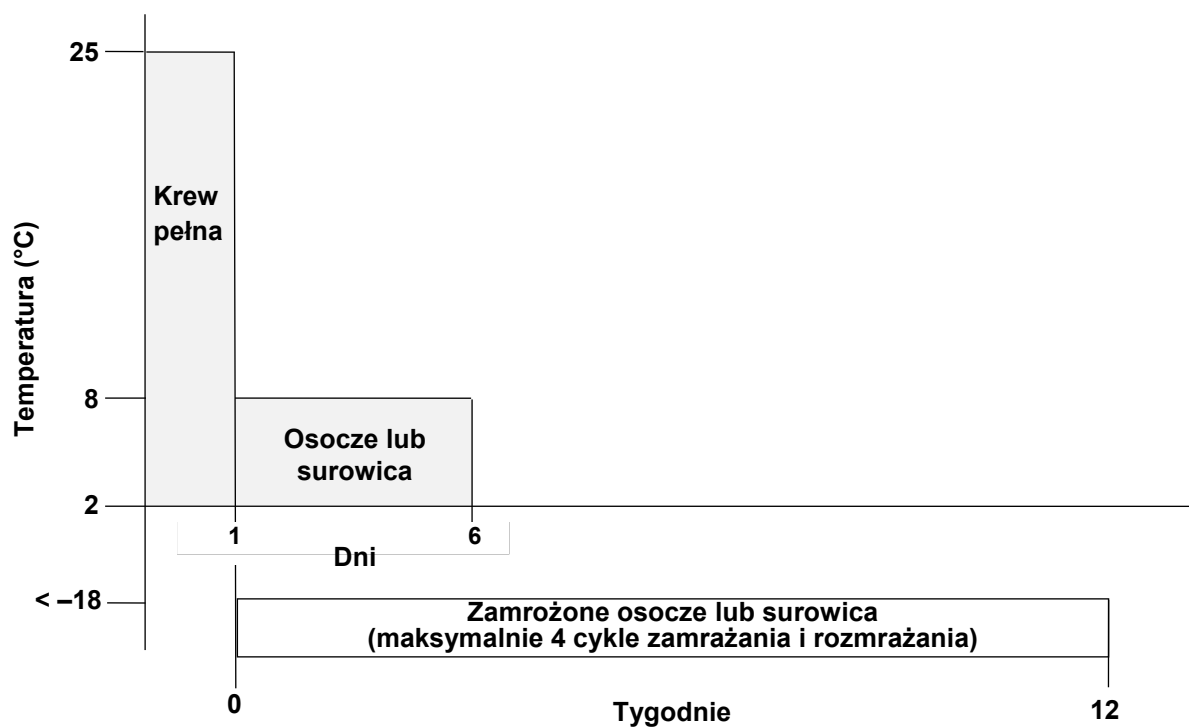
W przypadku używania próbek zamrożonych w probówkach wtórnych, należy umieścić próbki w temperaturze pokojowej (15–30°C) aż do całkowitego ich rozmrożenia, a następnie krótko wymieszać (np. na mieszadle wibracyjnym przez 3–5 sekund) i odwirować w celu zebrania się całej objętości próbki na dnie probówki.

Próbki

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. Należy przestrzegać instrukcji producenta probówek do pobierania próbek.

- Krew pełna pobrana do probówek do rozdziału surowicy SST™, probówek przeznaczonych do testów 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 lub surowicy. Wirowanie powinno być przeprowadzane zgodnie z instrukcjami producenta.
- Po oddzieleniu próbki osocza EDTA lub surowicy można przechowywać w probówkach wtórnych przez maksymalnie 6 dni w temperaturze od 2°C do 8°C lub do 12 tygodni w temperaturze $\leq -18^{\circ}\text{C}$. W przypadku przechowywania długoterminowego zalecane są temperatury $\leq -60^{\circ}\text{C}$.
- Próbki osocza/surowicy zachowują stabilność przez maksymalnie cztery cykle zamrażania/rozmrzania w przypadku zamrożenia w temperaturze $\leq -18^{\circ}\text{C}$.
- Dopilnować pobrania pełnej krwi w ilości umożliwiającej zastosowanie preferowanej objętości przetwarzania dla osocza z dodatkiem EDTA lub surowicy wynoszącej 500 μl (przy całkowitej minimalnej objętości próbki wynoszącej 650 μl), jeśli to możliwe.
- Jeśli próbki mają być przesyłane, należy je opakować i oznaczyć zgodnie z odpowiednimi krajowymi i/lub międzynarodowymi przepisami dotyczącymi transportu próbek i czynników zakaźnych.

Ryc. 1 Warunki przechowywania próbek



Instrukcja użytkowania

Uwagi proceduralne

- Nie należy używać odczynników testu **cobas® HCV**, **cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit**, **cobas® NHP Negative Control Kit** i odczynników **cobas omni** po upływie ich daty ważności.
- Nie wykorzystywać ponownie materiałów zużywalnych. Są one przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku.
- Instrukcje dotyczące prawidłowej konserwacji urządzeń zawiera podręcznik użytkownika i/lub instrukcja obsługi systemu **cobas® 5800** lub systemów **cobas® 6800/8800**.

Wykonanie testu cobas® HCV w systemie cobas® 5800

Test cobas® HCV można oznaczać przy użyciu dwóch wymaganych objętości próbki 350 µl (procedura dla próbki 200 µl) i 650 µl (procedura dla próbki 500 µl). Procedurę wykonywania testu opisano szczegółowo w Podręczniku użytkownika i/lub instrukcji obsługi systemu cobas® 5800. Ryc. 2 podsumowuje tę procedurę.

- **Uwaga: nie używać przebiegu pracy dla objętości próbki wynoszącej 200 µl, jeśli oczekiwane miano wirusa wynosi ≤ 100 IU/ml. Należy pobrać wystarczającą ilość krwi, umożliwiającą zastosowanie preferowanej objętości przetwarzania dla osocza z dodatkiem EDTA lub surowicy wynoszącej 500 µl (przy całkowitej minimalnej objętości próbki wynoszącej 650 µl).**

Ryc. 2 Procedura testu cobas® HCV w systemie cobas® 5800

1	Zaloguj się do systemu
2	Załaduj próbki do systemu: <ul style="list-style-type: none"> • Załaduj statywy z próbkami do systemu • System przeprowadzi automatyczne przygotowanie • Zleć testy
3	Po poproszeniu przez system uzupełnij odczynniki i materiały zużywalne przez system: <ul style="list-style-type: none"> • Załaduj swoistą dla testu kasetę (kasety) na odczynniki • Załaduj mini statywy z kontrolami • Załaduj końcówki do przetwarzania • Załaduj końcówki do elucji • Załaduj płytki do przetwarzania • Załaduj płytki na odpady płynne • Załaduj płytki amplifikacyjne • Załaduj kasetę MGP • Uzupełnij rozcieńczalnik próbki • Uzupełnij odczynnik lizujący • Uzupełnij odczynnik płuczący
4	Rozpocznij przebieg przez wybranie przycisku „Start processing” (Start przetwarzania) w interfejsie użytkownika; wszystkie kolejne przebiegi rozpoczną się automatycznie, o ile nie zostaną ręcznie odłożone
5	Sprawdź i wyeksportuj wyniki
6	W razie potrzeby wyjmij i zamknij próbki z próbkami spełniające wymogi dotyczące minimalnej objętości do użycia w przyszłości Oczyszczyć aparat: <ul style="list-style-type: none"> • Wyjmij puste mini statywy z kontrolami • Wyładuj pustą swoistą dla testu kasetę (kasety) na odczynniki • Opróżnij szufladę na płytki amplifikacyjne • Usuń odpady płynne • Usuń odpady stałe

Wykonanie testu cobas® HCV w systemach cobas® 6800/8800

Test cobas® HCV można oznaczać przy użyciu dwóch wymaganych objętości próbki 350 µl (procedura dla próbki 200 µl) i 650 µl (procedura dla próbki 500 µl). Procedurę wykonywania testu opisano szczegółowo w Podręczniku użytkownika i/lub instrukcji obsługi systemów cobas® 6800/8800. Ryc. 3 podsumowuje tę procedurę.

- **Uwaga: nie używać przebiegu pracy dla objętości próbki wynoszącej 200 µl, jeśli oczekiwane miano wirusa wynosi ≤ 100 IU/ml. Należy pobrać wystarczającą ilość krwi, umożliwiającą zastosowanie preferowanej objętości przetwarzania dla osocza z dodatkiem EDTA lub surowicy wynoszącej 500 µl (przy całkowitej minimalnej objętości próbki wynoszącej 650 µl).**

Ryc. 3 Procedura testu cobas® HCV w systemach cobas® 6800/8800

1	Zaloguj się do systemu Naciśnij przycisk Start, aby przygotować system Złóż testy
2	Po poproszeniu przez system uzupełnij odczynniki i materiały zużywalne przez system: <ul style="list-style-type: none"> • Załaduj swoistą dla testu kasetę na odczynniki • Załaduj kasety z kontrolami • Załaduj końcówki pipetujące • Załaduj płytki do przetwarzania • Załaduj odczynnik MGP Reagent • Załaduj płytki amplifikacyjne • Uzupełnij rozcieńczalnik próbki • Uzupełnij odczynnik lizujący • Uzupełnij odczynnik płuczący
3	Załaduj próbki do systemu <ul style="list-style-type: none"> • Załaduj ramki na próbki i ramki na niedrożne końcówki do modułu dostarczania próbek • Potwierdź, że próbki zostały przyjęte do modułu transferu
4	Rozpocznij przebieg przez wybranie przycisku Start manualnie w interfejsie użytkownika lub ustaw automatyczne rozpoczęcie przebiegu po 120 minutach bądź po zapełnieniu partii
5	Sprawdź i wyeksportuj wyniki
6	W razie potrzeby wyjmij i zamknij probówki z próbkami spełniające wymogi dotyczące minimalnej objętości do użycia w przyszłości Oczyść aparat <ul style="list-style-type: none"> • Wyjmij puste kasety z kontrolami • Opróżnij szufladę na płytki amplifikacyjne • Usuń odpady płynne • Usuń odpady stałe

Wyniki

System **cobas**® 5800 i systemy **cobas**® 6800/8800 automatycznie określają stężenie RNA wirusa HCV w próbkach i kontrolach. Stężenie RNA HCV wyraża się w jednostkach międzynarodowych IU (International Units) na mililitr (IU/ml).

Kontrola jakości i ważność wyników w systemie **cobas**® 5800

- W każdej partii przetwarzana jest jedna ujemna kontrola [(-) C] i dwie kontrole dodatnie, kontrola nisko dodatnia [HCV L(+)C] oraz kontrola wysoko dodatnia [HCV H(+)C] są przetwarzane przynajmniej co 72 godziny lub z każdą nową serią zestawu. Wykonywanie kontroli dodatnich i/lub ujemnych można zaplanować częściej, w zależności od procedury laboratorium i/lub miejscowych przepisów.
- W celu zagwarantowania ważności partii należy sprawdzić w oprogramowaniu systemu **cobas**® 5800 i/lub w raporcie obecność flag oraz powiązane z nimi wyniki.
- Partia jest ważna, jeśli nie zostaną wygenerowane flagi dla wszystkich trzech kontroli (jednej kontroli ujemnej i dwóch kontroli dodatnich): HCV L(+)C, HCV H(+)C. Wynik kontroli ujemnej jest wyświetlany jako (-) C, a kontrola nisko dodatnia i wysoko dodatnia są wyświetlane odpowiednio jako HxV L(+)C i HxV H(+)C.

Wyniki są unieważniane automatycznie przez oprogramowanie **cobas**® 5800 na podstawie uzyskania niepomysłnych wyników kontroli ujemnej i kontroli dodatniej.

UWAGA: system **cobas**® 5800 zostanie dostarczony ze standardowymi ustawieniami oznaczania zestawu kontroli (dodatnich i ujemnych) z każdym przebiegiem, ale można go skonfigurować do rzadszego wykonywania kontroli, aż do co 72 godzin, w zależności od procedur laboratorium i/lub miejscowych przepisów. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy skontaktować się z inżynierem serwisu firmy Roche i/lub pomocą techniczną firmy Roche.

Wyniki kontroli w systemie **cobas**® 5800

Wyniki kontroli przedstawia aplikacja „Controls” oprogramowania **cobas**® 5800.

- Kontrole oznaczone są „Valid” (Ważne) w kolumnie „Control result” (Wynik kontroli), jeśli wszystkie sekwencje docelowe kontroli zostały zgłoszone jako ważne. Kontrole oznaczone są „Invalid” (Nieważne) w kolumnie „Control result” (Wynik kontroli), jeśli wszystkie sekwencje docelowe kontroli zostały zgłoszone jako nieważne.
- Kontrole oznaczone jako „Invalid” (Nieważne) w kolumnie „Flags” (Flagi) oznaczone są flagą. Więcej informacji na temat powodu zgłoszenia kontroli jako nieważnej, włącznie z informacją o fladze, dostępnych jest w widoku szczegółowym.
- Jeśli nieważna jest jedna z kontroli dodatnich, należy powtórzyć oznaczenie wszystkich kontroli dodatnich i powiązanych z nimi próbek. Jeśli nieważna jest kontrola ujemna, należy powtórzyć oznaczenie wszystkich kontroli i powiązanych z nimi próbek.

Kontrola jakości i ważność wyników w systemach **cobas**® 6800/8800

- W każdej partii analizowanej w systemach **cobas**® 6800/8800 przetwarzana jest jedna ujemna kontrola [(-) C] i dwie kontrole dodatnie: kontrola nisko dodatnia [HCV L(+)C] oraz kontrola wysoko dodatnia [HCV H(+)C].
- W celu zagwarantowania ważności partii należy sprawdzić w oprogramowaniu systemów **cobas**® 6800/8800 i/lub w raportach obecność flag oraz powiązane z nimi wyniki.
- Partia jest ważna, jeśli nie zostaną wygenerowane flagi dla wszystkich trzech kontroli (jednej kontroli ujemnej i dwóch kontroli dodatnich): HCV L(+)C, HCV H(+)C. Wynik kontroli ujemnej jest wyświetlany jako (-) C, a kontrola nisko dodatnia i wysoko dodatnia są wyświetlane odpowiednio jako HxV L(+)C i HxV H(+)C.

Wyniki zostaną automatycznie unieważnione przez oprogramowanie **cobas**® 6800/8800 na podstawie uzyskania niepomysłnych wyników kontroli ujemnej i kontroli dodatnich.

Flagi kontroli w systemach cobas® 6800/8800

Tabela 11 Oflagowania kontroli ujemnej i kontroli dodatnich

Kontrola ujemna	Oflagowanie	Wynik	Interpretacja
(-) C	Q02 (Nie powiodła się analiza partii kontrolnej)	Nieważny	Wynik oznaczony jako nieważny lub wynik obliczonego miana kontroli ujemnej nie jest wynikiem ujemnym.
Kontrola dodatnia	Oflagowanie	Wynik	Interpretacja
HxV L(+)C	Q02 (Nie powiodła się analiza partii kontrolnej)	Nieważny	Wynik oznaczony jako nieważny lub obliczone miano dla kontroli nisko dodatniej nie mieści się w określonym zakresie.
HxV H(+)C	Q02 (Nie powiodła się analiza partii kontrolnej)	Nieważny	Wynik oznaczony jako nieważny lub obliczone miano dla kontroli wysoko dodatniej nie mieści się w określonym zakresie.

Jeśli partia zostanie unieważniona, należy powtórzyć badanie całej partii z uwzględnieniem próbek i kontroli.

HxV L(+)C oznacza w oprogramowaniu systemów cobas® 6800/8800 kontrolę nisko dodatnią cobas® HBV/HCV/HIV-1 a HxV H(+)C oznacza kontrolę wysoko dodatnią cobas® HBV/HCV/HIV-1.

Interpretacja wyników

W przypadku ważnej partii kontroli należy sprawdzić w oprogramowaniu systemu cobas® 5800 i/lub systemów cobas® 6800/8800 i/lub raportach poszczególne próbki pod kątem obecności flag. Wyniki należy interpretować w następujący sposób:

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

Tabela 12 Interpretacja wyników dla poszczególnych targetów

Wyniki	Interpretacja
Target Not Detected	Nie wykryto HCV RNA. Podać wynik jako „Nie wykryto HCV”.
< Titer Min	Obliczone miano jest niższe od dolnej granicy oznaczalności testu (LLOQ). Podać wynik jako „Wykryto HCV, miano poniżej (miano min.)”. Miano min. = 15 IU/ml (500 µl) Miano min. = 40 IU/ml (200 µl)
Titer	Obliczone miano znajduje się w zakresie liniowym testu — jest większe lub równie mianu min. oraz mniejsze lub równe mianu maks. Podać wynik jako „Wykryto (miano) HCV”.
> Titer Max ^a	Obliczone miano jest wyższe od górnej granicy oznaczalności testu (ULOQ). Podać wynik jako „Wykryto HCV, miano powyżej (miano maks.)”. Miano maks. = 1,00E+08 IU/ml (500 µl i 200 µl)

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

Interpretacja wyników w systemie cobas® 5800

Wyniki próbek przedstawia aplikacja „Results” oprogramowania **cobas® 5800**.

W przypadku ważnej partii kontroli należy sprawdzić w oprogramowaniu systemu **cobas® 5800** i/lub raportach poszczególne próbki pod kątem obecności flag. Wyniki należy interpretować w następujący sposób:

- Próbki powiązane z ważną partią kontroli wyświetlane są jako „Valid” (Ważne) w kolumnie „Control result” (Wynik kontroli), jeśli wszystkie wyniki docelowe kontroli zgłaszane są jako ważne. Próbki powiązane z błędną partią kontroli wyświetlane są jako „Invalid” (Nieważne) w kolumnie „Control result” (Wynik kontroli), jeśli wszystkie wyniki docelowe kontroli zgłaszane są jako nieważne.
- Jeśli powiązane kontrole wyniku próbki są nieważne, do wyniku próbki zostanie dodana określona flaga:
 - Q05D: Niepowodzenie weryfikacji wyniku z powodu nieważnej kontroli dodatniej
 - Q06D: Niepowodzenie weryfikacji wyniku z powodu nieważnej kontroli ujemnej
- Wartości w kolumnie „Results” (Wyniki) dla poszczególnych wyników docelowych próbek powinny być interpretowane zgodnie z tym, co przedstawia Tabela 12 powyżej.
- Jeśli przynajmniej jedna wartość docelowa próbki jest oznaczona „Invalid” (Nieważny), oprogramowanie **cobas® 5800** wyświetla flagę w kolumnie „Flags” (Flagi). Więcej informacji na temat powodu zgłoszenia wartości docelowej próbki jako nieważnej, włącznie z informacją o fladze, dostępnych jest w widoku szczegółowym.

Interpretacja wyników w systemach cobas® 6800/8800

W przypadku ważnej partii należy sprawdzić w oprogramowaniu systemów **cobas® 6800/8800** i/lub raportach poszczególne próbki pod kątem obecności flag. Wyniki należy interpretować w następujący sposób:

- Próbki są oznaczane jako „Yes” (Tak) w kolumnie „Valid” (Ważna), jeżeli wszystkie pozyskane wyniki docelowe okazały się wynikami ważnymi. Próbki oznaczone „No” (Nie) w kolumnie „Valid” (Ważna) mogą wymagać dodatkowej interpretacji i działania.
- Wartości dla poszczególnych wyników docelowych próbek powinny być interpretowane zgodnie z tym, co przedstawia Tabela 12 powyżej.

Ograniczenia metody

- Test **cobas® HCV** został oceniony jedynie pod kątem stosowania razem z **cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit**, **cobas® NHP Negative Control Kit**, **cobas omni MGP Reagent**, **cobas omni Lysis Reagent**, **cobas omni Specimen Diluent** oraz **cobas omni Wash Reagent** do użytku w systemach **cobas® 5800/6800/8800**.
- Uzyskanie wiarygodnych wyników zależy od prawidłowych procedur pobierania, przechowywania i dalszego postępowania z próbkami.
- Ten test został zatwierdzony wyłącznie do badania osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA. Badanie innych rodzajów próbek może dawać nieprawidłowe wyniki.
- Oznaczenie ilościowe RNA wirusa HCV zależy od liczby cząstek wirusa obecnych w próbce i mogą na nie mieć wpływ: metoda pobrania próbki, czynniki zależne od pacjenta (tj. wiek, obecność objawów) i/lub stadium zakażenia.
- Mutacje w obrębie wysoce konserwatywnych regionów genomu wirusowego, z którymi wiążą się startery i/lub sondy używane w teście **cobas® HCV** — chociaż rzadkie — mogą wpływać na wiązanie startera i/lub sondy oraz spowodować zniżenie miana lub niewykrycie wirusa.
- Z uwagi na różnice pomiędzy metodami zaleca się, aby przed zmianą użytkownik przeprowadził w laboratorium badania korelacji stosowanych metod w celu określenia występujących pomiędzy nimi różnic jakościowych. Użytkownicy powinni postępować zgodnie z własnymi określonymi zasadami/procedurami.
- Test **cobas® HCV** nie jest przeznaczony do wykorzystania w badaniach przesiewowych na obecność wirusa HCV we krwi lub produktach krwiopochodnych.

Niekliniczna ocena wiarygodności

Najważniejsze parametry działania wykonywanego w systemach cobas® 6800/8800 Systems

Granica wykrywalności (LoD)

Międzynarodowy standard WHO

Granice wykrywalności testu cobas® HCV, określono na podstawie analizy serii rozcieńczeń międzynarodowego standardu WHO dla RNA wirusa zapalenia wątroby typu C do oznaczeń opartych na technologii amplifikacji kwasów nukleinowych (4th WHO International Standard), genotyp 1a, uzyskanego z National Institute for Biological Standards and Control (NISBC, amerykański Krajowy instytut ds. standardów i kontroli biologicznych) w HCV-ujemnym ludzkim osoczu z EDTA i surowicy z użyciem objętości przetwarzania wynoszących 500 µl i 200 µl. Minimalna wymagana objętość próbki wymagana do przetwarzania w systemach cobas® 6800/8800 Systems wynosi odpowiednio 650 µl i 350 µl. Panel składający się z sześciu poziomów stężeń i kontroli ujemnej przetestowano z użyciem objętości przetwarzania próbki 500 µl oraz siedmiu poziomów stężenia dla objętości przetwarzania próbki 200 µl w trzech seriach odczytników testu cobas® HCV, w wielu seriach i dniach, wykonywanych przez różnych użytkowników i na różnych aparatach.

Wyniki dla osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA z obu objętości zamieszczono w tabelach odpowiednio od Tabela 13 do Tabela 16. Badanie wykazało, że test cobas® HCV wykrywał RNA HCV przy stężeniu 8,46 IU/ml z 95% przedziałem ufności wynoszącym 7,50–9,79 IU/ml w przypadku objętości przetwarzania próbki 500 µl w osoczu krwi pobranej na EDTA i przy stężeniu 9,61 IU/ml z 95% przedziałem ufności wynoszącym 8,70–10,95 IU/ml w przypadku objętości przetwarzania próbki 500 µl surowicy. Badanie wykazało, że test cobas® HCV wykrywał RNA HCV przy stężeniu 24,93 IU/ml z 95% przedziałem ufności wynoszącym 22,51–28,35 IU/ml w przypadku objętości przetwarzania próbki 200 µl w osoczu krwi pobranej na EDTA i przy stężeniu 33,25 IU/ml z 95% przedziałem ufności wynoszącym 29,94–37,94 IU/ml w przypadku objętości przetwarzania próbki 200 µl surowicy. Różnica między osoczem a surowicą krwi pobranej na EDTA przy użyciu objętości przetwarzania wynoszących 500 µl i 200 µl nie była istotna statystycznie.

Tabela 13 Granica wykrywalności w osoczu z EDTA (500 µl)

Stężenie wejściowe (RNA HCV IU/ml)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w %
30	189	189	100,00
20	188	186	98,94
15	189	187	98,94
10	189	183	96,83
8	188	182	96,81
5	188	155	82,45
0	189	1*	0,53
LoD w analizie PROBIT przy 95% trafności	8,46 IU/ml 95% przedział ufności: 7,50–9,79 IU/ml		

* Próbkę z wynikiem ujemnym potwierdzonym alternatywnymi metodami analitycznymi.

Tabela 14 Granica wykrywalności w surowicy (500 µl)

Stężenie wejściowe (RNA HCV IU/ml)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w %
30	188	187	99,47
20	189	189	100,00
15	189	187	98,94
10	189	184	97,35
8	189	171	90,48
5	189	141	74,60
0	189	0	0,00
LoD w analizie PROBIT przy 95% trafności	9,61 IU/ml 95% przedział ufności: 8,70–10,95 IU/ml		

Tabela 15 Granica wykrywalności w osoczu z EDTA (200 µl)

Stężenie wejściowe (RNA HCV IU/ml)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w %
80	189	189	100,00
60	189	189	100,00
50	188	187	99,47
40	189	185	97,88
25	189	179	94,71
20	189	177	93,65
12	188	136	72,34
0	189	1*	0,53
LoD w analizie PROBIT przy 95% trafności	24,93 IU/ml 95% przedział ufności: 22,51–28,35 IU/ml		

* Próbki z wynikiem ujemnym potwierdzonym alternatywnymi metodami analitycznymi.

Tabela 16 Granica wykrywalności w surowicy (200 µl)

Stężenie wejściowe (RNA HCV IU/ml)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w %
80	189	189	100,00
60	189	188	99,47
50	189	186	98,41
40	189	184	97,35
25	189	167	88,36
20	189	156	82,54
12	189	125	66,14
0	189	0	0,00
LoD w analizie PROBIT przy 95% trafności	33,25 IU/ml 95% przedział ufności: 29,94–37,94 IU/ml		

Zakres liniowości

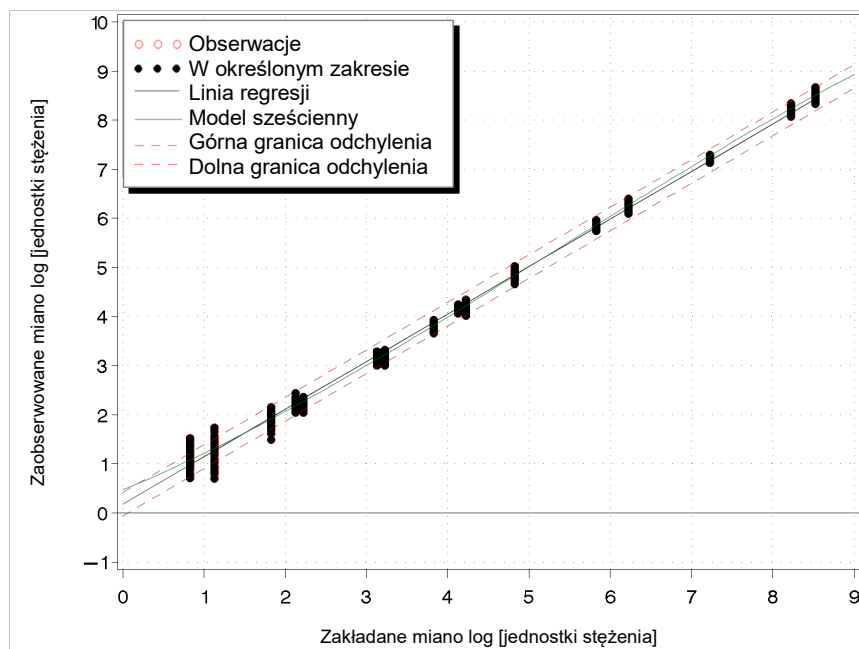
Badanie liniowości testu **cobas**® HCV przeprowadzono z seriami rozcieńczeń obejmującymi 16-elementowy panel obejmujący zamierzony zakres liniowy dominującego genotypu (GT 1). Elementy panelu o najwyższym mianie zostały przygotowane z opłaszczonym RNA (arRNA) o wysokim mianie, a elementy panelu o niższym mianie zostały przygotowane z próbek klinicznych (CS). Panel liniowości opracowano tak, aby pomiędzy dwoma materiałami próbki występowało zachodzenie miana wynoszące około $2 \log_{10}$. Oczekiwany zakres liniowy testu **cobas**® HCV zawiera się w przedziale od LLoQ (15 IU/ml przy objętości przetwarzania próbki 500 μ l ora 40 IU/ml przy objętości przetwarzania próbki 200 μ l) do ULoQ (1,00E+08 IU/ml w obu objętościach). Panel liniowości opracowano tak, aby rozciągał się od jednego poziomu stężenia poniżej (np. 7,5 IU/ml) do jednego poziomu stężenia nad ULoQ (np. 2,0E+08 IU/ml) oraz by uwzględniał kluczowe punkty decyzji medycznych. Ponadto panel liniowości opracowano, aby częściowo obsługiwał etapy $1,0 \log_{10}$ w obrębie zakresu liniowości. Dla każdego należącego do panelu elementu podano stężenie nominalne w IU/ml oraz źródło RNA HCV.

Przy używaniu objętości przetwarzania 500 μ l test **cobas**® HCV ma przebieg liniowy dla osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA od 15 IU/ml do 1,00E+08 IU/ml i wykazuje bezwzględne odchylenie od lepiej dopasowanej regresji nieliniowej poniżej $\pm 0,24 \log_{10}$. W zakresie liniowym dokładność testu mieściła się w granicach $\pm 0,24 \log_{10}$.

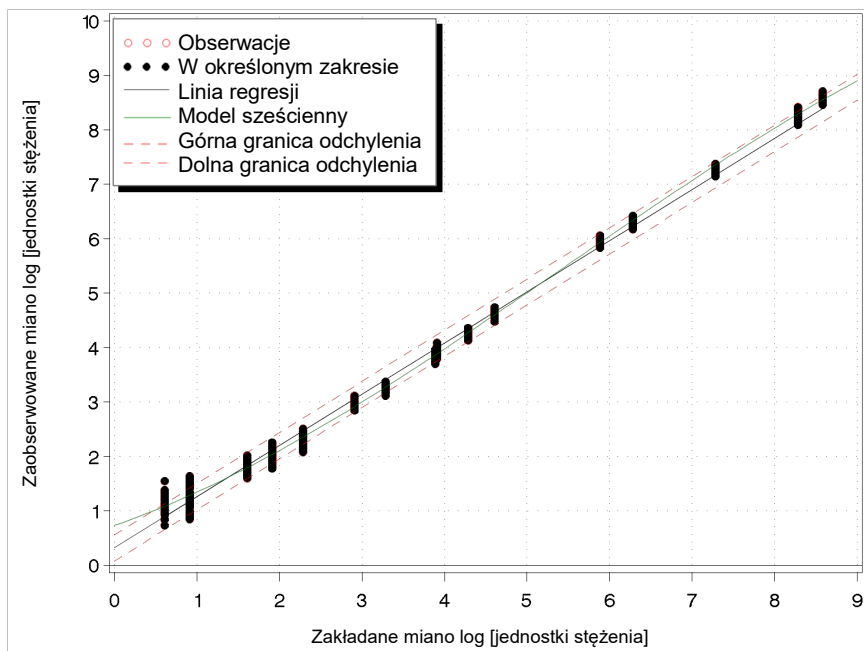
Przy używaniu objętości przetwarzania 200 μ l test **cobas**® HCV ma przebieg liniowy dla osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA od 40 IU/ml do 1,00E+08 IU/ml i wykazuje bezwzględne odchylenie od lepiej dopasowanej regresji nieliniowej poniżej $\pm 0,24 \log_{10}$. W zakresie liniowym dokładność testu mieściła się w granicach $\pm 0,24 \log_{10}$ w osoczu i $\pm 0,27 \log_{10}$ w surowicy.

Reprezentatywne wyniki zamieszczono na Ryc. 4 do Ryc. 7.

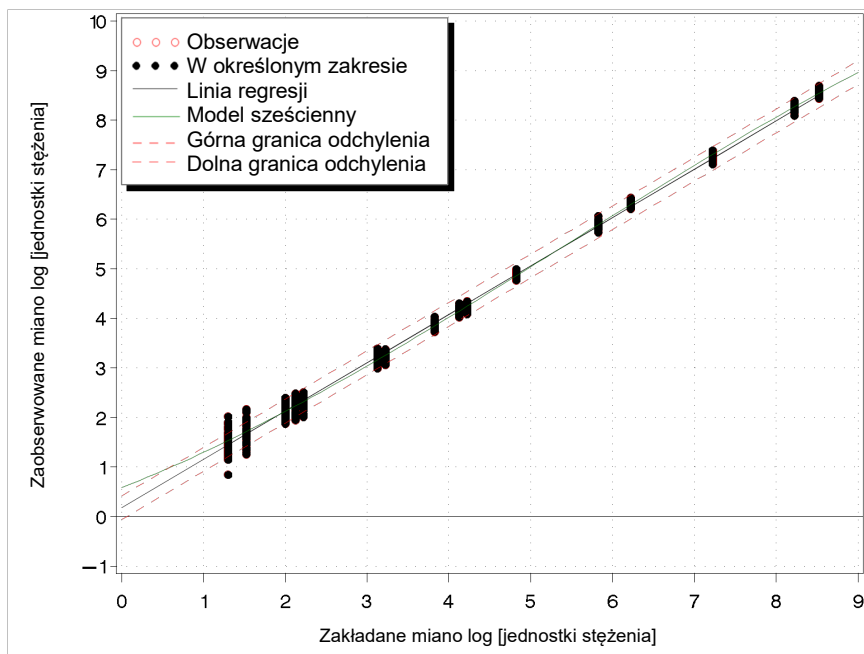
Ryc. 4 Liniowość w osoczu pobranym na EDTA (500 μ l)



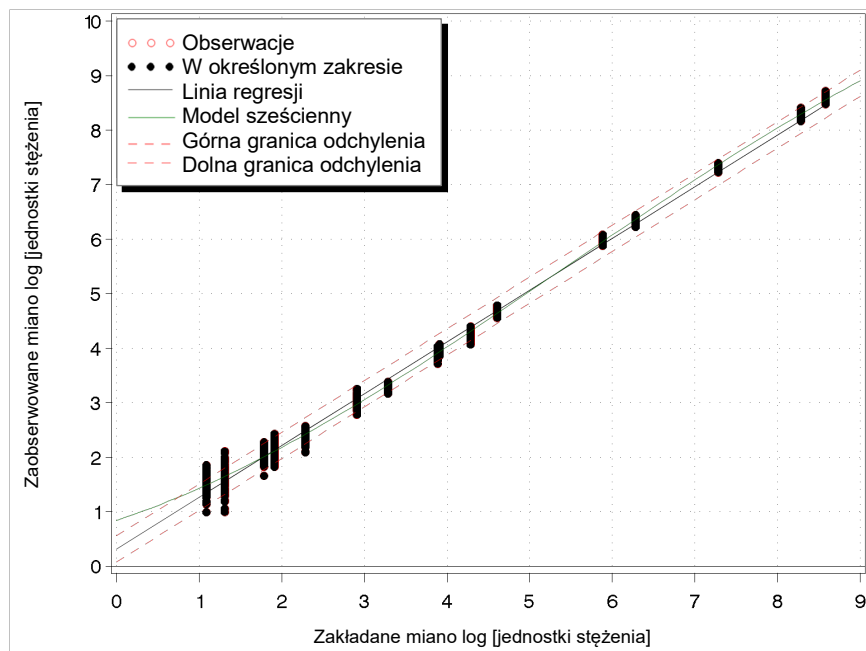
Ryc. 5 Liniowość w surowicy (500 µl)



Ryc. 6 Liniowość w osoczu pobranym na EDTA (200 µl)



Ryc. 7 Liniowość w surowicy (200 µl)



Precyzja wewnątrz laboratorium

Precyzję testu **cobas**® HCV określono na podstawie analizy serii rozcieńczeń próbek klinicznych (CS) zawierających HCV (genotyp 1) lub oplaszczonego RNA HCV, przygotowanych w HCV-ujemnym ludzkim osoczu lub surowicy krwi pobranej na EDTA. Przetestowano trzynaście poziomów rozcieńczeń w osoczu i 12 poziomów w surowicy w dwóch powtórzeniach dla każdego poziomu w dwóch przebiegach w ciągu 12 dni, co dało łącznie 48 powtórzeń dla każdego stężenia. Każda próbka przeszła całą procedurę testu **cobas**® HCV na w pełni zautomatyzowanych systemach **cobas**® 6800/8800. Dlatego podana precyzja odzwierciedla wszystkie aspekty procedury badawczej. Badanie przeprowadzono z zastosowaniem trzech serii odczynników testów **cobas**® HCV. Wyniki zamieszczono w tabelach od Tabela 17 do Tabela 20.

Wykazano wysoką dokładność testu **cobas**® HCV dla trzech partii badanych odczynników w zakresie stężeń od $1,00E+01$ IU/ml do $1,0E+07$ IU/ml z objętością przetwarzania 500 µl oraz od $2,50E+01$ IU/ml do $1,0E+07$ IU/ml z objętością przetwarzania próbki 200 µl.

Tabela 17 Wewnętrzna dokładność testu cobas® HCV (próbki osocza z EDTA — objętość przetwarzania wynosząca 500 µl)*

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie założone (IU/ml)	Materiał źródłowy	Osocze krwi pobranej na EDTA			
			Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie serie
			OS	OS	OS	OS pulowane
1,00E+07	1,67E+07	arRNA	0,04	0,05	0,03	0,04
1,00E+06	1,67E+06	arRNA	0,05	0,05	0,06	0,05
4,00E+05	6,69E+05	arRNA	0,03	0,04	0,05	0,04
5,00E+04	6,69E+04	CS	0,08	0,06	0,06	0,06
1,00E+04	1,67E+04	arRNA	0,05	0,05	0,04	0,05
1,00E+04	1,34E+04	CS	0,03	0,06	0,05	0,05
4,00E+03	6,69E+03	arRNA	0,05	0,06	0,06	0,06
1,00E+03	1,34E+03	CS	0,05	0,06	0,05	0,05
1,00E+03	1,67E+03	arRNA	0,05	0,07	0,05	0,06
1,00E+02	1,34E+02	CS	0,06	0,09	0,05	0,07
1,00E+02	1,67E+02	arRNA	0,10	0,06	0,06	0,08
5,00E+01	6,69E+01	CS	0,09	0,17	0,10	0,13
1,00E+01	1,34E+01	CS	0,26	0,21	0,13	0,21

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

Tabela 18 Wewnętrzna dokładność testu cobas® HCV (próbki surowicy — objętość przetwarzania wynosząca 500 µl)*

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie założone (IU/ml)	Materiał źródłowy	Surowica			
			Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie serie
			OS	OS	OS	OS pulowane
1,00E+07	1,92E+07	arRNA	0,03	0,07	0,04	0,05
1,00E+06	1,92E+06	arRNA	0,05	0,06	0,04	0,05
4,00E+05	7,69E+05	arRNA	0,03	0,07	0,03	0,05
5,00E+04	4,05E+04	CS	0,07	0,06	0,04	0,06
1,00E+04	1,92E+04	arRNA	0,06	0,06	0,04	0,05
1,00E+04	8,11E+03	CS	0,05	0,06	0,04	0,05
4,00E+03	7,69E+03	arRNA	0,04	0,08	0,04	0,06
1,00E+03	8,11E+02	CS	0,05	0,06	0,06	0,05
1,00E+03	1,92E+03	arRNA	0,06	0,05	0,05	0,05
1,00E+02	8,11E+01	CS	0,10	0,18	0,10	0,13
1,00E+02	1,92E+02	arRNA	0,07	0,08	0,09	0,08
5,00E+01	4,05E+01	CS	0,09	0,14	0,18	0,14

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

Tabela 19 Wewnątrzlaboratoryjna dokładność testu cobas® HCV (próbki osocza z EDTA — objętość przetwarzania wynosząca 200 µl)*

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie założone (IU/ml)	Materiał źródłowy	Osocze krwi pobranej na EDTA			
			Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie serie
			OS	OS	OS	OS pulowane
1,00E+07	1,67E+07	arRNA	0,04	0,06	0,05	0,05
1,00E+06	1,67E+06	arRNA	0,04	0,03	0,05	0,04
4,00E+05	6,69E+05	arRNA	0,04	0,06	0,03	0,04
5,00E+04	6,69E+04	CS	0,05	0,06	0,05	0,06
1,00E+04	1,67E+04	arRNA	0,05	0,05	0,05	0,05
1,00E+04	1,34E+04	CS	0,07	0,06	0,05	0,06
4,00E+03	6,69E+03	arRNA	0,05	0,06	0,05	0,05
1,00E+03	1,34E+03	CS	0,08	0,08	0,06	0,07
1,00E+03	1,67E+03	arRNA	0,04	0,07	0,05	0,05
1,00E+02	1,34E+02	CS	0,11	0,15	0,13	0,13
1,00E+02	1,67E+02	arRNA	0,10	0,10	0,13	0,11
7,50E+01	1,00E+02	CS	0,15	0,12	0,11	0,13
2,50E+01	3,34E+01	CS	0,19	0,20	0,22	0,21

* Uważa się, iż wartości miana mają charakter rozkładu logarytmiczno-normalnego i są analizowane po zamianie na log₁₀. Kolumny odchylenia standardowego (OS) przedstawiają całkowite przekształcone logarytmicznie miano dla każdej z trzech serii odczynników.

Tabela 20 Wewnątrzlaboratoryjna dokładność testu cobas® HCV (próbki surowicy — objętość przetwarzania wynosząca 200 µl)*

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie założone (IU/ml)	Materiał źródłowy	Surowica			
			Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie serie
			OS	OS	OS	OS pulowane
1,00E+07	1,92E+07	arRNA	0,02	0,06	0,03	0,04
1,00E+06	1,92E+06	arRNA	0,03	0,06	0,04	0,04
4,00E+05	7,69E+05	arRNA	0,04	0,09	0,04	0,06
5,00E+04	4,05E+04	CS	0,05	0,06	0,06	0,06
1,00E+04	1,92E+04	arRNA	0,05	0,07	0,04	0,06
1,00E+04	8,11E+03	CS	0,04	0,05	0,05	0,05
4,00E+03	7,69E+03	arRNA	0,04	0,07	0,04	0,05
1,00E+03	8,11E+02	CS	0,10	0,09	0,08	0,09
1,00E+03	1,92E+03	arRNA	0,05	0,07	0,04	0,05
1,00E+02	8,11E+01	CS	0,17	0,30	0,17	0,22
1,00E+02	1,92E+02	arRNA	0,13	0,13	0,09	0,12
7,50E+01	6,08E+01	CS	0,11	0,16	0,12	0,13

* Uważa się, iż wartości miana mają charakter rozkładu logarytmiczno-normalnego i są analizowane po zamianie na log₁₀. Kolumny odchylenia standardowego (OS) przedstawiają całkowite przekształcone logarytmicznie miano dla każdej z trzech serii odczynników.

Weryfikacja genotypu

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

- Oznaczenia granicy wykrywalności dla genotypów od 1b do 6 testowanych w objętości przetwarzania próbki wynoszącej 500 µl
- Weryfikacji granicy wykrywalności dla genotypów od 1b do 6 testowanych w objętości przetwarzania próbki wynoszącej 200 µl
- Weryfikacji liniowości dla genotypów od 2 do 6.

Granica wykrywalności dla genotypów od 1b do 6

Granice wykrywalności testu **cobas**® HCV dla genotypów od 1b do 6 określono na podstawie analizy serii rozcieńczeń dla każdego genotypu w ujemnym dla HCV ludzkim osoczu i surowicy krwi pobranej na EDTA przy użyciu objętości przetwarzania 500 µl. Panel składający się z sześciu poziomów stężeń i próby ujemnej testowano na trzech seriach odczytników testu **cobas**® HCV, w wielu seriach, dniach, przez wielu użytkowników i przy użyciu wielu aparatów.

Wyniki dla osocza pobranego na EDTA i surowicy z objętości przetwarzania 500 µl przedstawia Tabela 21 i Tabela 22. Badanie wykazuje, że test **cobas**® HCV wykrywał wszystkie genotypy HCV testowane przy podobnym LoD, jak w przypadku genotypu 1a HCV.

Tabela 21 Granica wykrywalności genotypu RNA HCV w osoczu z EDTA (500 µl)

Genotyp	LoD 95% na podstawie analizy Probit	95% przedział ufności
GT 1b	11,32 IU/ml	9,72–14,52 IU/ml
GT 2	9,10 IU/ml	7,83–11,80 IU/ml
GT 3	8,68 IU/ml	7,30–11,51 IU/ml
GT 4	12,78 IU/ml	10,69–17,20 IU/ml
GT 5	11,63 IU/ml	9,66–15,98 IU/ml
GT 6	12,58 IU/ml	9,78–20,10 IU/ml

Tabela 22 Granica wykrywalności genotypu RNA HCV w surowicy (500 µl)

Genotyp	LoD 95% na podstawie analizy Probit	95% przedział ufności
GT 1b	15,24 IU/ml	12,40–21,58 IU/ml
GT 2	12,51 IU/ml	10,25–17,63 IU/ml
GT 3	7,21 IU/ml	6,10–9,50 IU/ml
GT 4	11,62 IU/ml	9,92–15,02 IU/ml
GT 5	13,06 IU/ml	10,64–18,68 IU/ml
GT 6	11,15 IU/ml	9,54–14,40 IU/ml

Weryfikacja granicy wykrywalności dla genotypów od 1b do 6

Próbki kliniczne RNA HCV osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA dla sześciu różnych genotypów (1b, 2, 3, 4, 5, 6) rozcieńczono do trzech poziomów stężenia. Określenie odsetka trafności przeprowadzono w 63 powtórzeniach dla każdego poziomu. Badania przeprowadzono z trzema seriami odczynników **cobas® HCV**. Wyniki dla osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA przy użyciu objętości 200 µl przedstawia Tabela 23 i Tabela 24. Wyniki te weryfikują, że test **cobas® HCV** wykrył RNA HCV dla sześciu różnych genotypów przy stężeniach 33 IU/ml z odsetkiem trafień wynoszącym $\geq 90,5\%$ przy górnej granicy jednostronnego 95% przedziału ufności wynoszącej $\geq 95,8\%$.

Tabela 23 Weryfikacja granicy wykrywalności genotypu RNA HCV w osoczu z EDTA (200 µl)

Genotyp	17,5 IU/ml			33 IU/ml			50 IU/ml		
	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)
1b	63	50	79,4	63	61	96,8	63	63	100,0
2	63	51	81,0	63	62	98,4	63	62	98,4
3	63	56	89,0	63	58	92,1	63	63	100,0
4	63	54	85,7	63	57	90,5	63	63	100,0
5	63	57	90,5	63	61	96,8	63	63	100,0
6	63	47	74,6	63	57	90,5	63	62	98,4

* Górna granica jednostronnego 95% przedziału ufności

Tabela 24 Weryfikacja granicy wykrywalności genotypu RNA HCV w surowicy (200 µl)

Genotyp	17,5 IU/ml			33 IU/ml			50 IU/ml		
	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)
1b	63	52	82,5	63	61	96,8	63	63	100,0
2	63	46	73,0	63	62	98,4	63	59	93,7
3	63	58	92,1	63	63	100,0	63	63	100,0
4	63	49	77,8	63	59	93,7	63	63	100,0
5	63	46	73,0	63	59	93,7	63	62	98,4
6	63	44	69,8	63	61	96,8	63	61	96,8

* Górna granica jednostronnego 95% przedziału ufności

Liniowość dla genotypów od 2 do 6

Serie rozcieńczeń stosowane podczas weryfikacji badania liniowości genotypów testu **cobas® HCV** zawierają dziewięć elementów panelu rozciągającego się na zamierzony zakres liniowy. Elementy panelu o najwyższym mianie zostały przygotowane z arRNA o wysokim mianie dostępnym na rynku, a elementy panelu o najniższym mianie zostały przygotowane z próbek klinicznych (CS) o wysokim mianie. Panel liniowości opracowano tak, aby pomiędzy dwoma materiałami próbki występowało zachodzenie miana wynoszące około 2 log₁₀. Zakres liniowy testu **cobas® HCV** rozciągał się od LLoQ (15 IU/ml dla objętości przetwarzania 500 µl; 40 IU/ml dla objętości przetwarzania próbki 200 µl) do ULoQ (1,00E+08 IU/ml dla obu objętości przetwarzania) i obejmował co najmniej jeden kluczowy punkt decyzyjny. Badanie przeprowadzono z trzema partiami odczynnika **cobas® HCV**; zbadano 15 powtórzeń na poziom w osoczu EDTA.

Liniowość w zakresie liniowości testu **cobas**® HCV zweryfikowano dla wszystkich pięciu genotypów (2, 3, 4, 5 i 6). Maksymalne odchylenie między regresją liniową oraz lepiej dopasowaną regresją nieliniową było równe lub mniejsze niż $0,24 \log_{10}$.

Swoistość

Swoistość testu **cobas**® HCV określono na podstawie analizy próbek HCV-ujemnego osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA od indywidualnych dawców. Trzysta pojedynczych próbek osocza pobranego na EDTA i 300 pojedynczych próbek surowicy (w sumie 600 wyników) zbadano z użyciem dwóch partii odczynników **cobas**® HCV. Wszystkie badane próbki były ujemne pod względem RNA HCV. W panelu testu swoistość testu **cobas**® HCV wyniosła 100% (95% przedział ufności wynoszący $\geq 99,5\%$).

Swoistość analityczna

Swoistość analityczną testu **cobas**® HCV była oznaczono w panelu rozcieńczeń drobnoustrojów w dodatnim pod względem RNA HCV i ujemnym pod względem RNA HCV osoczu z EDTA. Drobnoustroje dodawano do prawidłowego, ujemnego dla wirusów osocza ludzkiego z EDTA i testowano je z i bez RNA HCV. W teście **cobas**® HCV wyniki ujemne uzyskano dla wszystkich próbek z drobnoustrojami bez sekwencji docelowej HCV, a wyniki dodatnie uzyskano dla wszystkich próbek z drobnoustrojami z docelową sekwencją HCV. Ponadto średni \log_{10} miana każdej próbki dodatniej pod względem HCV zawierającej potencjalnie reagujący krzyżowo drobnoustroj mieścił się w granicach $\pm 0,3 \log_{10}$ średniego \log_{10} miana odpowiedniej dodanej dodatniej kontroli.

Tabela 25 Drobnoustroje badane pod kątem reaktywności krzyżowej

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

Swoistość analityczna — substancje interferujące

Podwyższone poziomy trójglicerydów (34,5 g/l), bilirubiny związanej (0,25 g/l), bilirubiny niezwiązanej (0,25 g/l), albuminy (58,7 g/l), hemoglobiny (2,9 g/l) i ludzkiego DNA (2 mg/l) w próbkach badano z i bez RNA HCV. Wykazano, że badane interferencje endogenne nie zakłócały działania testu **cobas**® HCV.

Ponadto badano test w obecności chorób autoimmunologicznych, takich jak toczeń rumieniowaty układowy (SLE), czynnik reumatoidalny (RF) oraz w obecności przeciwciał przeciwjądrowych (ANA).

W zakresie czułości, w przypadku dwóch dawców SLE, jednego dawcy RF i czterech dawców ANA pojedyncze próbki wykazały interferencje z testem **cobas**® HCV. Badanie zasadniczej przyczyny wykazało, że na test nie wpływały interferencje pochodzące od zakażonych dawców SLE i RF, gdy test przeprowadzono w obecności 75 IU/ml RNA HCV.

Czterech dawców ANA wykazujących interferencje w teście cobas® HCV przy badaniu w obecności 50 IU/ml RNA HCV wykazało interferencje również przy badaniu w obecności 75 IU/ml RNA HCV. W celu oceny, czy obserwowane interferencje były swoiste dla ANA czy dawcy, przetestowano dodatkowych 15 dawców ANA w obecności 50 IU/ml i 75 IU/ml RNA HCV. Żaden z dodatkowych dawców nie wykazał interferencji z testem cobas® HCV dla obu testowanych stężeń w zakresie czułości/oznaczenia ilościowego.

Dodatkowo składniki leków (patrz Tabela 26) badano w trzykrotnym C_{max} . Wykazano, że wszystkie testowane składniki leków nie zakłócają swoistości i oznaczania ilościowego RNA HCV przez test cobas® HCV.

Żadna z potencjalnie interferujących substancji nie wykazywała interferencji z testem. W teście cobas® HCV wyniki ujemne uzyskano dla wszystkich próbek bez docelowego HCV, a wyniki dodatnie uzyskano dla wszystkich próbek z docelowym HCV. Ponadto średni \log_{10} miana każdej próbki dodatniej pod względem HCV zawierającej potencjalnie interferujące substancje mieścił się w granicach $\pm 0,3 \log_{10}$ średniego \log_{10} miana odpowiedniej dodanej dodatniej kontroli.

Tabela 26 Składniki leków badane pod kątem interferencji z ilościowym oznaczeniem RNA HCV w teście cobas® HCV

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

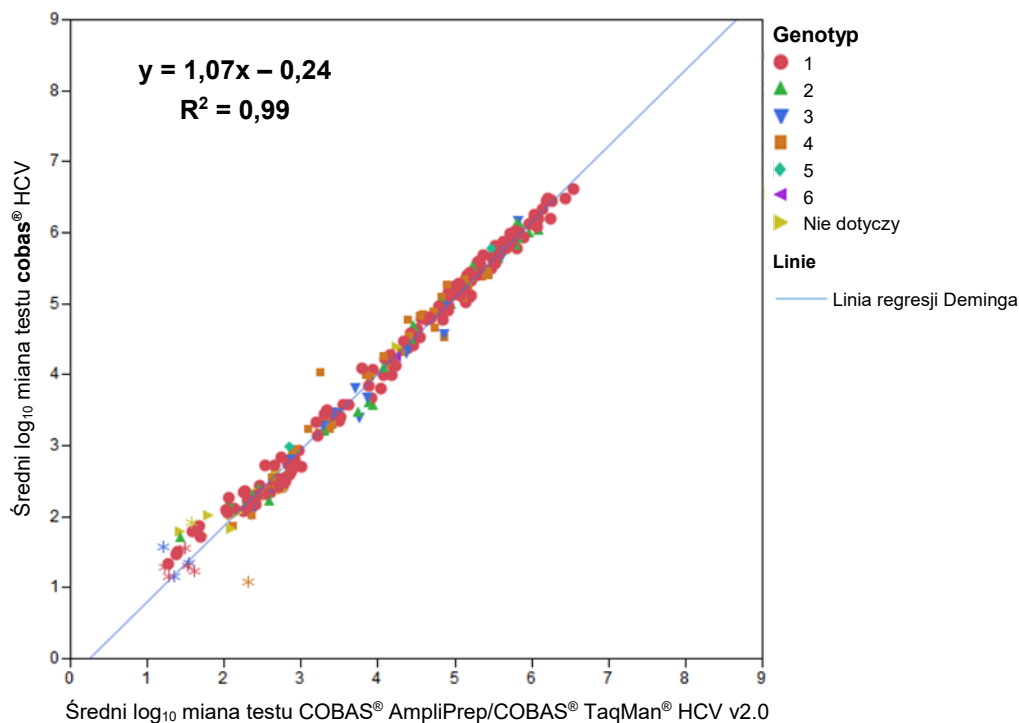
Korelacja metody

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

Wiarygodność testu cobas® HCV i testu COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative Test, v2.0 (TaqMan® HCV Test, v2.0) oceniono podczas analizy próbek surowicy i osocza krwi pobranej na EDTA od osób zakażonych HCV. W sumie 149 próbek osocza pobranego na EDTA i 122 próbek surowicy dla wszystkich genotypów HCV uzyskało wynik ważny w przeprowadzonej podwójnie analizie i znalazło się w zakresie oznaczalności obu testów. Przeprowadzono analizę regresji Deminga. Średnie odchylenie miana próbek badanych dwoma testami wyniosło 0,02 log₁₀ (95% przedział ufności: 0,00; 0,04).

Ryc. 8 zawiera wyniki regresji Deminga. Symbol *, Ryc. 8 wskazuje jedno oznaczenie.

Ryc. 8 Analiza regresji dla testów cobas® HCV vs TaqMan® HCV Test, v2.0, próbki osocza pobranego na EDTA i surowicy

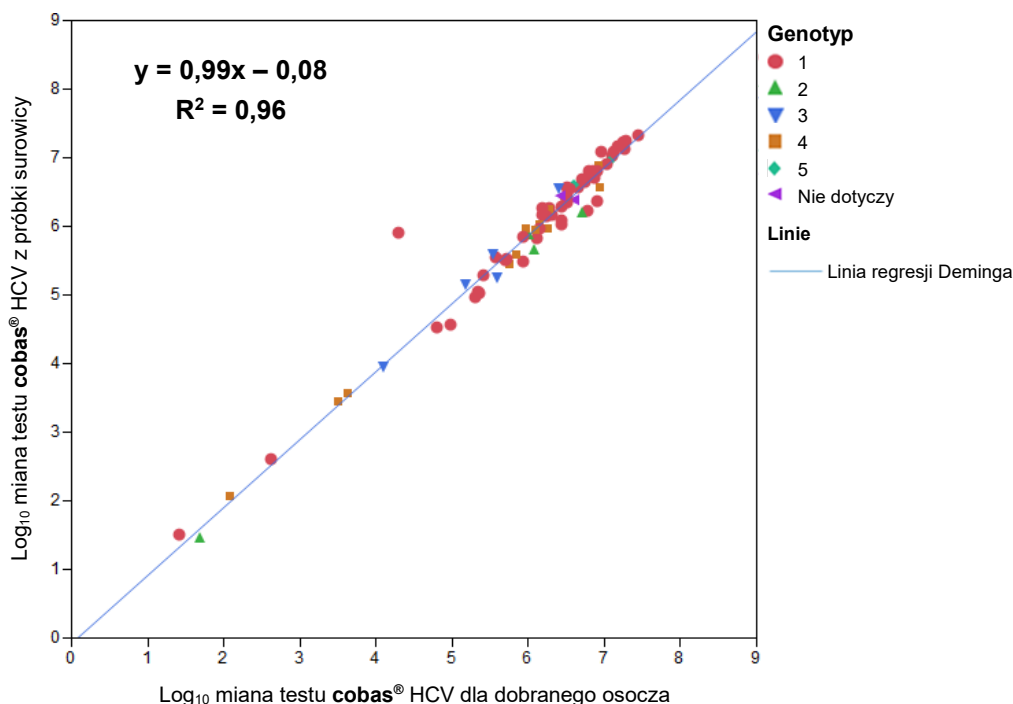


Równoważność materiału próbki — osocze krwi pobranej na EDTA w porównaniu z surowicą

Sto dziewięćdziesiąt przygotowanych próbek osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA zostało zbadanych pod kątem równoważności materiału próbki. Spośród tych, 73 sparowanych próbek było próbkami HCV-dodatnimi. Próbki HCV-dodatnie obejmowały genotypy od 1 do 4 w zakresie liniowym.

Średnie odchylenie miana dla odpowiadających sobie próbek osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA wyniosło $-0,13 \log_{10}$ (95% przedział ufności: $-0,19$; $-0,07$) (Ryc. 9).

Ryc. 9 Równoważność matrycy dotycząca działania z osoczem pobranym na EDTA i surowicą



Błąd systemowy

Częstotliwość błędu całego systemu dla testu **cobas**® HCV określono, badając 100 powtórzeń osocza krwi pobranej na EDTA i 100 powtórzeń surowicy z dodanym docelowym HCV. Próbki te były testowane przy stężeniu docelowym wynoszącym około $3 \times \text{LoD}$.

Wyniki tego badania wykazały, że we wszystkich powtórzeniach stwierdzono ważność i reaktywność względem HCV, co dało częstość występowania błędu systemowego na poziomie 0%. Dolna granica dwustronnego 95% dokładnego przedziału ufności wyniosła 0%, a górna 3,62% dla górnej granicy każdego materiału próbki [0%: 3,62%].

Kontaminacja między próbkami

Częstość występowania zanieczyszczenia pomiędzy próbkami w teście **cobas**® HCV określono poprzez oznaczenie w 240 powtórzeniach próbki prawidłowego osocza ludzkiego niezawierającego wirusów (HIV, HCV oraz HBV) pochodzącego z krwi pobranej na EDTA oraz w 225 powtórzeniach próbki wirusa HCV o wysokim mianie na poziomie $4,0E+07$ IU/ml. Łącznie wykonano pięć przebiegów z użyciem próbek dodatnich i ujemnych w układzie naprzemiennym.

Dwieście trzydzieści dziewięć z 240 powtórzeń próbek ujemnych było ważnych i dało wynik ujemny, prowadząc do wskaźnika zakażeń krzyżowych wynoszącego 0,42%. Dolna granica dwustronnego 95% dokładnego przedziału ufności wyniosła 0,01%, a górna 2,3% [0%: 2,3%].

Ocena klinicznej wiarygodności testu

Zmienność między seriami i odtwarzalność

Zmienność między seriami i odtwarzalność testu **cobas®** HCV oceniono w osoczu pobranym na EDTA w systemie **cobas®** 6800 z użyciem modelu mieszanego do oceny zmienności całkowitej.

Zestawienie wyników patrz od Tabela 27 do Tabela 30 poniżej.

Zmienność między seriami

Badania zmienności między seriami wykonano dla genotypów od 1 do 6 w jednym ośrodku badawczym z użyciem trzech serii odczynnika. Dwóch użytkowników w ośrodku testowało każdą serię przez 6 dni. Każdego dnia wykonywano dwa przebiegi.

Tabela 27 poniżej prezentuje możliwe do przypisania udziały procentowe zmienności całkowitej, odchylenia standardowe (SD) precyzji całkowitej i logarytmiczno-normalne współczynniki zmienności (CV) dla poszczególnych genotypów i oczekiwanego \log_{10} stężenia RNA HCV w systemie **cobas®** 6800.

Tabela 27 Możliwy do przypisania udział procentowy zmienności całkowitej, odchylenia standardowego precyzji całkowitej i CV (%) rozkładu logarytmiczno-normalnego stężenia RNA HCV (\log_{10} IU/ml) wg. genotypu i dodatnich elementów panelu w systemie **cobas®** 6800 (między seriami)

Genotyp	Stężenie RNA wirusa HCV			Liczba testów ^b	Procentowy udział w zmienności całkowitej (logarytmiczno-normalny CV (%))					Precyzja całkowita	
	Oczekiwana wart. IU/ml	Oczekiwana wart. \log_{10} IU/ml	Średnia ^a \log_{10} IU/ml		Seria	Operator	Dzień	Przebieg	W obrębie przebiegu	OS ^c	Logarytmiczno-normalny CV (%) ^d
1	30	1,477	1,482	68	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	25% (22,14)	75% (39,26)	0,1899	45,91
	100	2,000	1,890	72	8% (10,98)	1% (3,68)	0% (0,00)	10% (12,12)	81% (35,75)	0,1672	39,97
	5 000	3,699	3,457	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	82% (32,85)	18% (14,84)	0,1531	36,38
	50 000	4,699	4,443	72	3% (7,26)	0% (0,00)	0% (0,00)	86% (37,29)	11% (12,88)	0,1693	40,51
	500 000	5,699	5,552	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	83% (33,86)	17% (14,96)	0,1570	37,36
	5 000 000	6,699	6,453	71	47% (17,58)	0% (0,00)	0% (0,00)	25% (12,71)	28% (13,35)	0,1100	25,74
	50 000 000	7,699	7,103	72	54% (28,85)	0% (0,00)	0% (0,00)	24% (19,14)	22% (18,00)	0,1670	39,92
2	30	1,477	1,611	72	5% (9,52)	0% (0,00)	8% (11,25)	0% (0,00)	87% (39,60)	0,1776	42,67
	100	2,000	2,125	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	25% (12,12)	75% (21,10)	0,1047	24,47
	5 000	3,699	3,714	72	9% (5,63)	0% (0,00)	0% (0,00)	47% (12,66)	44% (12,17)	0,0798	18,53
	50 000	4,699	4,743	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	54% (16,10)	46% (14,97)	0,0949	22,12
	500 000	5,699	5,806	72	7% (4,24)	0% (0,00)	0% (0,00)	22% (7,39)	71% (13,32)	0,0684	15,85
	5 000 000	6,699	6,187	72	41% (20,03)	0% (0,00)	0% (0,00)	17% (12,73)	42% (20,44)	0,1348	31,80
	50 000 000	7,699	7,080	72	40% (17,99)	1% (2,73)	0% (0,00)	0% (0,00)	59% (21,87)	0,1223	28,73

Genotyp	Stężenie RNA wirusa HCV			Liczba testów ^b	Procentowy udział w zmienności całkowitej (logarytmiczno-normalny CV (%))					Precyzja całkowita	
	Oczekiwana wart. IU/ml	Oczekiwana wart. log ₁₀ IU/ml	Średnia ^a log ₁₀ IU/ml		Seria	Operator	Dzień	Przebieg	W obrębie przebiegu	OS ^c	Logarytmiczno-normalny CV (%) ^d
3	30	1,477	1,474	72	0% (0,00)	3% (8,35)	0% (0,00)	43% (32,35)	54% (36,31)	0,2084	50,89
	100	2,000	1,946	72	13% (13,11)	0% (0,00)	0% (0,00)	49% (25,49)	38% (22,49)	0,1562	37,16
	5 000	3,699	3,636	72	14% (6,76)	0% (0,00)	0% (0,00)	27% (9,30)	59% (13,76)	0,0776	18,01
	50 000	4,699	4,597	72	0% (1,38)	0% (0,00)	0% (0,00)	52% (14,95)	47% (14,24)	0,0894	20,80
	500 000	5,699	5,504	72	0% (0,00)	1% (1,62)	0% (0,00)	43% (13,51)	57% (15,54)	0,0893	20,77
	5 000 000	6,699	6,451	72	28% (14,47)	0% (0,00)	3% (5,08)	0% (0,00)	69% (23,03)	0,1189	27,91
	50 000 000	7,699	7,149	71	21% (18,47)	0% (0,00)	8% (11,62)	0% (0,00)	71% (34,88)	0,1747	41,90
4	30	1,477	1,358	69	7% (14,37)	0% (0,00)	1% (5,44)	0% (0,00)	91% (53,25)	0,2269	56,03
	100	2,000	1,827	72	10% (9,40)	0% (0,00)	1% (2,80)	8% (8,35)	81% (27,09)	0,1283	30,21
	5 000	3,699	3,416	72	20% (7,82)	0% (0,00)	0% (0,00)	42% (11,23)	38% (10,61)	0,0750	17,40
	50 000	4,699	4,405	72	22% (8,06)	0% (0,00)	0% (0,00)	13% (6,30)	65% (14,06)	0,0752	17,46
	500 000	5,699	5,069	71	5% (8,88)	0% (0,00)	24% (19,47)	13% (14,23)	57% (30,31)	0,1699	40,66
	5 000 000	6,699	6,070	72	27% (23,68)	0% (0,00)	12% (15,28)	34% (26,55)	27% (23,52)	0,1940	47,00
	50 000 000	7,699	6,930	72	37% (30,60)	0% (0,00)	22% (23,53)	11% (16,70)	30% (27,73)	0,2149	52,68
5	30	1,477	1,575	72	5% (8,30)	0% (0,00)	0% (0,00)	10% (11,53)	85% (35,32)	0,1611	38,42
	100	2,000	2,049	72	9% (7,51)	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	91% (24,38)	0,1093	25,57
	5 000	3,699	3,606	72	4% (3,63)	0% (0,00)	0% (0,00)	59% (14,11)	38% (11,28)	0,0797	18,51
	50 000	4,699	4,616	72	20% (8,86)	0% (0,00)	0% (0,00)	37% (12,19)	43% (13,21)	0,0867	20,17
	500 000	5,699	5,678	72	7% (4,63)	0% (0,00)	0% (0,00)	33% (10,36)	60% (13,93)	0,0777	18,04
	5 000 000	6,699	6,505	71	54% (19,49)	0% (0,00)	19% (11,53)	0% (0,00)	27% (13,77)	0,1143	26,79
	50 000 000	7,699	7,592	72	35% (11,59)	1% (2,25)	12% (6,72)	4% (3,94)	47% (13,37)	0,0842	19,58

Genotyp	Stężenie RNA wirusa HCV			Liczba testów ^b	Procentowy udział w zmienności całkowitej (logarytmiczno-normalny CV (%))					Precyzja całkowita	
	Oczekiwana wart. IU/ml	Oczekiwana wart. log ₁₀ IU/ml	Średnia ^a log ₁₀ IU/ml		Seria	Operator	Dzień	Przebieg	W obrębie przebiegu	OS ^c	Logarytmiczno-normalny CV (%) ^d
6	30	1,477	1,494	70	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	3% (7,34)	97% (47,65)	0,1990	48,33
	100	2,000	1,940	72	9% (9,29)	0% (0,00)	0% (0,00)	2% (4,14)	90% (30,32)	0,1361	32,13
	5 000	3,699	3,417	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	81% (37,28)	19% (17,38)	0,1737	41,64
	50 000	4,699	4,541	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	70% (26,40)	30% (17,27)	0,1351	31,88
	500 000	5,699	5,611	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	74% (22,82)	26% (13,36)	0,1136	26,62
	5 000 000	6,699	6,414	72	49% (22,99)	0% (0,00)	9% (10,03)	16% (12,88)	26% (16,83)	0,1413	33,42
	50 000 000	7,699	7,529	71	48% (19,63)	1% (2,67)	2% (4,25)	22% (13,15)	28% (14,96)	0,1225	28,78

Uwaga: Tabela obejmuje wyłącznie wyniki z wykrytą wiramią.

^a Obliczono z użyciem procedury SAS MIXED.

^b Liczba ważnych testów z wykrywalną wiramią.

^c Obliczono z użyciem całkowitej zmienności procedury SAS MIXED.

^d Logarytmiczno-normalny CV (%) = $\sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

CV (%) = procentowy współczynnik zmienności; HCV = wirus zapalenia wątroby typu C; RNA = kwas rybonukleinowy;

SD = odchylenie standardowe; sqrt = pierwiastek kwadratowy.

Tabela 28 poniżej: zgodność procentowa wyników ujemnych (NPA) dla systemu **cobas**® 6800 z użyciem ujemnych elementów panelu testów wyniosła 99,54%.

Tabela 28 Zgodność procentowa wyników ujemnych z użyciem ujemnych elementów panelu w systemie **cobas**® 6800 (między seriami)

Oczekiwane stężenie RNA HCV	Liczba testów	Wyniki dodatnie	Wyniki ujemne	Zgodność procentowa wyników ujemnych ^a	95% CI ^b
Ujemny	216	1	215	99,54	(97,45, 99,99)

^a Zgodność procentowa wyników ujemnych = (liczba wyników ujemnych ÷ łączna liczba ważnych testów w ujemnym elemencie panelu) × 100.

^b Obliczono dokładną metodą dwumianową przedziału ufności Cloppera-Pearsona.

CI = przedział ufności; HCV = wirus zapalenia wątroby typu C; RNA = kwas rybonukleinowy.

Odtwarzalność

Badanie odtwarzalności przeprowadzono w trzech ośrodkach dla genotypów od 1 do 3 z użyciem jednej serii odczynnika. W każdym ośrodku dwóch użytkowników prowadziło testy przez 6 dni. Każdego dnia wykonywano dwa przebiegi.

Tabela 29 poniżej prezentuje możliwe do przypisania udziały procentowe zmienności całkowitej, odchylenia standardowe (OS) precyzji całkowitej i logarytmiczno-normalne współczynniki zmienności (CV) dla poszczególnych genotypów i oczekiwanego log₁₀ stężenia RNA HCV w systemie **cobas**® 6800.

Tabela 29 Możliwy do przypisania udział procentowy zmienności całkowitej, odchylenia standardowego precyzji całkowitej i CV (%) rozkładu logarytmiczno-normalnego stężenia RNA HCV (\log_{10} IU/ml) wg. genotypu i dodatknych elementów panelu w systemie cobas® 6800 (odtworzalność)

Genotyp	Stężenie RNA wirusa HCV			Liczba testów ^b	Procentowy udział w zmienności całkowitej (logarytmiczno-normalny CV (%))					Precyzja całkowita	
	Oczekiwana wart. IU/ml	Oczekiwana wart. \log_{10} IU/ml	Średnia ^a \log_{10} IU/ml		Ośrodek	Operator	Dzień	Przebieg	W obrębie przebiegu	OS ^c	Logarytmiczno-normalny CV (%) ^d
1	30	1,477	1,373	68	1% (6,43)	0% (0,00)	0% (0,00)	20% (25,63)	78% (52,96)	0,2437	60,84
	100	2,000	1,866	72	4% (7,25)	0% (0,00)	0% (0,00)	17% (15,81)	79% (34,64)	0,1644	39,24
	5 000	3,699	3,466	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	83% (29,77)	17% (13,35)	0,1391	32,87
	50 000	4,699	4,444	72	7% (10,74)	0% (0,00)	0% (0,00)	83% (37,40)	9% (12,16)	0,1721	41,24
	500 000	5,699	5,579	72	4% (6,84)	0% (0,00)	0% (0,00)	74% (30,53)	22% (16,27)	0,1504	35,70
	5 000 000	6,699	6,439	72	52% (16,35)	9% (6,91)	0% (0,00)	9% (6,74)	30% (12,36)	0,0979	22,84
	50 000 000	7,699	7,091	72	76% (45,80)	0% (0,00)	0% (0,00)	7% (12,87)	17% (20,92)	0,2170	53,25
2	30	1,477	1,631	72	10% (11,41)	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	90% (35,77)	0,1586	37,77
	100	2,000	2,096	72	2% (3,71)	0% (0,00)	0% (0,00)	35% (14,49)	63% (19,44)	0,1057	24,70
	5 000	3,699	3,699	72	4% (3,47)	0% (0,00)	0% (0,00)	49% (11,99)	47% (11,76)	0,0742	17,22
	50 000	4,699	4,745	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	59% (17,39)	41% (14,45)	0,0975	22,75
	500 000	5,699	5,824	72	19% (7,91)	0% (0,00)	0% (0,00)	24% (8,99)	57% (13,89)	0,0794	18,43
	5 000 000	6,699	6,177	72	51% (20,74)	0% (1,59)	0% (0,00)	9% (8,47)	40% (18,27)	0,1246	29,30
	50 000 000	7,699	7,069	72	17% (13,08)	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	83% (29,26)	0,1367	32,28
3	30	1,477	1,457	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	34% (24,33)	66% (34,06)	0,1776	42,67
	100	2,000	1,911	72	16% (13,76)	0% (0,00)	0% (0,00)	27% (18,01)	58% (26,79)	0,1504	35,70
	5 000	3,699	3,628	72	10% (6,12)	0% (0,00)	0% (0,00)	18% (8,09)	71% (16,06)	0,0821	19,07
	50 000	4,699	4,587	72	2% (2,23)	0% (0,00)	0% (0,00)	55% (13,21)	44% (11,85)	0,0774	17,96
	500 000	5,699	5,524	72	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	44% (12,53)	56% (14,30)	0,0822	19,10
	5 000 000	6,699	6,442	71	22% (11,89)	0% (0,00)	0% (0,00)	0% (0,00)	78% (22,66)	0,1100	25,73
	50 000 000	7,699	7,109	71	10% (13,36)	0% (0,00)	21% (19,65)	0% (0,00)	69% (35,94)	0,1827	44,01

Uwaga: Tabela obejmuje wyłącznie wyniki z wykrytą wiremią.

^a Obliczono z użyciem procedury SAS MIXED.

^b Liczba ważnych testów z wykrywalną wiremią.

^c Obliczono z użyciem całkowitej zmienności procedury SAS MIXED.

^d $\text{Logarytmiczno-normalny CV (\%)} = \sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

CV (%) = procentowy współczynnik zmienności; HCV = wirus zapalenia wątroby typu C; RNA = kwas rybonukleinowy; SD = odchylenie standardowe; sqrt = pierwiastek kwadratowy.

Wartość NPA wyniosła 100% z użyciem testów ujemnych elementów panelu w systemie cobas® 6800, jak przedstawia Tabela 30 poniżej.

Tabela 30 Zgodność procentowa wyników ujemnych z użyciem ujemnych elementów panelu (odtworzalność) w systemie cobas® 6800

Oczekiwane stężenie RNA HCV	Liczba testów	Wyniki dodatnie	Wyniki ujemne	Zgodność procentowa wyników ujemnych ^a	95% CI ^b
Ujemny	108	0	108	100,00	(96,64, 100,00)

^a Zgodność procentowa wyników ujemnych = (liczba wyników ujemnych ÷ łączna liczba ważnych testów w ujemnym elemencie panelu) × 100.

^b Obliczono dokładną metodą dwumianową przedziału ufności Cloppera-Pearsona.

CI = przedział ufności; HCV = wirus zapalenia wątroby typu C; RNA = kwas rybonukleinowy.

Porównanie między systemami cobas® 6800 i cobas® 8800 – zmienność między seriami i odtwarzalność

Identyczny zestaw próbek przetestowano pod kątem zmienności między seriami i odtwarzalności testu cobas® HCV w systemie cobas® 8800. Skuteczność obu systemów jest porównywalna. Tabela 31 przedstawia dane precyzji osiągniętej w części badania dotyczącej odtwarzalności dla systemów cobas® 6800 i cobas® 8800 w zakresie liniowości testu cobas® HCV.

Tabela 31 Porównanie precyzji odchylenia standardowego stężenia RNA HCV (log₁₀ IU/ml) dla genotypów 1–3 w systemach cobas® 6800 i cobas® 8800 (odtworzalność)

Poziom stężenia (IU/ml)	Odchylenie standardowe precyzji ^a (liczba testów ^b)					
	cobas® 6800 System			cobas® 8800 System		
	Genotyp 1	Genotyp 2	Genotyp 3	Genotyp 1	Genotyp 2	Genotyp 3
1,0E+01 ≤ X < 1,0E+02	0,24 (68) 0,16 (72)	0,16 (72)	0,18 (72) 0,15 (72)	0,23 (47) 0,15 (47)	0,14 (48)	0,17 (47) 0,17 (48)
1,0E+02 ≤ X < 1,0E+03	-	0,11 (72)	-	-	0,12 (48)	-
1,0E+03 ≤ X < 1,0E+04	0,14 (72)	0,07 (72)	0,08 (72)	0,13 (48)	0,07 (48)	0,08 (48)
1,0E+04 ≤ X < 1,0E+05	0,17 (72)	0,10 (72)	0,08 (72)	0,11 (48)	0,06 (48)	0,08 (48)
1,0E+05 ≤ X < 1,0E+06	0,15 (72)	0,08 (72)	0,08 (72)	0,11 (48)	0,07 (47)	0,10 (48)
1,0E+06 ≤ X < 1,0E+07	0,10 (72)	0,12 (72)	0,11 (71)	0,09 (48)	0,13 (48)	0,11 (48)
1,0E+07 ≤ X < 1,0E+08	0,22 (72)	0,14 (72)	0,18 (71)	0,16 (48)	0,10 (48)	0,19 (48)

Uwaga: grupowanie obserwowanych precyzji do poziomów stężeń opiera się na medianie wyników testu na nieprzekształconej skali (IU/ml).

Tabela obejmuje wyłącznie wyniki z wykrytą wiremią. OS = odchylenie standardowe.

„-” wskazuje brak właściwych wyników dla tego poziomu.

^a Odchylenie standardowe precyzji całkowitej w jednostkach log₁₀.

^b Liczba ważnych testów z wykrywalną wiremią.

Przydatność kliniczna

Badanie zaprojektowano w celu oceny zdolności oznaczenia do przewidywania wyniku klinicznego.

Plan leczenia 1 obejmował cztery schematy leczenia zawierające skojarzenie związków DAA z pegIFN/RBV lub bez. Uczestnicy byli zakażeni genotypem 1 HCV i wykazywali częściową odpowiedź lub brak odpowiedzi podczas wcześniejszego cyklu leczenia skojarzeniem pegIFN/RBV.

Plan leczenia 2 obejmował uczestników zakażonych genotypem 2 lub 3, którzy nie byli wcześniej poddawani leczeniu i otrzymywali terapię skojarzenia pegIFN/RBV.

Badania testem cobas® HCV wykonano w czterech ośrodkach. Trzy ośrodki dysponowały po jednym systemie cobas® 6800. Dwa ośrodki dysponowały systemem cobas® 8800. W jednym ośrodku testy wykonywano w obu systemach, cobas® 6800 i 8800. W badaniu użyto trzech serii odczynników, a każda próbka była testowana jedną serią odczynnika.

Tabela 32 poniżej przedstawia dane demograficzne i charakterystykę wyjściową uczestników, których próbki badano w systemie cobas® 6800 oraz cobas® 8800. Większość uczestników stanowili mężczyźni w wieku ponad 40 lat, zakażeni genotypem 1 HCV. Włączono uczestników z genotypem 1, 2 i 3 HCV. Zakażenia genotypem 4, 5 i 6 HCV są w USA rzadkie.

Tabela 32 Dane demograficzne i charakterystyka wyjściowa uczestników badanych w systemach cobas® 6800 i cobas® 8800

Charakterystyka	cobas® 6800 System		cobas® 8800 System	
	Statystyki	Uczestnicy	Statystyki	Uczestnicy
Ogółem	N	401	N	353
Plan leczenia				
1	n (%)	307 (76,6%)	n (%)	287 (81,3%)
2	n (%)	94 (23,4%)	n (%)	66 (18,7%)
Kategoria wiekowa (lata)				
< 40	n (%)	90 (22,4%)	n (%)	81 (22,9%)
≥ 40	n (%)	311 (77,6%)	n (%)	272 (77,1%)
Wiek (lata)				
	Średnia ± OS	49 ± 11,1	Średnia ± OS	49 ± 11,2
	Mediana	52	Mediana	52
	Zakres	20–76	Zakres	20–71
Płeć				
Mężczyzna	n (%)	276 (68,8%)	n (%)	245 (69,4%)
Kobieta	n (%)	125 (31,2%)	n (%)	108 (30,6%)
Rasa / pochodzenie etniczne				
Azjatycka	n (%)	3 (0,7%)	n (%)	2 (0,6%)
Afroamerykańska	n (%)	13 (3,2%)	n (%)	12 (3,4%)
Rasa biała/kaukaskie	n (%)	357 (89,0%)	n (%)	318 (90,1%)
Inne	n (%)	28 (7,0%)	n (%)	21 (5,9%)
Genotyp				
1A	n (%)	174 (43,4%)	n (%)	159 (45,0%)
1B	n (%)	133 (33,2%)	n (%)	128 (36,3%)
Łącznie 1	n (%)	307 (76,6%)	n (%)	287 (81,3%)
2	n (%)	31 (7,7%)	n (%)	22 (6,2%)
3	n (%)	63 (15,7%)	n (%)	44 (12,5%)
Łącznie inne niż 1	n (%)	94 (23,4%)	n (%)	66 (18,7%)
Wyjściowe RNA HCV (log₁₀ IU/ml)				
	Średnia ± OS	6,32 ± 0,58	Średnia ± OS	6,33 ± 0,56
	Mediana	6,41	Mediana	6,41
	Zakres	2,57–7,52	Zakres	2,77–7,52
Kategoria RNA HCV w punkcie wyjściowym				
< 400 000 IU/ml	n (%)	36 (9,0%)	n (%)	32 (9,1%)
≥ 400 000 IU/ml	n (%)	363 (90,5%)	n (%)	304 (86,1%)
Brak	n (%)	2 (0,5%)	n (%)	17 (4,8%)

HCV = wirus zapalenia wątroby typu C; RNA = kwas rybonukleinowy; OS = odchylenie standardowe.

Przewidywanie odpowiedzi na leczenie antywirusowe

Charakterystyka wiarygodności testu została określona dla osób leczonych pewnymi schematami DAA. Brak dostępnych informacji dotyczących wartości predykcyjnej oznaczenia przy zastosowaniu innych terapii skojarzonych DAA.

Definicje:

- Miano wirusa w 2. tygodniu (VL) = RNA HCV < LLoQ = LoD = 15 IU/ml w 2. tygodniu leczenia przeciwwirusowego
- VL w 2. tygodniu: HCV RNA < LoD = LLoQ 15 IU/ml
- VL w 4. tygodniu: RNA HCV < LLoQ w 4. tygodniu leczenia przeciwwirusowego
- VL w 8. tygodniu: RNA HCV < LLoQ w 8. tygodniu leczenia przeciwwirusowego
- VL w 12. tygodniu: spadek poziomu RNA HCV o przynajmniej 2 log₁₀ względem wartości wyjściowej lub RNA HCV < LLoQ w 12. tygodniu leczenia przeciwwirusowego
- VL w 24. tygodniu (zakończenie leczenia [EOT]): RNA HCV < LLoQ w 24. tygodniu leczenia przeciwwirusowego.
- Trwała odpowiedź wirusologiczna (SVR)12: RNA HCV < LLoQ w 12. tygodniu po zakończeniu leczenia przeciwwirusowego zmierzone niezależnym testem RNA HCV.

Wartość predykcyjna odpowiedzi wirusologicznej dla powodzenia leczenia przeciwwirusowego

W badaniu tym dodatnia wartość predykcyjna (PPV) VL w 4. tygodniu do przewidywania SVR12 wyniosła 78,1% (95% CI: od 72,7 do 82,8%) dla uczestników z genotypem 1 oraz 84,7% (95% CI: od 73,5 do 91,8%) dla uczestników z genotypami innymi niż 1 (Tabela 33). W związku z tym wartość VL w 4. tygodniu zmierzona testem **cobas**® HCV była przydatnym czynnikiem predykcyjnym SVR12.

W przypadku planu leczenia 1, będącego przykładem schematu obejmującego DAA, VL w 12. tygodniu lub VL w 24. tygodniu w teście **cobas**® HCV przewiduje SVR12 u uczestników z genotypem 1, z wartościami PPV odpowiednio 77,0% i 78,6%. Brak VL w 12. tygodniu lub VL w 24. tygodniu przewiduje brak odpowiedzi z ujemną wartością predykcyjną (NPV) wynoszącą odpowiednio 87,5% i 100% (Tabela 33). Dodatkowa analiza VL w 2. tygodniu pod kątem przewidywania SVR12 wykazała wartość PPV 79,4%, jednak przy niskiej wartości NPV wynoszącej 29,9%.

W planie leczenia 2 wartość VL w 12. tygodniu z użyciem testu **cobas**® HCV dla genotypów 2 i 3 była predykcyjna dla SVR12 z PPV wynoszącą 75,3%. Ze względu na rzadkość braku odpowiedzi brak VL w 12. tygodniu nie stanowi przydatnej miary wyniku w tej populacji. Wartość NPV wyniosła 50%, a liczba pacjentów z brakiem odpowiedzi w tym badaniu była mała (Tabela 33).

Ogólnie badanie to wykazało przydatność kliniczną testu **cobas**® HCV i utrzymującą się wartość oceny odpowiedzi RNA HCV w 4, 12 i 24 tygodniu u pacjentów poddawanych leczeniu pod kątem przewlekłego zakażenia HCV.

Tabela 33 Prawdopodobieństwo osiągnięcia trwałej odpowiedzi wirusologicznej (SVR12) przy odpowiedzi wirusologicznej (< 15 IU/ml) podczas określonej wizyty w ramach leczenia dla systemu cobas® 6800

Plan leczenia	Genotyp	Wizyta w ramach leczenia	Kwalifikujący się uczestnicy	PPV (%)		NPV (%)		LUB
				Wartość szacunkowa (95% CI)	n/N	Wartość szacunkowa (95% CI)	n/N	Wartość szacunkowa (95% CI)
1	1	Tydzień 2	290	79,4 (71,5, 85,5)	100/126	29,9 (23,4, 37,3)	49/164	1,64 (0,95, 2,83)
		Tydzień 4	290	78,1 (72,7, 82,8)	200/256	50,0 (34,1, 65,9)	17/34	3,57 (1,71, 7,45)
		Tydzień 8	285	76,8 (71,5, 81,4)	212/276	66,7 (35,4, 87,9)	6/9	6,63 (1,61, 27,24)
		Tydzień 12	286	77,0 (71,7, 81,5)	214/278	87,5 (52,9, 97,8)	7/8	23,41 (2,83, 193,80)
		Tydzień 24	282	78,6 (73,4, 83,0)	217/276	100,0 (61,0, 100,0)	6/6	47,52 (2,64, 855,66)
2	Inny niż 1	Tydzień 4	82	84,7 (73,5, 91,8)	50/59	47,8 (29,2, 67,0)	11/23	5,09 (1,72, 15,04)
		Tydzień 12	83	75,3 (64,9, 83,4)	61/81	50,0 (9,5, 90,5)	1/2	3,05 (0,18, 51,04)

Uwagi: dodatnia wartość predykcjna (PPV) = $TP \div (TP + FP)$ lub prawdopodobieństwo statusu SVR12, jeśli uczestnik wykazał odpowiedź wirusologiczną przy określonej wizycie. SVR12 osiąga się, jeśli u uczestnika stwierdzono RNA HCV < 15 IU/ml po 12 tygodniach od ostatniej dawki.

Ujemna wartość predykcjna (NPV) = $TN \div (FN + TN)$ lub prawdopodobieństwo braku statusu SVR12, jeśli uczestnik nie wykazał odpowiedzi wirusologicznej przy określonej wizycie.

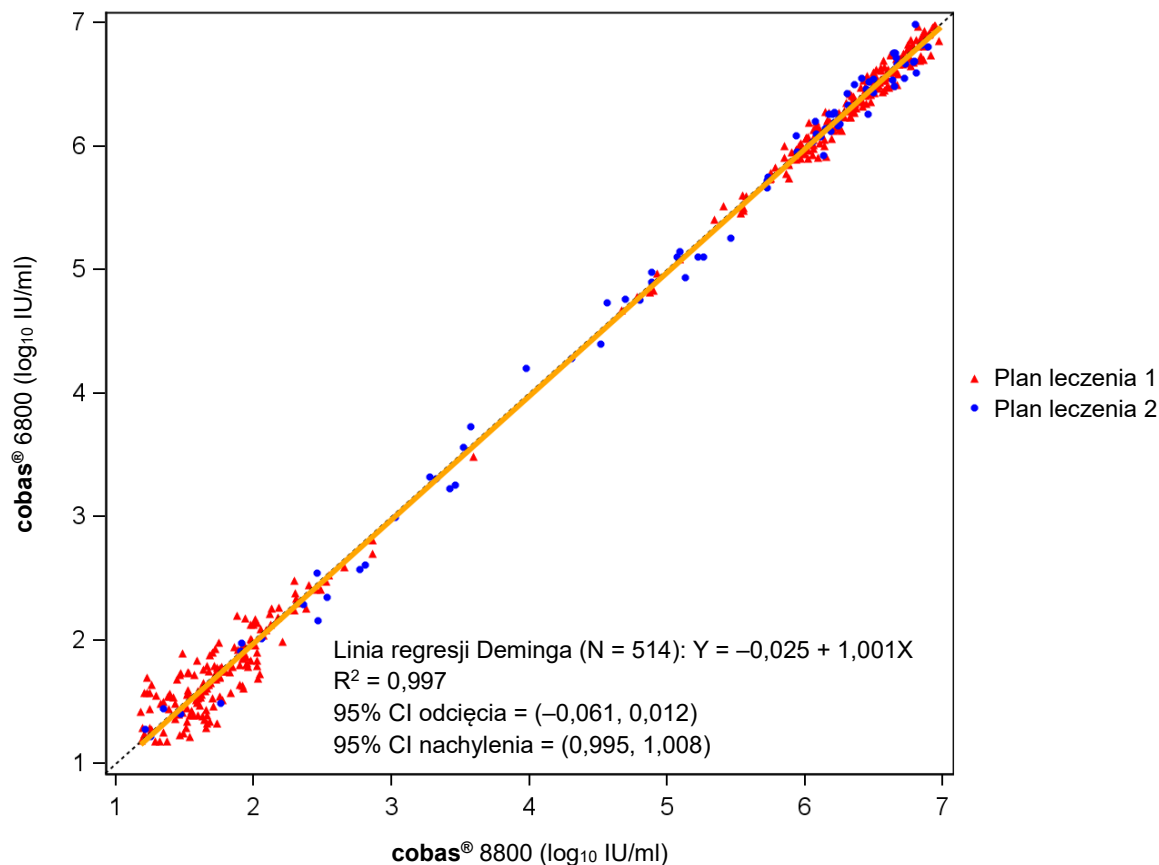
Iloraz szans (OR) = $(TP \times TN) \div (FP \times FN)$.

CI = przedział ufności; FN = wynik fałszywie ujemny; FP = wynik fałszywie dodatni; HCV = wirus zapalenia wątroby typu C; SVR12 = trwała odpowiedź wirusologiczna 12 tygodni po ostatniej dawce; TN = wynik prawdziwie ujemny; TP = wynik prawdziwie dodatni.

Porównanie między systemami cobas® 6800 i cobas® 8800 – przydatność kliniczna

Identyczny zestaw próbek przetestowano pod kątem przydatności klinicznej testu cobas® HCV w systemie cobas® 8800. Systemy wykazały wysoce skorelowaną skuteczność, która nie była istotnie różna. Rys. 10 poniżej prezentuje wykres regresji Deminga dla VS (\log_{10} IU/ml) większej niż 15 IU/ml dla wszystkich właściwych punktów czasowych w trakcie leczenia.

Rys. 10 Wykres regresji liniowej Deminga miana wirusa (\log_{10} IU/ml) dla punktu wyjściowego, tygodnia 2 i tygodnia 4 (system cobas® 6800 względem systemu cobas® 8800)



CI = przedział ufności.

Przydatność diagnostyczna

Badanie zaprojektowano w celu oceny zdolności oznaczenia do prawidłowego diagnozowania uczestników dodatnich dla przeciwciał anty-HCV z aktywnym zakażeniem HCV.

Tabela 34 poniżej przedstawia dane demograficzne i charakterystykę kliniczną uczestników, których próbki badano w systemie cobas® 6800 oraz systemie cobas® 8800.

Tabela 34 Charakterystyka demograficzna i kliniczna według systemu (uczestnicy dodatni względem przeciwciał dla HCV)

Charakterystyka	cobas® 6800 System	cobas® 8800 System
Całkowita liczba, N	235	230
Stan kliniczny		
Dodatni dla przeciwciał dla HCV^a, n (%)		
Próbki dodatnie dla HCV RNA	154 (65,5%)	150 (65,2%)
Ujemny dla RNA HCV	81 (34,5%)	80 (34,8%)
Wiek (lata)		
Średnia ± OS	48 ± 11,9	49 ± 11,9
Mediana	50	50
Zakres	20–88	20–88
Płeć, n (%)		
Mężczyzna	132 (56,2%)	127 (55,2%)
Kobieta	103 (43,8%)	103 (44,8%)
Rasa, n (%)		
Rasa czarna/afroamerykańskie	49 (20,9%)	48 (20,9%)
Rasa biała/kaukaskie	183 (77,9%)	179 (77,8%)
Inne	3 (1,3%)	3 (1,3%)
Czynnik ryzyka, n (%)		
Tylko pokolenie „Baby Boomers” (urodzeni: 1945–1965)	114 (48,5%)	112 (48,7%)
Tylko użytkownicy IVD	22 (9,4%)	22 (9,6%)
„Baby Boomers” oraz użytkownicy IVD	23 (9,8%)	22 (9,6%)
Nieujawnione, dodatni dla przeciwciał dla HCV*	76 (32,3%)	74 (32,2%)

^a Do określenia statusu RNA HCV użyto wyniku testu VERSANT HCV. W przypadku uczestników, dla których nie był dostępny wynik testu VERSANT HCV, użyto wyniku testu APTIMA HCV. Jeśli nie były dostępne wyniki testów Versant ani Aptima, użyto wyniku testu COBAS® AMPLICOR® HCV Test, v2.0.

* Nieujawnione obejmuje uczestników, dla których brakuje obu czynników ryzyka lub mają wartość „Nie” lub takich, dla których brakuje jednego czynnika ryzyka, a drugi ma wartość „Nie”.

APTIMA = oznaczenie jakościowe Aptima HCV RNA; HCV = wirus zapalenia wątroby typu C; IVD = leczenie dożylnie.

OS = odchylenie standardowe; VERSANT = oznaczenie jakościowe VERSANT HCV RNA.

Czułość testu **cobas**® HCV oceniono u uczestników, którzy mieli wcześniejszy kontakt z HCV i uzyskali wynik dodatni dla przeciwciała dla HCV w obu systemach **cobas**® 6800/8800 (Tabela 35). Zgodność wyniku testu **cobas**® HCV ze statusem zakażenia pacjenta określono z użyciem wartości odcięcia < 25 IU/ml do zdefiniowania braku aktywnego zakażenia HCV (Tabela 35).

Tabela 35 Zgodność wyniku testu **cobas**® HCV w systemach **cobas**® 6800 i **cobas**® 8800 ze statusem zakażenia pacjenta z użyciem wartości odcięcia 25 IU/mL

cobas® HCV	Status zakażenia pacjenta (PIS)					
	cobas® 6800 System			cobas® 8800 System		
	HCV dodatnie	HCV ujemnie	Ogółem	HCV dodatnie	HCV ujemnie	Ogółem
Wykryto RNA HCV powyżej 25 IU/ml	152	0	152	149	1	150
Nie wykryto RNA HCV lub wykryto poniżej 25 IU/ml	0	81	81	0	79	79
Ogółem	152	81	233	149	80	229
Zgodność procentowa wyników dodatnich (punktacja 95% CI)	100,0% (97,5, 100,0)	Nie dotyczy	Nie dotyczy	100,0% (97,5, 100,0)	Nie dotyczy	Nie dotyczy
Zgodność procentowa wyników ujemnych (punktacja 95% CI)	Nie dotyczy	100,0% (95,5, 100,0)	Nie dotyczy	Nie dotyczy	98,8% (93,3, 99,8)	Nie dotyczy

Uwaga: w tabeli uwzględniono tylko ważne wyniki testu **cobas**® HCV dla próbek dodatnich dla przeciwciała dla HCV.

CI = przedział ufności; **cobas**® HCV = **cobas**® HCV do stosowania w systemach **cobas**® 6800/8800; HCV = wirus zapalenia wątroby typu C.

Badanie wykazało przydatność kliniczną testu **cobas**® HCV do prawidłowego rozpoznania uczestników z trwającym aktywnym zakażeniem RNA HCV oraz odróżnienia ich od uczestników z nieaktywnym zakażeniem w populacji z wcześniejszym kontaktem z HCV (obecność przeciwciał anti-HCV).

Reaktywność krzyżowa u uczestników z chorobą wątroby niezwiązaną z HCV

Reaktywność krzyżową testu **cobas**® HCV oceniono z próbkami reprezentującymi różnorodne choroby wątroby, dla których zakażenie HCV nie stanowiło przyczyny zasadniczej. Test **cobas**® HCV wykazał zdolność do stwierdzenia braku aktywnego zakażenia HCV u uczestników z różnorodnymi chorobami wątroby wywołanymi przez czynniki inne, niż HCV (Tabela 36, Tabela 37, Tabela 38).

Tabela 36 Charakterystyka demograficzna i kliniczna według systemu

Charakterystyka	cobas® 6800 System	cobas® 8800 System
Całkowita liczba, N	247	181
Stan kliniczny		
Ujemny dla RNA HCV, n (%)		
Alkoholowa choroba wątroby	33 (13,4%)	20 (11,0%)
Autoimmunologiczne zapalenie wątroby	37 (15,0%)	32 (17,7%)
Przewlekłe zakażenie HBV	30 (12,1%)	30 (16,6%)
Stłuszczenie wątroby	66 (26,7%)	38 (21,0%)
Niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby (NASH)	41 (16,6%)	30 (16,6%)
Nieswoista marskość wątroby	6 (2,4%)	3 (1,7%)
Marskość wątroby żółciowa pierwotna	33 (13,4%)	28 (15,5%)
Nieznany ^a	1 (0,4%)	
Wiek (lata)		
Średnia ± OS	54 ± 13,1	54 ± 13,5
Mediana	56	56
Zakres	20–81	20–81
Płeć, n (%)		
Mężczyzna	71 (28,7%)	44 (24,3%)
Kobieta	104 (42,1%)	74 (40,9%)
Nieznany	72 (29,1%)	63 (34,8%)
Rasa, n (%)		
Azjatycka	11 (4,5%)	1 (0,6%)
Rasa czarna/afroamerykańskie	13 (5,3%)	11 (6,1%)
Rasa biała/kaukaskie	70 (28,3%)	48 (26,5%)
Inne	7 (2,8%)	1 (0,6%)
Nieznany	146 (59,1%)	120 (66,3%)
Pokolenie „Baby Boomers” (urodzeni: 1945–1965), n (%)		
Tak	80 (32,4%)	63 (34,8%)
Nie	64 (25,9%)	53 (29,3%)
Nieujawnione	103 (41,7%)	65 (35,9%)

Tabela 37 Liczba próbek ujemnych dla RNA HCV w systemie cobas® 6800 z chorobami wątroby niezwiązanymi z HCV w granicach kategorii wyniku testu według stanu klinicznego

Stan kliniczny	Liczba ważnych testów					Ogółem	Swoistość ^a % (95% CI) ^b
	Target Not Detected	< 1,50E+01 IU/ml	1,50E+01 ≤ x < 2,50E+01 IU/ml	2,50E+01 ≤ x ≤ 1,00E+08 IU/ml	> 1,00E+08 IU/ml		
Alkoholowa choroba wątroby	33	0	0	0	0	33	100,0 (89,4, 100,0)
Autoimmunologiczne zapalenie wątroby	37	0	0	0	0	37	100,0 (90,5, 100,0)
Przewlekłe zakażenie HBV	30	0	0	0	0	30	100,0 (88,4, 100,0)
Stłuszczenie wątroby	66	0	0	0	0	66	100,0 (94,6, 100,0)
NASH	40	1*	0	0	0	41	97,6 (87,1, 99,9)
Nieswoista marskość wątroby	6	0	0	0	0	6	100,0 (54,1, 100,0)
Marskość wątroby żółciowa pierwotna	33	0	0	0	0	33	100,0 (89,4, 100,0)
Ogółem	245	1*	0	0	0	246	99,6 (97,8, 100,0)

Uwaga: w tabeli uwzględniono tylko ważne wyniki testu cobas® HCV dla próbek ujemnych względem przeciwciała dla HCV (choroba wątroby niezwiązana z HCV). Wykluczono jednego uczestnika z chorobą stłuszczeniową wątroby.

^a Swoistość kliniczna: odsetek liczby wyników ujemnych dla RNA z łącznej liczby próbek ujemnych względem przeciwciała dla HCV wśród ważnych wyników testu.

^b 95% CI: 95% dokładny przedział ufności.

* Dla próbki zgłoszono < LLOQ, RNA HCV wykryto na poziomie ~1,5 IU/ml.

CI = przedział ufności; HBV = wirus zapalenia wątroby typu B; HCV = wirus zapalenia wątroby typu C; NASH = niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby.

Tabela 38 Liczba próbek ujemnych dla RNA HCV w systemie **cobas**® 8800 z chorobami wątroby niezwiązanymi z HCV w granicach kategorii wyniku testu według stanu klinicznego

Stan kliniczny	Liczba ważnych testów					Ogółem	Swoistość ^a % (95% CI) ^b
	Target Not Detected	< 1,50E+01 IU/ml	1,50E+01 ≤ x < 2,50E+01 IU/ml	2,50E+01 ≤ x ≤ 1,00E+08 IU/ml	> 1,00E+08 IU/ml		
Alkoholowa choroba wątroby	20	0	0	0	0	20	100,0 (83,2, 100,0)
Autoimmunologiczne zapalenie wątroby	32	0	0	0	0	32	100,0 (89,1, 100,0)
Przewlekłe zakażenie HBV	30	0	0	0	0	30	100,0 (88,4, 100,0)
Stłuszczenie wątroby	38	0	0	0	0	38	100,0 (90,7, 100,0)
NASH	30	0	0	0	0	30	100,0 (88,4, 100,0)
Nieswoista marskość wątroby	3	0	0	0	0	3	100,0 (29,2, 100,0)
Marskość wątroby żółciowa pierwotna	28	0	0	0	0	28	100,0 (87,7, 100,0)
Ogółem	181	0	0	0	0	181	100,0 (98,0, 100,0)

Uwaga: w tabeli uwzględniono tylko ważne wyniki testu **cobas**® HCV dla próbek ujemnych względem przeciwciała dla HCV (choroba wątroby niezwiązana z HCV).

^a Swoistość kliniczna: odsetek liczby wyników ujemnych dla RNA z łącznej liczby próbek ujemnych względem przeciwciała dla HCV wśród ważnych wyników testu.

^b 95% CI: 95% dokładny przedział ufności.

CI = przedział ufności; HBV = wirus zapalenia wątroby typu B; HCV = wirus zapalenia wątroby typu C; NASH = niealkoholowe stłuszczeniowe zapalenie wątroby.

Porównanie między systemami **cobas**® 6800 i **cobas**® 8800 pod kątem rozpoznania

Podzbiór próbek przetestowano pod kątem potwierdzenia aktywnego zakażenia HCV za pomocą testu **cobas**® HCV w systemie **cobas**® 8800. Swoistość testu **cobas**® HCV w różnych chorobach wątroby, dla których zakażenie HCV nie stanowiło przyczyny zasadniczej, także wyniosła 100%. Zgodność wyniku testu **cobas**® HCV w systemie **cobas**® 8800 ze statusem zakażenia pacjenta z użyciem wartości odcięcia < 25 IU/ml do zdefiniowania braku aktywnego zakażenia HCV wyniosła 99,6%. Wyniki te wskazują, że systemy **cobas**® 6800 i **cobas**® 8800 są porównywalne w zakresie diagnostyki aktywnego zakażenia HCV z użyciem testu **cobas**® HCV.

Wnioski

Test **cobas**® HCV może oznaczyć ilościowo poziom RNA HCV w celu oceny leczenia i przewidywania odpowiedzi na leczenie antywirusowe. Wyniki tego badania wykazały przydatność kliniczną tego testu do określania na wczesnym etapie terapii odpowiedzi na leczenie w postępowaniu z pacjentami z przewlekłym zakażeniem HCV.

Ponadto test **cobas**® HCV może być stosowany jako test pomocniczy w diagnostyce aktywnych zakażeń HCV u pacjentów dodatnich dla przeciwciał przeciwko HCV.

Równoważność/porównanie systemu

Równoważność systemów **cobas**® 5800, **cobas**® 6800 i **cobas**® 8800 wykazano przez badanie skuteczności. Wyniki przedstawione w instrukcji użytkownika potwierdzają równoważne działanie wszystkich systemów.

Dodatkowe informacje












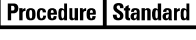








































Najważniejsze cechy testu

Rodzaj próbki	Próbki osocza i surowicy krwi pobranej na EDTA
Wymagana ilość próbki	650 µl lub 350 µl
Objętość przetwarzania	500 µl lub 200 µl
Czułość analityczna	15 IU/ml (500 µl) 40 IU/ml (200 µl)
Zakres liniowości	500 µl: 15 IU/ml – 1,0E+08 IU/ml 200 µl: 40 IU/ml – 1,0E+08 IU/ml
Swoistość	100% (jednostronny 95% przedział ufności: 99,5%)
Wykrywane genotypy	Genotypy 1–6 HCV

Oznaczenia

Na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR stosuje się następujące oznaczenia.

Tabela 39 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.
 SW Oprogramowanie pomocnicze	 Wyrób nieprzeznaczony do samodzielnego testowania	 SN Numer serjyny
 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 Arkusz kodów kreskowych	 Wyłącznie do oceny działania w badaniach IVD	 Przechowywać z dala od światła
 LOT Kod partii	 GTIN Numer globalny jednostki handlowej	 Przestrzegać zakresu temperatury
 Zagrożenie biologiczne	 Importer	 TDF 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 ultraczula
 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	 NON STERILE Wyrób niejadalny	 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 i importer

Tabela 40 Wytwórca i importer



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

Made in USA



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 68305 Mannheim, Germany

Znaki towarowe i patenty

Ten wyrób chroniony jest przynajmniej jednym patentem USA, numery 8962293, 9102924, 8609340, 9234250, 8097717, 8192958, 10059993, 10358675, 8129118, 9963737, 9512494, 10041134 i 6727067, oraz zagranicznymi odpowiednikami tych patentów.

COBAS, COBAS OMNI i AMPERASE są znakami towarowymi firmy Roche.

Znak towarowy „Armored RNA[®]” stanowi własność Asuragen, Inc. oraz Cenetron Diagnostics, Ltd.

ProClin[®] jest zarejestrowanym znakiem towarowym firmy Rohm and Haas Company.

Vacutainer[®] jest zarejestrowanym znakiem towarowym firmy Becton Dickinson & Company.

Inne nazwy produktów i znaki towarowe są własnością odpowiednich podmiotów.

Technologia zapobiegania zanieczyszczeniu preparatu enzymu AmpErase[®] resztkami jest chroniona patentem USA nr 7,687,247 stanowiącym własność firmy Life Technologies; udostępniono ją na zasadzie licencji firmie Roche Molecular Systems, Inc.

Pewne składniki tego produktu są chronione przez co najmniej jeden patent zarejestrowany w USA i ich państwowe odpowiedniki zawierające licencję firmy Roche Molecular Systems, Inc. oraz firmy F. Hoffman-La Roche Ltd. i przekazane firmie Novartis Vaccines and Diagnostics, Inc.

Patrz <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

Prawo autorskie

©2021 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Str. 116
 68305 Mannheim
 Germany



Piśmiennictwo

1. Farci P, 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;244:359-362]. *J Hepatol.* 2002;36:582-5. PMID: 11983439.
2. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med.* 2006;144:705-14. PMID: 16702586.
3. Rustgi VK. The epidemiology of hepatitis C infection in the United States. *J Gastroenterol.* 2007;42:513-21. PMID: 17653645.
4. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2001;345:41-52. PMID: 11439948.
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;339:1485-92. PMID: 9819446.
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;339:1493-9. PMID: 9819447.
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;358:958-65. PMID: 11583749.
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347:975-82. PMID: 12324553.
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;140:346-55. PMID: 14996676.
10. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology.* 2009;49:1335-74. PMID: 19330875.
11. Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. 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;54:1433-44. PMID: 21898493.
12. Poordad F, McCone J, Jr., Bacon BR, et al. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med.* 2011;364:1195-206. PMID: 21449783.
13. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2011;364:2405-16. PMID: 21696307.
14. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med.* 2011;364:1207-17. PMID: 21449784.
15. Zeuzem S, Andreone P, Pol S, et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med.* 2011;364:2417-28. PMID: 21696308.
16. Lawitz E, Mangia A, Wyles D, et al. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *N Engl J Med.* 2013;368:1878-87. PMID: 23607594.

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;368:1867-77. PMID: 23607593.
18. Liang TJ, Ghany MG. Current and future therapies for hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2013;368:1907-17. PMID: 23675659.
19. Rutter K, Hofer H, Beinhardt S, et al. Durability of SVR in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon- α 2a/ribavirin in combination with a direct-acting anti-viral. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013;38:118-23. PMID: 23710895.
20. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene.* 1990;93:125-8. PMID: 2227421.
21. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature.* 1995;373:487-93. PMID: 7845459.
22. 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;80:869-78. PMID: 7697717.
23. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y).* 1992;10:413-7. PMID: 1368485.
24. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996;6:986-94. PMID: 8908518.
25. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. <https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetyMicrobiologicalBiomedicalLaboratories-2009-P.PDF>. Accessed December 2, 2020.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. https://clsi.org/media/1459/m29a4_sample.pdf. Accessed December 2, 2020.

Wersja dokumentu

Informacje dotyczące wersji dokumentu	
Doc Rev. 1.0 02/2021	Pierwsza publikacja.
Doc Rev. 2.0 07/2021	Dodano informacje swoiste dla systemu cobas ® 5800. Dodano adres importera. Usunięto adres dystrybutorów. Zaktualizowano stronę z ujednoliconymi symbolami. W razie jakichkolwiek pytań prosimy o kontakt z lokalnym przedstawicielem firmy Roche.