cobas® HCV

Test quantitatif des acides nucléiques à utiliser avec les cobas® 6800/8800 Systems

Destiné au diagnostic in vitro

cobas® HCV	P/N : 06997732190
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	P/N : 06997767190
cobas® NHP Negative Control Kit	P/N : 07002220190

Table des matières

Usage prévu **4**

Résumé et explication du test **4**

Réactifs et matériel **7**

Réactifs et contrôles **cobas**® HCV 7

Réactifs **cobas omni** pour préparation des échantillons 9

Conditions de manipulation et de stockage des réactifs 10

Matériel supplémentaire nécessaire 12

Instruments et logiciels nécessaires 12

Précautions et conditions de manipulation **13**

Avertissements et précautions 13

Manipulation des réactifs 14

Bonnes pratiques de laboratoire 14

Prélèvement, transport et conservation des échantillons **14**

Échantillons 15

Instructions d'utilisation **16**

Notes de procédure 16

Exécution du test **cobas**® HCV 16

Résultats **17**

Contrôle qualité et validité des résultats 17

Interprétation des résultats 18

Limites du test 18

Évaluation des performances non cliniques 19

Caractéristiques clés des performances 19

Limite de détection (LoD) 19

Domaine de linéarité 21

Précision intra-laboratoire 24

Inclusivité 26

Spécificité 29

Spécificité analytique 29

Spécificité analytique – substances interférentes 30

Corrélation de la méthode 32

Équivalence des matrices – plasma EDTA et sérum 33

Échec complet du système 33

Contamination croisée 33

Informations supplémentaires 34

Caractéristiques clés du test 34

Symboles 35

Fabricant et distributeurs 36

Marques commerciales et brevets 36

Copyright 36

Références 37

Révision du document 39

Usage prévu

Le test **cobas**® HCV est un test *in vitro* d'amplification des acides nucléiques destiné à la détection et au dosage quantitatif de l'ARN de l'hépatite C (VHC), génotypes 1 à 6, dans du sérum ou plasma EDTA humain d'individus infectés par le VHC.

cobas® HCV est prévu pour contribuer au diagnostic de l'infection au VHC dans les populations suivantes : les individus présentant des signes d'anticorps anti-VHC et des signes de maladie hépatique, les individus chez lesquels on suppose une infection active par le VHC avec des signes d'anticorps anti-VHC, et les individus présentant un risque d'infection au VHC avec des anticorps anti-VHC. La détection de l'ARN du VHC indique la réplication du virus et donc un cas d'infection active.

Ce test est destiné à être utilisé dans le suivi des patients souffrant d'infections chroniques pour VHC, en association avec des marqueurs biologiques ou cliniques indiquant une infection. Le test peut être utilisé pour prédire la probabilité d'une réponse virologique soutenue (RVS) au début d'un traitement antiviral, et pour évaluer la réponse virale à un traitement antiviral (traitement axé sur la réponse) mesurée par les variations des niveaux d'ARN du VHC dans le sérum ou le plasma EDTA. Les résultats doivent être interprétés en tenant compte de tous les résultats cliniques et de laboratoire pertinents.

Résumé et explication du test

Contexte

Le virus de l'hépatite C (VHC) est considéré comme étant le principal agent étiologique responsable de 90 % à 95 % des cas d'hépatite post-transfusion[1-4]. Le VHC est un virus à ARN monocaténaire de sens positif dont le génome comporte environ 9 500 nucléotides codant 3 000 acides aminés. Le VHC peut être transmis par le sang ou les produits sanguins. L'adoption courante de mesures de dépistage du VHC dans le sang a grandement diminué le risque d'hépatite associé aux transfusions. L'incidence d'infections à VHC est la plus élevée lorsqu'elle est associée à l'injection intraveineuse de drogues et, dans une moindre mesure, à d'autres expositions percutanées[4].

Il a été clairement établi que le dosage quantitatif de l'ARN du VHC pour la mesure des charges virales initiales et la surveillance du traitement démontre l'efficacité de la réponse antivirale au traitement combinant interféron pégylé et ribavirine (pegIFN/RBV)[5-9]. Les recommandations pour la gestion et le traitement du VHC[10,11] préconisent un test quantitatif de l'ARN du VHC avant le début du traitement antiviral, à des intervalles définis pendant le traitement (traitement axé sur la réponse ou RGT pour Response-Guided Therapy) et 12 semaines ou plus après la fin du traitement.

L'absence de détection d'ARN du VHC par un test sensible, 12 semaines après la fin du traitement, correspond à l'objectif du traitement et indique l'obtention d'une réponse virologique soutenue (RVS)[10].

La détermination de la cinétique virale au cours du traitement a été utilisée pour adapter pour chaque patient la durée du traitement grâce aux agents antiviraux à action directe (AAD) récemment approuvés, les inhibiteurs de la protéase télaprévir et bocéprévir[12-15].

Pourquoi dépister le VHC ?

Malgré le dynamisme de la recherche sur de nouveaux traitements du VHC, le suivi de la charge virale reste le principal test de laboratoire pour confirmer l'obtention de la RVS avec les AAD, tels que les inhibiteurs de la protéase de deuxième génération, les inhibiteurs nucléosidiques de la polymérase du VHC et d'autres mécanismes d'action antivirale[16-19].

En résumé, le test **cobas**® HCV, destiné à être utilisé sur les **cobas**® 6800/8800 Systems, est un test quantitatif de l'ARN du VHC et de la cinétique virale, destiné à être utilisé dans les laboratoires prenant en charge les essais cliniques, ainsi que la gestion des patients infectés par le VHC dans la pratique clinique courante.

Explication du test

Le test **cobas**® HCV est un test quantitatif exécuté sur le **cobas**® 6800 System et le **cobas**® 8800 System. Le test **cobas**® HCV permet la détection et la quantification de l'ARN du VHC dans le plasma EDTA ou le sérum de patients infectés. Deux sondes permettent la détection et la quantification, mais non la discrimination, des génotypes 1 à 6. La charge virale est quantifiée par rapport à un standard de quantification d'ARN encapsulé non-VHC (QS-ARN) qui est introduit dans chaque échantillon lors de la préparation des échantillons. Le QS-ARN fonctionne également en tant que contrôle interne et permet de surveiller l'ensemble du processus de préparation des échantillons et d'amplification par PCR. En outre, le test utilise trois contrôles : un contrôle positif de titre élevé, un contrôle positif de titre faible et un contrôle négatif.

Principes de la procédure

Le test **cobas**® HCV repose sur la préparation entièrement automatisée des échantillons (extraction et purification des acides nucléiques) suivie de l'amplification et de la détection par PCR. Les **cobas**® 6800/8800 Systems sont composés du module de chargement des échantillons, du module de transfert, du module de traitement et du module analytique. La gestion automatisée des données est réalisée par le logiciel **cobas**® 6800/8800, lequel attribue à chaque test l'un des résultats suivants : cible non détectée, < LLoQ (limite de quantification inférieure), > ULoQ (limite de quantification supérieure) ou ARN du VHC détecté, valeur dans le domaine de linéarité LLoQ < x < ULoQ. Les résultats peuvent être consultés directement sur l'écran du système, exportés ou imprimés sous forme de rapports.

Les acides nucléiques des échantillons de patient, des contrôles et des molécules de QS-ARN encapsulé ajoutées sont extraits simultanément. Les acides nucléiques viraux sont libérés par l'ajout de protéinase et de réactif de lyse à l'échantillon. L'acide nucléique libéré se lie à la surface des particules magnétiques de verre (silice) ajoutées. Les substances non liées et les impuretés, telles que les protéines dénaturées, les débris cellulaires et les inhibiteurs potentiels de PCR, sont éliminées lors d'étapes suivantes utilisant des réactifs de lavage, et l'acide nucléique purifié est séparé des particules magnétiques de verre (silice) à l'aide de tampon d'élution à température élevée.

L'amplification sélective de l'acide nucléique cible dans l'échantillon de patient est effectuée à l'aide d'amorces sens et antisens spécifiques au virus cible, sélectionnées dans des régions hautement conservées du VHC. L'amplification sélective du QS-ARN est effectuée à l'aide d'amorces sens et antisens spécifiques à la séquence, sélectionnées de manière à ne présenter aucune homologie avec le génome du VHC. Une enzyme ADN polymérase thermostable est utilisée pour la transcription inverse et pour l'amplification par PCR. Les séquences cibles et QS-ARN sont amplifiées simultanément à l'aide d'un profil d'amplification par PCR universel composé de paliers de température et d'un nombre de cycles prédéfinis. Le master mix comprend de la désoxyuridine triphosphate (dUTP) à la place de la désoxythymidine triphosphate (dTTP), laquelle est incorporée dans l'ADN nouvellement synthétisé (amplicon)[20-22].

Tout amplicon contaminant provenant de runs de PCR précédents est éliminé par l'enzyme AmpErase incluse dans le mélange de PCR, lors de la première étape de thermocyclage. Toutefois, les amplicons nouvellement formés ne sont pas éliminés car l'enzyme AmpErase est désactivée une fois exposée à une température supérieure à 55 °C.

Le master mix **cobas**® HCV contient deux sondes de détection spécifiques aux séquences cibles de VHC et une sonde spécifique au QS-ARN. Les sondes sont marquées au moyen de fluorophores rapporteurs spécifiques des cibles permettant la détection simultanée de cible de VHC et de QS-ARN dans deux canaux cibles différents[23,24]. Le signal fluorescent de la sonde intacte non liée à la séquence cible est supprimé par un fluorophore quencher. Lors de l'étape d'amplification par PCR, l'hybridation des sondes à la matrice d'ADN monocaténaire spécifique entraîne un clivage de la sonde par l'activité nucléase 5' à 3' de l'ADN polymérase, ce qui conduit à une séparation du fluorophore rapporteur et du fluorophore quencher et à la génération d'un signal fluorescent. À chaque cycle PCR, des quantités croissantes de sondes clivées sont générées et le signal cumulatif du fluorophore rapporteur augmente simultanément. La détection et la discrimination en temps réel des produits PCR sont effectuées en mesurant la fluorescence des fluorophores rapporteurs libérés pour les cibles virales et le QS-ARN.

Réactifs et matériel

Réactifs et contrôles cobas® HCV

Tout réactif ou contrôle non ouvert doit être stocké conformément aux recommandations du Tableau 1 au Tableau 4.

Tableau 1 cobas® HCV

cobas® HCV
Conserver à 2-8 °C
Cassette de 96 tests (P/N 06997732190)

Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit 96 tests
Solution de protéinase (PASE)	Tampon Tris, < 0,05 % d'EDTA, chlorure de calcium, acétate de calcium, 8 % de protéinase (m/v) EUH210 : fiche de données de sécurité disponible sur demande. EUH208 : peut produire une réaction allergique. Contient : subtilisine, 9014-01-1	13 mL
Standard de quantification de l'ARN (QS-ARN)	Tampon Tris, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % de construction d'ARN encapsulé non lié au VHC contenant des régions de séquence spécifiques aux amorces et à la sonde (ARN non infectieux dans le MS2 bactériophage), < 0,1 % d'azide de sodium	13 mL
Tampon d'élution (EB)	Tampon Tris, 0,2 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle	13 mL
Réactif 1 de master mix (MMX-R1)	Acétate de manganèse, hydroxyde de potassium, < 0,1 % d'azide de sodium	5,5 mL
Réactif 2 du master mix VHC (HCV MMX-R2)	Tampon de tricine, acétate de potassium, 18 % de sulfoxyde de diméthyle, glycérol, < 0,1 % de Tween 20, EDTA, < 0,12 % de dATP, dCTP, dGTP et dUTP, < 0,01 % d'amorces sens et antisens de VHC, < 0,01 % d'amorces sens et antisens de standard de quantification, < 0,01 % de sondes oligonucléotidiques marquées par fluorescence spécifiques au VHC et au standard de quantification VHC, < 0,01 % d'aptamère d'oligonucléotide, < 0,01 % d'ADN polymérase Z05D, < 0,1 % d'enzyme (microbienne) AmpErase (uracile-N-glycosylase), < 0,1 % d'azide de sodium	6 mL

Tableau 2 **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit
Conserver à 2–8 °C
(P/N : 06997767190)

Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements*
Contrôle positif bas de VHB/VHC/VIH-1 (HBV/HCV/HIV-1 L(+)C)	< 0,001 % d'ARN du VIH-1 groupe M encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage MS2, < 0,001 % d'ADN (plasmidique) synthétique du VHB encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage lambda, < 0,001 % d'ARN synthétique du VHC encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage MS2, plasma humain normal, non réactif aux tests agréés pour les anticorps anti-VHC, anticorps anti-VIH-1/2, AgHBs, anticorps anti-HBc ; ARN du VIH-1, ARN du VIH-2, ARN du VHC et ADN du VHB non détectables par les méthodes de PCR. 0,1 % de conservateur ProClin® 300	5,2 mL (8 x 0,65 mL)	 **AVERTISSEMENT** H317 : peut provoquer une allergie cutanée. P261 : éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P272 : les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail. P280 : porter des gants de protection. P302 + P352 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU, laver abondamment à l'eau et au savon. P333 + P313 : en cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. P363 : laver les vêtements contaminés avant réutilisation.
Contrôle positif haut de VHB/VHC/VIH-1 (HBV/HCV/HIV-1 H(+)C)	< 0,001 % d'ARN synthétique du VIH-1 groupe M de titre élevé encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage MS2, < 0,001 % d'ADN (plasmidique) synthétique du VHB encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage lambda, < 0,001 % d'ARN synthétique du VHC encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage MS2, plasma humain normal, non réactif aux tests agréés pour les anticorps anti-VHC, anticorps anti-VIH-1/2, AgHBs, anticorps anti-HBc ; ARN du VIH-1, ARN du VIH-2, ARN du VHC et ADN du VHB non détectables par les méthodes de PCR. 0,1 % de conservateur ProClin® 300	5,2 mL (8 x 0,65 mL)	 **AVERTISSEMENT** H317 : peut provoquer une allergie cutanée. P261 : éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P272 : les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail. P280 : porter des gants de protection. P302 + P352 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU, laver abondamment à l'eau et au savon. P333 + P313 : en cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. P363 : laver les vêtements contaminés avant réutilisation.

*Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

Tableau 3 **cobas**® NHP Negative Control Kit

cobas® NHP Negative Control Kit
Conserver à 2-8 °C
(P/N 07002220190)

Composants du kit	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements*
Contrôle négatif de plasma humain normal (NHP-NC)	Plasma humain normal, non réactif aux tests agréés pour les anticorps anti-VHC, anticorps anti-VIH-1/2, AgHBs, anticorps anti-HBc ; ARN du VIH-1, ARN du VIH-2, ARN du VHC et ADN du VHB non détectables par les méthodes de PCR. < 0,1 % de conservateur ProClin® 300**	16 mL (16 × 1 mL)	 **AVERTISSEMENT** H317 : Peut provoquer une allergie cutanée. P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P272 : Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail. P280 : Porter des gants de protection. P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. P362 + P364 : Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation. P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée. Mélange 55965-84-9 de : 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one [n° CE 247-500-7] et 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one [n° CE 220-239-6] (3:1)

* Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

** Substance dangereuse.

Réactifs cobas omni pour préparation des échantillons

Tableau 4 Réactifs **cobas omni** pour préparation des échantillons*

Réactifs	Ingrédients du réactif	Quantité par kit	Symboles de sécurité et avertissements**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Conserver à 2-8 °C (P/N : 06997546190)	Particules magnétiques de verre, tampon Tris, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle, < 0,1 % d'azoture de sodium	480 tests	Non applicable
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Conserver à 2-8 °C (P/N : 06997511190)	Tampon Tris, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle, < 0,1 % d'azoture de sodium	4 × 875 mL	Non applicable
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Conserver à 2-8 °C (P/N : 06997538190)	43 % (m/m) de thiocyanate de guanidine***, 5 % (m/v) de polidocanol***, 2 % (m/v) de dithiothréitol, citrate de sodium dihydraté	4 × 875 mL	**DANGER** H302 + H332 : Nocif en cas d'ingestion ou par inhalation. H318 : Provoque des lésions oculaires graves. H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. EUH032 : Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique. P261 : Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P273 : Éviter le rejet dans l'environnement. P280 : Porter un équipement de protection des yeux/du visage. P304 + P340 + P312 : EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin en cas de malaise. P305 + P351 + P338 + P310 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin. P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée. 593-84-0 Thiocyanate de guanidinium 9002-92-0 Polidocanol
cobas omni Wash Reagent (WASH) Conserver à 15-30 °C (P/N : 06997503190)	Citrate de sodium dihydraté, 0,1 % de 4-hydroxybenzoate de méthyle	4,2 L	Non applicable

* Ces réactifs ne sont pas inclus dans le kit de test **cobas**® HCV. Voir la liste du matériel supplémentaire nécessaire (Tableau 7).

** Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

*** Substance dangereuse.

Conditions de manipulation et de stockage des réactifs

Les réactifs doivent être stockés et manipulés comme spécifié dans le Tableau 5 et le Tableau 6.

Lorsque les réactifs ne sont pas chargés sur les **cobas**® 6800/8800 Systems, ils doivent être stockés à la température spécifiée dans le Tableau 5.

Tableau 5 Stockage des réactifs (lorsque le réactif n'est pas sur le système)

Réactif	Température de stockage
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

Les réactifs chargés sur les **cobas**® 6800/8800 Systems sont stockés à des températures appropriées et leur date de péremption est surveillée par le système. Les **cobas**® 6800/8800 Systems ne permettent l'utilisation des réactifs que si toutes les conditions indiquées dans le Tableau 6 sont remplies. Le système empêche automatiquement l'utilisation de réactifs périmés. Le Tableau 6 permet à l'utilisateur de comprendre les conditions de manipulation des réactifs appliquées par les **cobas**® 6800/8800 Systems.

Tableau 6 Conditions de péremption des réactifs appliquées par les **cobas**® 6800/8800 Systems

Réactif	Date de péremption du kit	Stabilité de kit ouvert	Nombre de runs possibles avec ce kit	Stabilité à bord (cumul du temps à bord, en dehors du réfrigérateur)
cobas® HCV	Date non passée	30 jours à partir de la première utilisation	10 runs max.	8 heures max.
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Date non passée	Non applicable	Non applicable	8 heures max.
cobas® NHP Negative Control Kit	Date non passée	Non applicable	Non applicable	10 heures max.
cobas omni Lysis Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni MGP Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni Specimen Diluent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable
cobas omni Wash Reagent	Date non passée	30 jours à partir du chargement*	Non applicable	Non applicable

* Durée mesurée à partir du premier chargement du réactif sur les **cobas**® 6800/8800 Systems.

Matériel supplémentaire nécessaire

Tableau 7 Matériel et consommables à utiliser sur les **cobas**® 6800/8800 Systems

Matériel	**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
Sac à déchets solides	07435967001
Réservoir à déchets solides	07094361001

Instruments et logiciels nécessaires

Le logiciel **cobas**® 6800/8800 et les fichiers d'analyse **cobas**® HCV doivent être installés sur le ou les instruments. Le serveur IG (Instrument Gateway) est livré avec le système.

Tableau 8 Instruments

Équipement	**P/N**
cobas® 6800 System (version mobile)	05524245001 et 06379672001
cobas® 6800 System (fixe)	05524245001 et 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Module de chargement des échantillons	06301037001

Consulter le manuel d'utilisation des **cobas**® 6800/8800 Systems pour obtenir plus d'informations sur les tubes primaires et secondaires acceptés sur les instruments.

Remarque : contacter le représentant Roche local pour obtenir une liste d'ordre détaillée des racks d'échantillons, racks pour embouts bouchés et plateaux de racks acceptés sur les instruments.

Précautions et conditions de manipulation

Avertissements et précautions

Comme pour le déroulement de tout test, de bonnes pratiques de laboratoire sont indispensables pour assurer la qualité de cette analyse. Du fait de la sensibilité élevée de ce test, il est indispensable d'éviter toute contamination des réactifs et des mélanges d'amplification.

- Destiné uniquement au diagnostic *in vitro*.
- L'utilisation du test **cobas**® HCV pour le dépistage du VHC dans le sang ou les produits sanguins n'a pas été évaluée.
- Tous les échantillons de patient doivent être manipulés comme s'ils étaient infectieux, conformément aux bonnes pratiques de laboratoire, telles que celles mentionnées dans Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories ainsi que dans le document M29-A4 du CLSI[25,26]. Seul le personnel expert dans la manipulation du matériel présentant un risque biologique ainsi que dans l'utilisation du test **cobas**® HCV et des **cobas**® 6800/8800 Systems doit effectuer cette procédure.
- Tout produit d'origine humaine doit être considéré comme potentiellement infectieux et doit être manipulé selon les précautions universelles. En cas d'éclaboussures, désinfecter immédiatement avec une solution fraîchement préparée contenant 0,5 % d'hypochlorite de sodium dans de l'eau distillée ou déionisée (eau de javel ménagère diluée à 1:10) ou suivre les procédures locales appropriées.
- Le **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit et le **cobas**® NHP Negative Control Kit contiennent du plasma dérivé de sang humain. Le produit source a été testé non réactif aux tests agréés de détection des anticorps anti-VHC, anticorps anti-VIH-1/2, AgHBs et anticorps anti-HBc. Les tests de plasma humain normal à l'aide des méthodes de PCR ont indiqué qu'aucun ARN du VIH-1 (groupes M et O), ARN du VIH-2, ARN du VHC ni ADN du VHB n'étaient détectables. Toutefois, aucune méthode de test connue ne peut garantir avec une certitude absolue que des produits dérivés de sang humain sont exempts de tout risque de transmission d'agents infectieux.
- **Ne pas congeler le sang total ni tout échantillon stocké dans des tubes primaires.**
- Utiliser uniquement les consommables nécessaires fournis ou indiqués afin d'assurer des performances de test optimales.
- Les fiches de sécurité (ou SDS pour Safety Data Sheets) sont disponibles sur demande auprès de votre représentant Roche local.
- Suivre rigoureusement les procédures et les directives fournies pour assurer le bon déroulement du test. Toute déviation des procédures et directives peut affecter les performances du test.
- Il existe un risque de faux positifs si la contamination croisée des échantillons n'est pas correctement contrôlée lors de la manipulation et du traitement des échantillons.
- Ne pas utiliser le volume d'échantillon de 200 µL si la charge virale attendue est < 100 UI/mL.

Manipulation des réactifs

- Manipuler tous les réactifs, contrôles et échantillons selon les bonnes pratiques de laboratoire afin d'éviter une contamination croisée des échantillons ou des contrôles.
- Avant utilisation, inspecter visuellement chaque cassette de réactifs, diluant, réactif de lyse et réactif de lavage pour détecter tout signe de fuite. En présence de fuite, ne pas utiliser ce matériel pour le test.
- Le **cobas omni** Lysis Reagent contient du thiocyanate de guanidine, un produit chimique dangereux. Éviter tout contact des réactifs avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment à l'eau. Il existe sinon un risque de brûlure.
- Les kits **cobas**® HCV, **cobas omni** MGP Reagent et **cobas omni** Specimen Diluent contiennent de l'azide de sodium en tant que conservateur. Éviter tout contact des réactifs avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment à l'eau. Il existe sinon un risque de brûlure. Si ces réactifs sont renversés, diluer avec de l'eau avant d'essuyer.
- Éviter tout contact entre le **cobas omni** Lysis Reagent, qui contient du thiocyanate de guanidine, et la solution d'hypochlorite de sodium (eau de javel). Le mélange peut produire un gaz extrêmement toxique.
- Jeter tout le matériel qui a été en contact avec les échantillons et réactifs conformément à la réglementation nationale, fédérale, régionale et locale.

Bonnes pratiques de laboratoire

- Ne pas pipeter à la bouche.
- Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail désignées.
- Porter des gants de laboratoire, des blouses de laboratoire et des lunettes de protection lors de la manipulation d'échantillons et de réactifs. Les gants doivent être changés entre la manipulation d'échantillons et la manipulation de kits **cobas**® HCV et de réactifs **cobas omni** afin d'éviter toute contamination. Éviter la contamination des gants lors de la manipulation des échantillons et des contrôles.
- Bien se laver les mains après la manipulation d'échantillons et de réactifs de test, et après le retrait des gants.
- Nettoyer et désinfecter soigneusement tous les plans de travail du laboratoire avec une solution fraîchement préparée d'hypochlorite de sodium à 0,5 % dans de l'eau distillée ou déionisée (eau de javel ménagère diluée à 1:10), puis essuyer les surfaces avec de l'éthanol à 70 %.
- En cas d'éclaboussures sur les **cobas**® 6800/8800 Systems, suivre les instructions du manuel d'utilisation des **cobas**® 6800/8800 Systems afin de nettoyer et de décontaminer correctement les surfaces du ou des instruments.

Prélèvement, transport et conservation des échantillons

Remarque : manipuler tous les échantillons et contrôles comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux.

Conserver tous les échantillons aux températures indiquées.

La stabilité des échantillons est affectée par les températures élevées.

En cas d'utilisation d'échantillons congelés dans des tubes secondaires, mettre les échantillons à température ambiante (15 à 30 °C) jusqu'à ce qu'ils soient complètement décongelés, puis les mélanger brièvement (par exemple passer au vortex pendant 3 à 5 secondes) et les centrifuger pour regrouper le volume échantillon complet au fond du tube.

Échantillons

Le sang doit être prélevé dans des tubes de séparation du sérum SST™, dans des tubes de préparation du plasma BD Vacutainer® PPT™ pour les méthodes de tests de diagnostic moléculaire ou dans des tubes stériles avec de l'EDTA comme anticoagulant. Suivre les instructions du fabricant des tubes de prélèvement d'échantillons.

- Le sang total prélevé dans des tubes de séparation du sérum SST™, dans des tubes de préparation du plasma BD Vacutainer® PPT™ pour les méthodes de tests de diagnostic moléculaire ou dans des tubes stériles avec de l'EDTA comme anticoagulant peut être conservé et/ou transporté à une température comprise entre 2 °C et 25 °C pendant 24 heures au maximum avant la préparation du plasma/sérum. La centrifugation doit être effectuée conformément aux instructions du fabricant.
- Après la séparation, les échantillons de plasma EDTA ou sérum peuvent être conservés dans des tubes secondaires pendant 6 jours au maximum à une température comprise entre 2 °C et 8 °C ou pendant 12 semaines au maximum à une température ≤ -18 °C. Pour la conservation à long terme, des températures ≤ -60 °C sont recommandées.
- Les échantillons de plasma/sérum sont stables pendant un maximum de quatre cycles de congélation/décongélation lorsqu'ils sont conservés à ≤ -18 °C.
- S'assurer que le prélèvement de sang total est suffisant pour permettre l'utilisation du volume de prise d'essai préconisé de 500 µL de sérum ou de plasma EDTA (pour une quantité d'échantillon minimale requise totale de 650 µL) si possible.
- Si les échantillons sont expédiés, ils doivent être emballés et étiquetés conformément aux réglementations nationales et internationales sur le transport d'échantillons et d'agents étiologiques.

Instructions d'utilisation

Notes de procédure

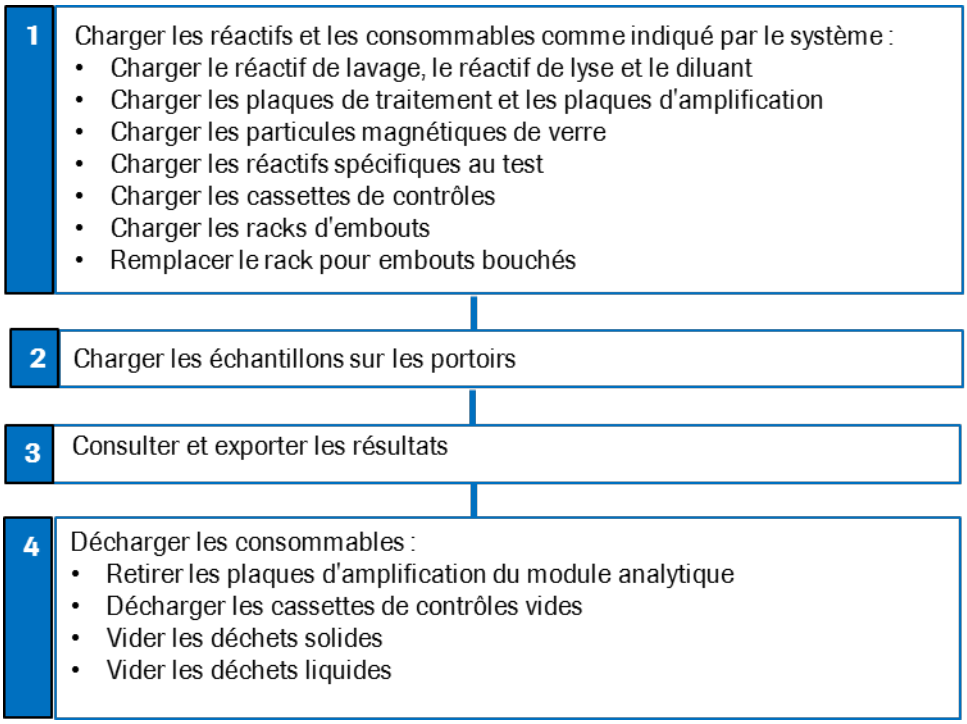
- Ne pas utiliser les réactifs du test **cobas**® HCV, le **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, le **cobas**® NHP Negative Control Kit ni les réactifs **cobas omni** après leur date de péremption.
- Ne pas réutiliser les consommables. Ils sont destinés à un usage unique.
- Consulter le manuel d'utilisation des **cobas**® 6800/8800 Systems pour obtenir des informations sur la bonne maintenance des instruments.

Exécution du test cobas® HCV

Le test **cobas**® HCV peut être exécuté avec deux volumes d'échantillon requis : 350 µL (pour la procédure de travail avec échantillons de 200 µL) et 650 µL (pour la procédure de travail avec échantillons de 500 µL). La procédure de test est décrite en détail dans le manuel d'utilisation des **cobas**® 6800/8800 Systems. La Figure 1 ci-dessous résume la procédure.

- **Remarque : Ne pas utiliser la procédure de travail avec échantillons de 200 µL si la charge virale attendue est ≤ 100 UI/mL. Un volume de sang suffisant doit être prélevé pour permettre l'utilisation du volume de prise d'essai préconisé de 500 µL de sérum ou de plasma EDTA (pour une quantité d'échantillon minimale requise totale de 650 µL).**

Figure 1 Procédure du test **cobas**® HCV



Résultats

Les **cobas**® 6800/8800 Systems déterminent automatiquement la concentration de l'ARN du VHC dans les échantillons et les contrôles. La concentration d'ARN du VHC est exprimée en Unités Internationales par millilitre (UI/mL).

Contrôle qualité et validité des résultats

- Un contrôle négatif (–) C et deux contrôles positifs, un contrôle positif bas VHC L(+)C et un contrôle positif haut VHC H(+)C, sont traités avec chaque série.
- Dans le logiciel **cobas**® 6800/8800 et/ou dans le rapport, vérifier la validité de la série.
- La série est valide si aucune alerte n'apparaît pour les trois contrôles, constitués d'un contrôle négatif et de deux contrôles positifs : VHC L(+)C, VHC H(+)C. Dans les résultats, le contrôle négatif s'affiche sous la forme (–) C et les contrôles positifs bas et haut s'affichent sous la forme HxV L(+)C et HxV H(+)C.

L'invalidation des résultats est effectuée automatiquement par le logiciel **cobas**® 6800/8800 en fonction des échecs des contrôles négatifs et positifs.

Alertes de contrôle

Tableau 9 Alertes de contrôle pour les contrôles négatifs et positifs

Contrôle négatif	Alerte	Résultat	Interprétation
(–) C	Q02 (Échec de la série de contrôle)	Invalid	Résultat invalide ou le résultat de titre calculé pour le contrôle négatif n'est pas négatif.
Contrôle positif	**Alerte**	**Résultat**	**Interprétation**
HxV L(+)C	Q02 (Échec de la série de contrôle)	Invalid	Résultat invalide ou le résultat d'un titre calculé pour le contrôle faiblement positif se situe en dehors du domaine théorique.
HxV H(+)C	Q02 (Échec de la série de contrôle)	Invalid	Résultat invalide ou le résultat d'un titre calculé pour le contrôle fortement positif se situe en dehors du domaine théorique.

Si la série est invalide, retester la série complète, y compris les échantillons et les contrôles.

HxV L(+)C correspond au contrôle positif bas **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 et HxV H(+)C correspond au contrôle positif haut **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 dans le logiciel **cobas**® 6800/8800.

Interprétation des résultats

Pour une série valide, vérifier l'absence d'alerte pour chaque échantillon individuel dans le logiciel **cobas**® 6800/8800 et/ou dans le rapport. Les résultats doivent être interprétés comme suit :

- Une série valide peut comporter des résultats d'échantillon valides et invalides.

Tableau 10 Résultats cibles pour l'interprétation des résultats cibles individuels

Résultats	Interprétation
Target Not Detected	ARN du VHC non détecté. Enregistrer les résultats comme suit : « VHC non détecté ».
< Titer Min	Le titre calculé se situe sous la limite de quantification inférieure (LLoQ) du test. Enregistrer les résultats comme suit : « VHC détecté, inférieur à (titre min) ». Titre min = 15 UI/mL (500 µL) Titre min = 40 UI/mL (200 µL)
Titer	Le titre calculé se situe dans le domaine de linéarité du test : supérieur ou égal au titre min. et inférieur ou égal ou titre max. Enregistrer les résultats comme suit : « (Titre) de VHC détecté ».
> Titer Max[a]	Le titre calculé se situe au-dessus de la limite de quantification supérieure (ULoQ) du test. Enregistrer les résultats comme suit : « VHC détecté, supérieur à (titre max). ». Titre max = 1,00E+08 UI/mL (500 µL et 200 µL)

a Un résultat d'échantillon « > Titer Max » correspond à des échantillons positifs pour VHC dont les titres dont les titres sont supérieurs à la limite supérieure de quantification (ULoQ). Pour obtenir un résultat quantitatif, l'échantillon d'origine doit être dilué avec du sérum ou du plasma EDTA négatif pour VHC, selon le type de l'échantillon d'origine, et le test doit être répété. Multiplier le résultat enregistré par le coefficient de dilution.

Limites du test

- Le test **cobas**® HCV a été évalué uniquement pour être utilisé conjointement au **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, au **cobas**® NHP Negative Control Kit, au **cobas omni** MGP Reagent, au **cobas omni** Lysis Reagent, au **cobas omni** Specimen Diluent et au **cobas omni** Wash Reagent sur les **cobas**® 6800/8800 Systems.
- La fiabilité des résultats dépend du suivi correct des procédures de prélèvement, stockage et manipulation des échantillons.
- Ce test a été validé pour être utilisé exclusivement avec du sérum ou du plasma EDTA. L'analyse d'autres types d'échantillons peut aboutir à des résultats inexacts.
- La quantification de l'ARN du VHC dépend du nombre de particules virales présentes dans l'échantillon et peut être affectée par les méthodes de collecte d'échantillons, les facteurs relatifs aux patients (c'est-à-dire l'âge, la présence de symptômes) et/ou le stade de l'infection.
- Bien qu'il s'agisse d'un cas rare, des mutations au niveau des régions hautement conservées d'un génome viral couvertes par le test **cobas**® HCV peuvent affecter la liaison des amorces et/ou des sondes et entraîner une sous-quantification du virus ou l'échec de la détection du virus.
- En raison des différences inhérentes à chaque technologie, il est recommandé aux utilisateurs, avant de passer d'une technologie à l'autre, de mener des études de corrélation de méthodes au sein de leur laboratoire afin de caractériser les différences entre les diverses technologies. Les utilisateurs doivent suivre leurs propres politiques/procédures.
- Le test **cobas**® HCV n'est pas destiné au dépistage du VHC dans le sang ou les produits sanguins.

Évaluation des performances non cliniques

Caractéristiques clés des performances

Limite de détection (LoD)

Standard international de l'OMS

La limite de détection du test **cobas**® HCV a été déterminée en analysant des dilutions en série du standard international de l'OMS pour l'ARN du virus de l'hépatite C pour les analyses utilisant la technologie d'amplification de l'acide nucléique (quatrième standard international de l'OMS), génotype 1a, obtenu auprès du NIBSC, dans du sérum et du plasma EDTA humain négatif pour VHC, à l'aide de volumes de prise d'essai des échantillons de 500 µL et 200 µL. Pour le traitement sur les **cobas**® 6800/8800 Systems, la quantité d'échantillon minimale requise était de 650 µL et 350 µL respectivement. Des panels de six niveaux de concentration positifs plus un niveau de concentration négatif pour un volume de prise d'essai d'échantillon de 500 µL et des panels de sept niveaux de concentration pour un volume de prise d'essai d'échantillon de 200 µL ont été testés sur trois lots de réactifs du test **cobas**® HCV, lors de plusieurs runs, pendant plusieurs jours, par plusieurs opérateurs et sur plusieurs instruments.

Les résultats pour le plasma EDTA et le sérum des deux volumes de prise d'essai des échantillons sont indiqués du Tableau 11 au Tableau 14. L'étude démontre que le test **cobas**® HCV a détecté l'ARN du VHC à une concentration de 8,46 UI/mL avec un intervalle de confiance à 95 % de 7,50 à 9,79 UI/mL pour un volume de prise d'essai d'échantillon de 500 µL dans le plasma EDTA, et à une concentration de 9,61 UI/mL avec un intervalle de confiance à 95 % de 8,70 à 10,95 UI/mL pour un volume de prise d'essai d'échantillon de 500 µL dans le sérum. L'étude a démontré que le test **cobas**® HCV a détecté l'ARN du VHC à une concentration de 24,93 UI/mL avec un intervalle de confiance à 95 % de 22,51 à 28,35 UI/mL pour un volume de prise d'essai d'échantillon de 200 µL dans le plasma EDTA, et à une concentration de 33,25 UI/mL avec un intervalle de confiance à 95 % de 29,94 à 37,94 UI/mL pour un volume de prise d'essai d'échantillon de 200 µL dans le sérum. La différence entre le plasma EDTA et le sérum avec les volumes de prise d'essai des échantillons de 500 µL et 200 µL n'était pas statistiquement significative.

Tableau 11 Limite de détection dans le plasma EDTA (500 µL)

Concentration de titre d'entrée (ARN du VHC, UI/mL)	Nombre de réplicats valides	Nombre de positifs	Taux de succès en %
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
Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT	8,46 UI/mL Intervalle de confiance de 95 % : 7,50-9,79 UI/mL		

*Échantillons confirmés négatifs par d'autres méthodes analytiques.

Tableau 12 Limite de détection dans le sérum (500 µL)

Concentration de titre d'entrée (ARN du VHC, UI/mL)	**Nombre de réplicats valides**	**Nombre de positifs**	**Taux de succès en %**
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
Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT	9,61 UI/mL Intervalle de confiance de 95 % : 8,70–10,95 UI/mL		

Tableau 13 Limite de détection dans le plasma EDTA (200 µL)

Concentration de titre d'entrée (ARN du VHC, UI/mL)	**Nombre de réplicats valides**	**Nombre de positifs**	**Taux de succès en %**
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
Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT	24,93 UI/mL Intervalle de confiance à 95 % : 22,51 à 28,35 UI/mL		

*Échantillons confirmés négatifs par d'autres méthodes analytiques.

Tableau 14 Limite de détection dans le sérum (200 µL)

Concentration de titre d'entrée (ARN du VHC, UI/mL)	Nombre de réplicats valides	Nombre de positifs	Taux de succès en %
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
Limite de détection à un taux de succès de 95 % par PROBIT	33,25 UI/mL Intervalle de confiance de 95 % : 29,94-37,94 UI/mL		

Domaine de linéarité

L'étude de linéarité du test **cobas**® HCV a été effectuée avec une série de dilutions constituée de 16 membres de panel couvrant le domaine de linéarité prévu pour le génotype prédominant (GT 1). Les membres de panel de titre élevé ont été préparés à partir d'un stock de titre élevé d'ARN encapsulé (ou arRNA pour armored RNA), tandis que les membres de panel de titre plus faible ont été préparés à partir d'un échantillon clinique (ÉC). Le panel de linéarité a été conçu pour présenter un chevauchement de titre d'environ 2 $\log_{10}$ entre les deux sources de matériel. Le domaine de linéarité prévu du test **cobas**® HCV est compris entre la LLoQ (15 UI/mL dans un volume de prise d'essai de 500 µL et 40 UI/mL dans un volume de prise d'essai de 200 µL) et l'ULoQ (1,00E+08 UI/mL dans les deux volumes de prise d'essai). Le panel de linéarité a été conçu de manière à s'étendre d'un niveau de concentration inférieur à la LLoQ (par ex. 7,5 UI/mL) à un niveau de concentration supérieur à l'ULoQ (par ex. 2,0E+08 UI/mL) et de manière à couvrir des points de décision médicale. En outre, le panel de linéarité a été conçu de manière à prendre partiellement en charge les étapes de 1,0 $\log_{10}$ sur l'ensemble du domaine de linéarité. Pour chaque membre de panel, la concentration nominale en UI/mL et la source de l'ARN du VHC étaient données.

Avec le volume de prise d'essai de 500 µL, le test **cobas**® HCV est linéaire pour le plasma EDTA et le sérum de 15 UI/mL à 1,00E+08 UI/mL et présente une déviation absolue par rapport à la régression non linéaire de meilleur ajustement de moins de ± 0,24 $\log_{10}$. Dans le domaine de linéarité, l'exactitude du test se situait à ± 0,24 $\log_{10}$.

Avec le volume de prise d'essai de 200 µL, le test **cobas**® HCV est linéaire pour le plasma EDTA et le sérum de 40 UI/mL à 1,00E+08 UI/mL et présente une déviation absolue par rapport à la régression non linéaire de meilleur ajustement de moins de ± 0,24 $\log_{10}$. Dans le domaine de linéarité, l'exactitude du test se situait à ± 0,24 $\log_{10}$ dans le plasma et ± 0,27 $\log_{10}$ dans le sérum.

Voir la Figure 2 à la Figure 5 pour les résultats représentatifs.

Figure 2 Linéarité dans le plasma EDTA (500 µL)

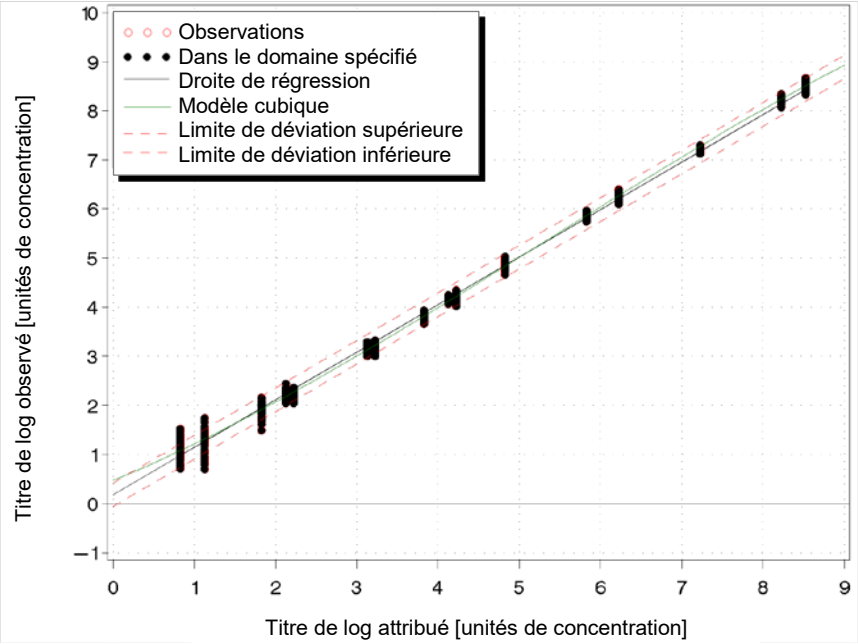


Figure 3 Linéarité dans le sérum (500 µL)

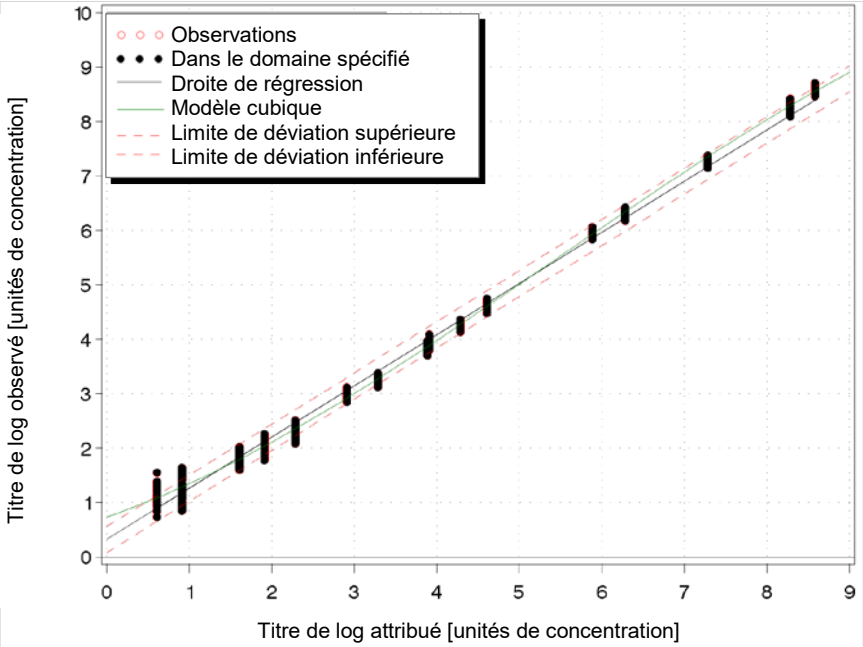


Figure 4 Linéarité dans le plasma EDTA (200 µL)

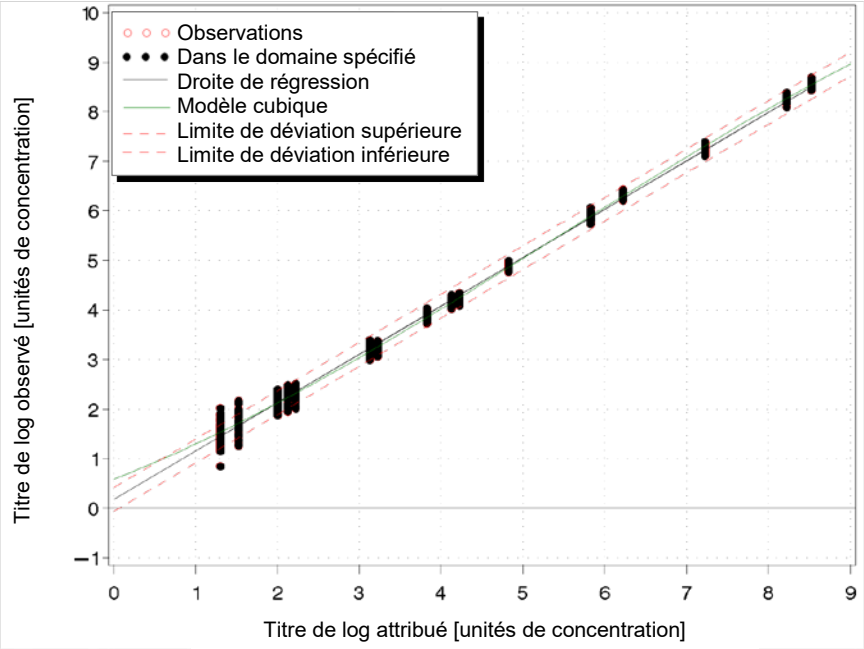
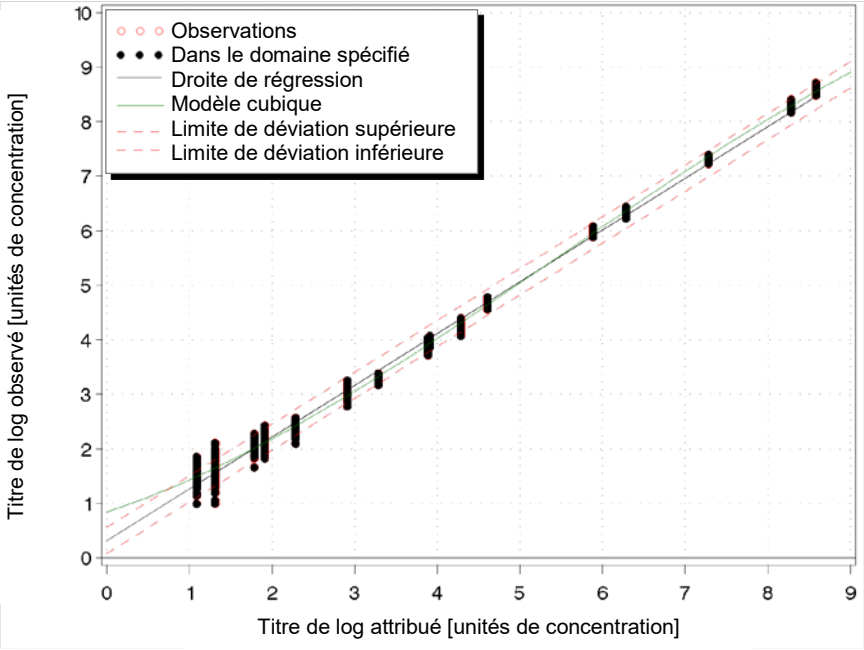


Figure 5 Linéarité dans le sérum (200 µL)



Précision intra-laboratoire

La précision du test **cobas**® HCV a été déterminée en analysant des dilutions en série d'échantillons cliniques (ÉC) de VHC (génotype 1) ou de VHC à ARN encapuslé (arRNA) dans du plasma EDTA ou du sérum négatif pour VHC. Treize niveaux de dilution dans le plasma et 12 niveaux dans le sérum ont été testés quotidiennement pendant 12 jours, avec deux réplicats pour chaque niveau et deux runs, soit un total de 48 réplicats par concentration. Chaque échantillon a subi la procédure entière du test **cobas**® HCV sur des **cobas**® 6800/8800 Systems entièrement automatisés. La précision indiquée plus bas prend donc en compte tous les aspects de la procédure de test. L'étude a été effectuée pour trois lots de réactifs du test **cobas**® HCV. Les résultats sont présentés du Tableau 15 au Tableau 18.

Le test **cobas**® HCV a présenté une précision élevée pour trois lots de réactifs testés sur une plage de concentration de 1,00E+01 UI/mL à 1,0E+07 UI/mL avec un volume de prise d'essai d'échantillon de 500 µL et de 2,50E+01 UI/mL à 1,0E+07 UI/mL avec un volume de prise d'essai d'échantillon de 200 µL.

Tableau 15 Précision intra-laboratoire du test **cobas**® HCV (échantillons de plasma EDTA – volume de prise d'essai de 500 µL)*

			Plasma EDTA			
			Lot n° 1	Lot n° 2	Lot n° 3	Tous les lots
Concentration nominale (UI/mL)	Concentration attribuée (UI/mL)	Matériel source	DS	DS	DS	DS globale
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	ÉC	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	ÉC	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	ÉC	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	ÉC	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	ÉC	0,09	0,17	0,10	0,13
1,00E+01	1,34E+01	ÉC	0,26	0,21	0,13	0,21

* Les données de titre sont considérées comme normalement réparties par log et sont analysées selon une transformation de Log_{10}. Les colonnes de déviations standard (DS) présentent le total du titre après transformation de log pour chacun des trois lots de réactifs.

Tableau 16 Précision intra-laboratoire du test **cobas**® HCV (échantillons de sérum – volume de prise d'essai de 500 µL)*

			Sérum			
			Lot n° 1	Lot n° 2	Lot n° 3	Tous les lots
Concentration nominale (UI/mL)	Concentration attribuée (UI/mL)	Matériel source	DS	DS	DS	DS globale
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	ÉC	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	ÉC	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	ÉC	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	ÉC	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	ÉC	0,09	0,14	0,18	0,14

* Les données de titre sont considérées comme normalement réparties par log et sont analysées selon une transformation de Log_{10}. Les colonnes de déviations standard (DS) présentent le total du titre après transformation de log pour chacun des trois lots de réactifs.

Tableau 17 Précision intra-laboratoire du test **cobas**® HCV (plasma EDTA –volume de prise d'essai de 200 µL)*

			Plasma EDTA			
			Lot n° 1	Lot n° 2	Lot n° 3	Tous les lots
Concentration nominale (UI/mL)	Concentration attribuée (UI/mL)	Matériel source	DS	DS	DS	DS globale
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	ÉC	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	ÉC	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	ÉC	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	ÉC	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	ÉC	0,15	0,12	0,11	0,13
2,50E+01	3,34E+01	ÉC	0,19	0,20	0,22	0,21

* Les données de titre sont considérées comme normalement réparties par log et sont analysées selon une transformation de Log_{10}. Les colonnes de déviations standard (DS) présentent le total du titre après transformation de log pour chacun des trois lots de réactifs.

Tableau 18 Précision intra-laboratoire du test **cobas**® HCV (sérum – volume de prise d'essai de 200 µL)*

			Sérum			
			Lot n° 1	Lot n° 2	Lot n° 3	Tous les lots
Concentration nominale (UI/mL)	Concentration attribuée (UI/mL)	Matériel source	DS	DS	DS	DS globale
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	ÉC	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	ÉC	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	ÉC	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	ÉC	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	ÉC	0,11	0,16	0,12	0,13

* Les données de titre sont considérées comme normalement réparties par log et sont analysées selon une transformation de Log_{10}. Les colonnes de déviations standard (DS) présentent le total du titre après transformation de log pour chacun des trois lots de réactifs.

Inclusivité

Les performances du test **cobas**® HCV sur les génotypes du VHC ont été évaluées par :

- Détermination de la limite de détection pour les génotypes 1b à 6 testés dans un volume de prise d'essai d'échantillon de 500 µL
- Vérification de la limite de détection pour les génotypes 1b à 6 testés dans un volume de prise d'essai d'échantillon de 200 µL
- Vérification de la linéarité pour les génotypes 2 à 6

Limite de détection pour les génotypes 1b à 6

La limite de détection du test **cobas**® HCV pour les génotypes 1b à 6 a été déterminée en analysant des dilutions en série de chaque génotype dans du sérum et du plasma EDTA humains négatifs pour VHC à l'aide des volumes de prise d'essai des échantillons de 500 µL. Des panels de six niveaux de concentration positifs plus un niveau de concentration négatif ont été testés à l'aide de trois lots de réactifs du test **cobas**® HCV, lors de plusieurs runs, pendant plusieurs jours, par plusieurs opérateurs et sur plusieurs instruments.

Les résultats pour le plasma EDTA et le sérum pour le volume de prise d'essai de 500 µL sont indiqués dans le Tableau 19 et le Tableau 20. L'étude démontre que le test **cobas**® HCV a détecté tous les génotypes du VHC testés avec une limite de détection (ou LoD pour Limit of Detection) similaire à celle du VHC, génotype 1a.

Tableau 19 Limite de détection des génotypes de l'ARN du VHC dans du plasma EDTA (500 µL)

Génotype	LoD de 95 % par Probit	Intervalle de confiance à 95 %
GT 1b	11,32 UI/mL	9,72-14,52 UI/mL
GT 2	9,10 UI/mL	7,83-11,80 UI/mL
GT 3	8,68 UI/mL	7,30-11,51 UI/mL
GT 4	12,78 UI/mL	10,69-17,20 UI/mL
GT 5	11,63 UI/mL	9,66-15,98 UI/mL
GT 6	12,58 UI/mL	9,78-20,10 UI/mL

Tableau 20 Limite de détection des génotypes de l'ARN du VHC dans du sérum (500 µL)

Génotype	LoD de 95 % par Probit	Intervalle de confiance à 95 %
GT 1b	15,24 UI/mL	12,40-21,58 UI/mL
GT 2	12,51 UI/mL	10,25-17,63 UI/mL
GT 3	7,21 UI/mL	6,10-9,50 UI/mL
GT 4	11,62 UI/mL	9,92-15,02 UI/mL
GT 5	13,06 UI/mL	10,64-18,68 UI/mL
GT 6	11,15 UI/mL	9,54-14,40 UI/mL

Vérification de la limite de détection pour les génotypes 1b à 6

Des échantillons cliniques d'ARN du VHC de six génotypes différents (1b, 2, 3, 4, 5, 6) ont été dilués à trois niveaux de concentration différents dans du plasma EDTA et du sérum. Le taux de succès a été déterminé avec 63 réplicats pour chaque niveau. Les tests ont été effectués avec trois lots de réactifs du test **cobas**® HCV. Les résultats obtenus avec 200 µL de plasma EDTA et de sérum sont indiqués au Tableau 21 et au Tableau 22. Ces résultats prouvent que le test **cobas**® HCV a détecté l'ARN du VHC pour les six différents génotypes aux concentrations de 33 UI/mL avec un taux de succès ≥ 90,5 % et Intervalle de confiance à 95 % unilatéral supérieur ≥ 95,8 %.

Tableau 21 Vérification de la limite de détection des génotypes de l'ARN du VHC dans le plasma EDTA (200 µL)

	17,5 UI/mL			33 UI/mL			50 UI/mL		
Génotype	**Nombre de réplicats valides**	**Nombre de positifs**	**Taux de succès en % (IC 95 %*)**	**Nombre de réplicats valides**	**Nombre de positifs**	**Taux de succès en % (IC 95 %*)**	**Nombre de réplicats valides**	**Nombre de positifs**	**Taux de succès en % (IC 95 %*)**
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

* Intervalle de confiance à 95 % supérieur unilatéral

Tableau 22 Vérification de la limite de détection des génotypes de l'ARN du VHC dans le sérum (200 µL)

	17,5 UI/mL			33 UI/mL			50 UI/mL		
Génotype	**Nombre de réplicats valides**	**Nombre de positifs**	**Taux de succès en % (IC 95 %*)**	**Nombre de réplicats valides**	**Nombre de positifs**	**Taux de succès en % (IC 95 %*)**	**Nombre de réplicats valides**	**Nombre de positifs**	**Taux de succès en % (IC 95 %*)**
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

* Intervalle de confiance à 95 % supérieur unilatéral

Linéarité pour les génotypes 2 à 6

La série de dilutions utilisée dans la vérification de l'étude de linéarité des génotypes du test **cobas**® HCV comprend neuf membres de panel couvrant le domaine de linéarité prévu. Les membres de panel de titre élevé ont été préparés à partir d'un stock de titre élevé d'ARN encapsulé (ou arRNA pour armored RNA), tandis que les membres de panel de titre plus faible ont été préparés à partir d'un échantillon clinique (ÉC) de titre élevé. Le panel de linéarité a été conçu pour présenter un chevauchement de titre d'environ 2 $\log_{10}$ entre les deux sources de matériel. Le domaine de linéarité du test **cobas**® HCV s'étendait de la LLoQ (15 UI/mL pour un volume de prise d'essai d'échantillon de 500 µL, 40 UI/mL pour un volume de prise d'essai de 200 µL) à l'ULoQ (1,00E+08 UI/mL pour les deux volumes de prise d'essai) et comprenait au moins un point de décision médicale. Les tests ont été effectués avec trois lots de réactifs du test **cobas**® HCV ; 15 réplicats par niveau ont été testés dans du plasma EDTA.

La linéarité au sein du domaine de linéarité du test **cobas**® HCV a été vérifiée pour les cinq génotypes (2, 3, 4, 5 et 6). La déviation maximale entre la régression linéaire et la régression non linéaire de meilleur ajustement était inférieure ou égale à 0,24 $\log_{10}$.

Spécificité

La spécificité du test **cobas**® HCV a été déterminée en analysant des échantillons de plasma EDTA et de sérum négatifs pour VHC issus de donneurs individuels. Trois cents échantillons individuels de plasma EDTA et 300 échantillons individuels de sérum (600 résultats au total) ont été testés avec deux lots de réactifs du test **cobas**® HCV. Tous les échantillons se sont révélés négatifs pour l'ARN du VHC. Dans le panel de test, la spécificité du test **cobas**® HCV était de 100 % (limite de confiance à 95 % : ≥ 99,5 %).

Spécificité analytique

La spécificité analytique du test **cobas**® HCV a été évaluée en diluant un panel de micro-organismes avec du plasma EDTA positif pour l'ARN du VHC et du plasma EDTA négatif pour l'ARN du VHC. Les micro-organismes ont été ajoutés à du plasma EDTA humain normal négatif pour le virus et testés avec et sans ARN du VHC. Des résultats négatifs ont été obtenus avec le test **cobas**® HCV sur tous les échantillons de micro-organismes sans cible VHC et des résultats positifs ont été obtenus sur tous les échantillons de micro-organismes avec cible VHC. En outre, le titre moyen $\log_{10}$ de chacun des échantillons positifs pour VHC contenant des organismes pouvant provoquer une réaction croisée était compris dans un intervalle de ± 0,3 $\log_{10}$ du titre moyen $\log_{10}$ du contrôle dopé positif respectif.

Tableau 23 Micro-organismes dont la réactivité croisée a été testée

Virus		Bactéries	Levure
Adénovirus de type 5	Virus du Nil Occidental	Propionibacterium acnes	Candida albicans
Cytomégalovirus	Virus de l'encéphalite de St Louis	Staphylococcus aureus	
Virus d'Epstein-Barr	Virus de l'encéphalite de Murray Valley		
Virus de l'hépatite A	Types 1, 2, 3 et 4 du virus de la dengue		
Virus de l'hépatite B	Virus de la méningo-encéphalite (souche HYPR)		
Virus de l'hépatite D	Virus de la fièvre jaune		
Virus de l'immunodéficience humaine-1	Virus de l'herpès humain de type 6		
Virus lymphotropique à cellules T humain de types 1 et 2	Virus de l'herpès simplex de type 1 et 2		
Papillomavirus humain	Virus de la grippe A		
Virus Varicella-Zoster	Virus Zika		

Spécificité analytique – substances interférentes

Des niveaux élevés de triglycérides (34,5 g/L), de bilirubine conjuguée (0,25 g/L), de bilirubine non conjuguée (0,25 g/L), d'albumine (58,7 g/L), d'hémoglobine (2,9 g/L) et d'ADN humain (2 mg/L) dans les échantillons ont été testés en présence et en l'absence d'ARN du VHC. Il a été démontré que les interférences endogènes testées n'ont pas d'effet sur les performances du test **cobas**® HCV.

En outre, la présence de maladies auto-immunes, telles que le lupus érythémateux systémique (LES), le facteur rhumatoïde (FR), ainsi que les anticorps antinucléaires (ANA) ont été testés.

En ce qui concerne la sensibilité, une interférence avec le test **cobas**® HCV a été constatée pour les échantillons individuels de deux donneurs LES, un donneur FR et quatre donneurs ANA. Une enquête sur les causes a établi que le test n'était pas affecté par l'interférence due aux donneurs SLE et FR lorsque les tests étaient effectués en présence de 75 UI/mL d'ARN du VHC.

Les quatre donneurs ANA présentant une interférence avec le test **cobas**® HCV lors des tests avec 50 UI/mL d'ARN du VHC ont également présenté une interférence lors des tests avec 75 UI/mL d'ARN du VHC. Pour évaluer si l'interférence observée était spécifique aux ANA ou aux donneurs, 15 donneurs ANA supplémentaires ont été testés en présence de 50 UI/mL et de 75 UI/mL d'ARN du VHC. Aucun des donneurs supplémentaires n'a présenté d'interférence en matière de sensibilité/quantification avec le test **cobas**® HCV, pour les deux concentrations testées.

De plus, les composés médicamenteux répertoriés au Tableau 24 ont été testés à trois fois la C_{max}. Il a été démontré qu'aucun des composés médicamenteux testés n'interfère avec la spécificité et la quantification de l'ARN du VHC avec le test **cobas**® HCV.

Il a été démontré qu'aucune substance potentiellement interférente n'affecte les performances du test. Des résultats négatifs ont été obtenus avec le test **cobas**® HCV sur tous les échantillons sans cible VHC et des résultats positifs ont été obtenus sur tous les échantillons avec cible VHC. En outre, le titre moyen $\log_{10}$ de chacun des échantillons positifs pour VHC contenant des substances potentiellement interférentes était compris dans un intervalle de ± 0,3 $\log_{10}$ du titre moyen $\log_{10}$ du contrôle dopé positif respectif.

Tableau 24 Composés médicamenteux dont l'interférence avec la quantification de l'ARN du VHC par le test **cobas**® HCV a été testée

Catégorie de médicament	Nom du médicament générique	
Modulateurs de l'immunité	Peginterféron α-2a	
	Peginterféron α-2b	
	Ribavirine	
Inhibiteur d'entrée du VIH	Maraviroc	
Inhibiteur de l'intégrase du VIH	Elvitegravir/Cobicistat	Raltegravir
Inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse du VIH	Éfavirenz	Névirapine
	Étravirine	Rilpivirine
Inhibiteur de la protéase du VIH	Atazanavir	Lopinavir
	Tipranavir	Nelfinavir
	Darunavir	Ritonavir
	Fosamprenavir	Saquinavir
Inhibiteur de la protéase du VHC	Boceprevir	Telaprevir
	Simeprevir	
Inhibiteurs de la transcriptase inverse ou de l'ADN polymérase	Abacavir	Tenofovir
	Emtricitabine	Adefovir dipivoxil
	Entecavir	Zidovudine
	Foscarnet	Aciclovir
	Cidofovir	Valganciclovir
	Lamivudine	Ganciclovir
	Telbivudine	Sofosbuvir
Composés pour le traitement des infections opportunistes	Azithromycin	Pyrazinamide
	Clarithromycin	Rifabutine
	Ethambutol	Rifampicine
	Fluconazole	Sulfaméthoxazole
	Isoniazide	Triméthoprime

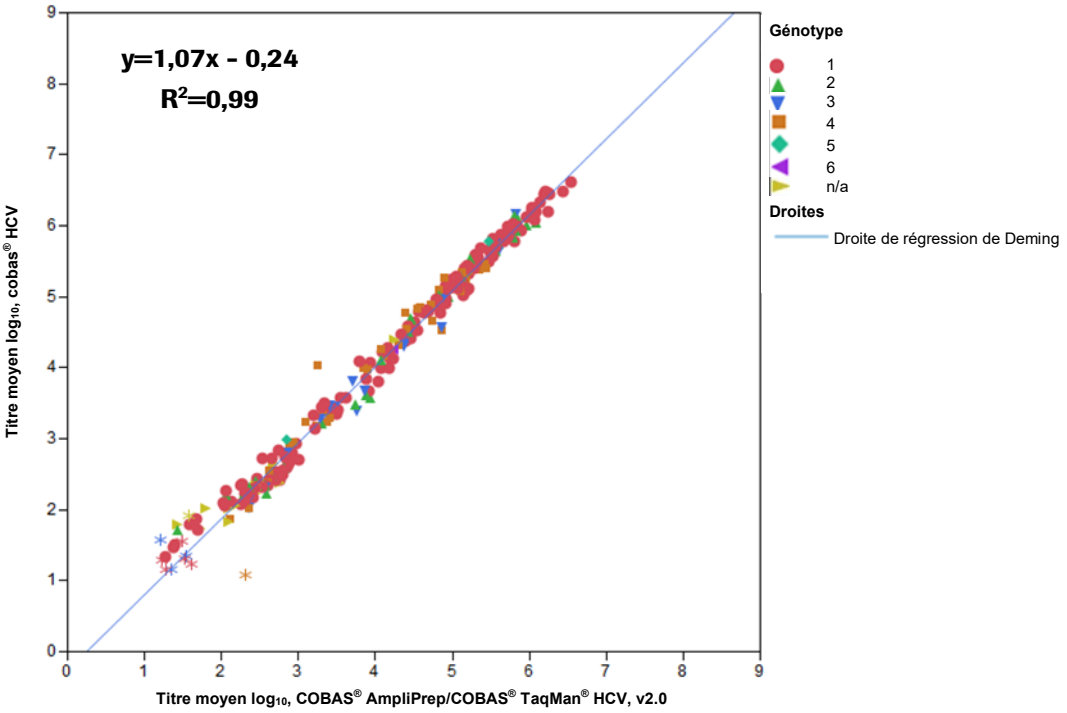
Corrélation de la méthode

Évaluation comparative des performances du test cobas® HCV et du test quantitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0

Les performances du test **cobas**® HCV et du test quantitatif COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 (test TaqMan® HCV, v2.0) ont été comparées en analysant des échantillons de sérum et de plasma EDTA issus de patients infectés par le VHC. Au total, 149 échantillons de plasma EDTA et 122 échantillons de sérum, tous génotypes de VHC confondus, analysés par duplicats, se sont révélés valides et à l'intérieur du domaine de quantification des deux tests. L'analyse de la régression de Deming a été réalisée. La déviation moyenne du titre des échantillons testées avec les deux tests était de 0,02 $\log_{10}$ (intervalle de confiance à 95 % : 0,00 ; 0,04).

Les résultats de la régression de Deming sont indiqués dans la Figure 6. Le symbole ✳ dans la Figure 6 indique une détermination unique.

Figure 6 Analyse de régression comparative du test **cobas**® HCV et du test TaqMan® HCV, v2.0 ; échantillons de plasma EDTA et de sérum

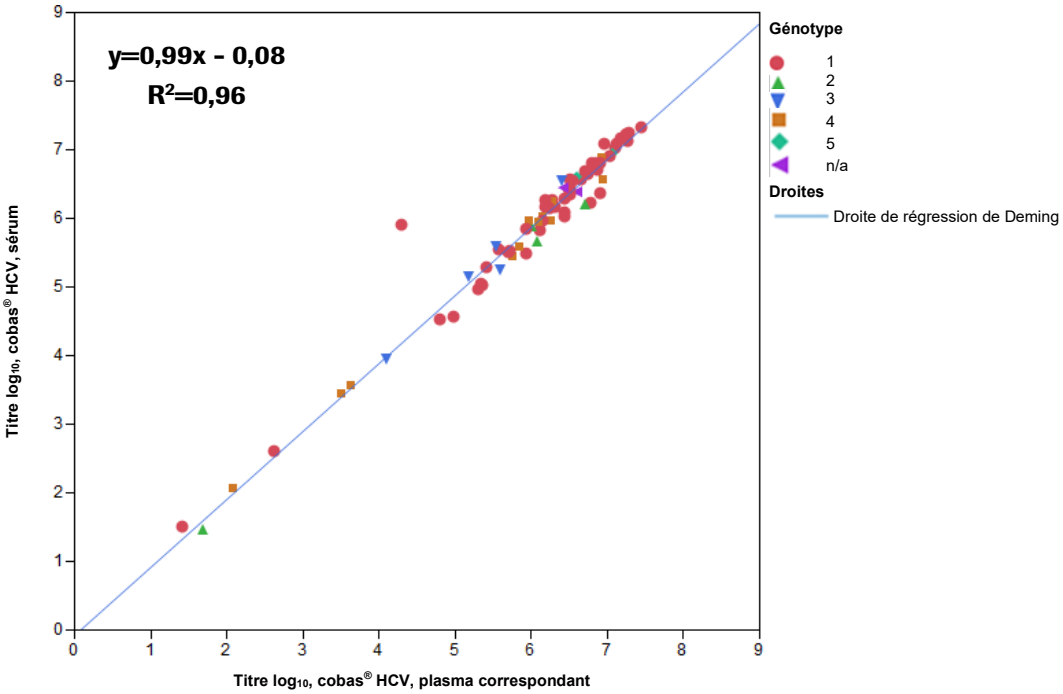


Équivalence des matrices – plasma EDTA et sérum

L'équivalence des matrices de 190 échantillons appariés de plasma EDTA et de sérum a été analysée. Parmi ces échantillons appariés, 73 étaient positifs pour VHC. Les échantillons positifs pour VHC couvraient les génotypes 1 à 4 dans le domaine de linéarité.

La déviation moyenne du titre mesurée pour les échantillons de plasma EDTA et de sérum correspondants était de -0,13 $\log_{10}$ (intervalle de confiance à 95 % : -0,19 ; -0,07) (Figure 7).

Figure 7 Performances de l'équivalence des matrices entre le plasma EDTA et le sérum



Échec complet du système

Le taux d'échec complet du système pour le test **cobas**® HCV a été déterminé en testant 100 réplicats de plasma EDTA et 100 réplicats de sérum dopés avec la cible VHC. Ces échantillons ont été testés à une concentration cible d'environ 3 x la LoD.

D'après les résultats de cette étude, tous les réplicats étaient valides et positifs pour le VHC. Le taux d'échec complet du système est donc de 0 %. L'intervalle de confiance bilatéral exact à 95 % était de 0 % pour la limite inférieure et de 3,62 % pour la limite supérieure pour chaque matrice [0 % : 3,62 %].

Contamination croisée

Le taux de contamination croisée pour le test **cobas**® HCV a été déterminé en testant 240 réplicats d'un échantillon de plasma EDTA humain normal négatif pour le virus (VIH, VHC et VHB) et 225 réplicats d'un échantillon de VHC de titre élevé à 4,0E+07 UI/mL. Au total, cinq runs ont été exécutés avec des échantillons positifs et négatifs en configuration de damier.

239 des 240 réplicats des échantillons négatifs étaient valides et négatifs, soit un taux de contamination croisée de 0,42 %. L'intervalle de confiance à 95 % bilatéral exact était de 0,01 % pour la limite inférieure et de 2,3 % pour la limite supérieure [0 % : 2,3 %].

Informations supplémentaires

Caractéristiques clés du test

Type d'échantillon	Plasma EDTA, sérum
Quantité d'échantillon minimale requise	650 µL ou 350 µL
Volume de prise d'essai d'échantillon	500 µL ou 200 µL
Sensibilité analytique	15 UI/mL (500 µL) 40 UI/mL (200 µL)
Domaine de linéarité	500 µL : 15 UI/mL – 1,0E+08 UI/mL 200 µL : 40 UI/mL – 1,0E+08 UI/mL
Spécificité	100 % (intervalle de confiance à 95 % unilatéral : 99,5 %)
Génotypes détectés	Génotypes 1 à 6 du VHC

Symboles

Les symboles suivants sont utilisés dans toute la documentation accompagnant les produits de diagnostic par PCR de Roche.

Tableau 25 Symboles utilisés dans l'étiquetage des produits de diagnostic par PCR de Roche

	Logiciel auxiliaire		Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
	Mandataire dans la Communauté européenne		Limite inférieure de la plage assignée
	Fiche technique à codes-barres		Fabricant
	Code du lot		Conserver dans un endroit sombre
	Risques biologiques		Suffisant pour <*n*> tests
	Référence du catalogue		Limites de température
	Consulter les instructions d'utilisation		Fichier de définition de tests
	Contenu du kit		Limite supérieure de la plage assignée
	Distributeur		Date limite d'utilisation
	Pour évaluation de performance IVD uniquement		Code article international
Rx Only	États-Unis : la législation fédérale américaine limite la vente de ce dispositif aux professionnels de santé autorisés à exercer.		Ce produit répond aux exigences de la Directive européenne 98/79/CE concernant les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*.

Assistance technique pour les clients aux États-Unis 1-800-526-1247

Fabricant et distributeurs

Tableau 26 Fabricant et distributeurs

Fabriqué aux États-Unis

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

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

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

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

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

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

Roche Diagnostics
2, Avenue du Vercors
38240 Meylan, France

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

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

Marques commerciales et brevets

Voir http://www.roche-diagnostics.us/patents

Copyright

©2019 Roche Molecular Systems, Inc.

Références

1. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome [Science 1989;244:359-362]. J Hepatol. 2002;36:582-585.
2. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, McQuillan GM, Kuhnert WL, Alter MJ. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. Ann Intern Med. 2006;144:705-714.
3. Rustgi VK. The epidemiology of hepatitis C infection in the United States. J Gastroenterol. 2007;42:513-521.
4. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. N Engl J Med. 2001;345:41-52.
5. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. N Engl J Med. 1998;339(21):1485-92.
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, Hoefs J, Gordon SC, Trepo C, 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;339:1493-1499.
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. Lancet. 2001;358):958-965.
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(13):975-982.
9. Hadziyannis SJ, Sette H, Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. Ann Intern Med. 2004;140:346-355.
10. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; . American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. Hepatology. 2009;49:1335-1374.
11. Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; American Association for the Study of Liver Diseases. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. Hepatology. 2011;54:1433-1444.
12. Poordad F, McCone J Jr., Bacon BR, et al. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. N Engl J Med. 2011;364:1195-1206.
13. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. N Engl J Med. 2011;364:2405-2416.
14. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. N Engl J Med. 2011;364:1207-1217.
15. Zeuzem S, Andreone P, Pol S, t al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. N Engl J Med. 2011;364:2417-2428.
16. Lawitz E, Mangia A, Wyles D, et al. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. N Engl J Med. 2013;368:1878-1887.

17. Jacobson IM, Gordon SC, Kowdley KV, et al. Sofosbuvir for hepatitis C genotype 2 or 3 in patients without treatment options. N Engl J Med. 2013;368:1867-1877.

18. Liang TJ, Ghany MG. Current and future therapies for hepatitis C virus infection. N Engl J Med. 2013;368:1907-1917.

19. Rutter K, Hofer H, Beinhardt S, et al. Durability of SVR in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon-alpha2a/ribavirin in combination with a direct-acting anti-viral. Aliment Pharmacol Ther. 2013;38:118-123.

20. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. Gene. 1990;93:125-128.

21. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. Nature. 1995;373:487-493.

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;80:869-878.

23. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. Biotechnology (NY). 1992;10:413-417.

24. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. Genome Res. 1996;6:986-994.

25. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.

26. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Révision du document

Informations sur la révision du document	
Doc Rev. 3.0 (Mfg-US) 03/2019	Mise à jour de la description des tests de dépistage utilisés pour le dépistage du NHP dans le **Tableau 2**, le **Tableau 3** et la section **Avertissements et précautions**. Ajout du symbole et de la description du symbole Rx Only et mise à jour des descriptions de la page des symboles harmonisés. Mise à jour des avertissements de danger. Veuillez contacter votre représentant local Roche si vous avez des questions.