



Rx Only

cobas[®] HCV

Kvantitativt nukleinsyratest för användning på cobas[®] 6800/8800 Systems

För in vitro-diagnostisk användning

cobas[®] HCV

P/N: 09040765190

cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control KiT

P/N: 09040773190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 09051554190

Innehållsförteckning

Avsedd användning	4
Sammanfattning och förklaring av testet	4
Reagens och material	6
cobas® HCV-reagens och -kontroller	6
cobas omni-reagens för provberedning.....	9
Förvaring och hantering av reagens.....	10
Extramaterial som behövs	11
Instrument och programvara som behövs.....	11
Försiktighetsåtgärder och information om hantering	12
Varningar och säkerhetsåtgärder	12
Reagenshantering	12
God laboratoriesed.....	13
Provtagning, transport och förvaring av prover	13
Prover.....	13
Bruksanvisning	15
Anmärkningar om testet	15
Körning av cobas® HCV	15
Resultat	16
Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten	16
Tolkning av resultat	17
Testets begränsningar	17
Utvärdering av icke-klinisk prestanda	18
Viktiga prestandaegenskaper	18
Detektionsgräns (LoD)	18
Linjärt intervall.....	20
Precision – inom laboratoriet	23
Verifiering av genotyp.....	25

Specificitet.....	27
Analytisk specificitet.....	27
Analytisk specificitet – interfererande substanser.....	28
Metodkorrelation.....	30
Matrisekvivalens – EDTA-plasma jämfört med serum.....	31
Systemfel.....	31
Korskontamination	31
Utvärdering av klinisk prestanda.....	32
Variabilitet mellan loter och reproducerbarhet	32
Variabilitet mellan loter.....	32
Reproducerbarhet.....	35
Jämförelse mellan cobas ® 6800 och cobas ® 8800 Systems – variabilitet mellan loter och reproducerbarhet.....	36
Klinisk användbarhet.....	37
Förutsägelse av svar på antiviral behandling.....	38
Jämförelse mellan cobas ® 6800 och cobas ® 8800 Systems – klinisk användbarhet	40
Diagnostisk användbarhet.....	41
Korsreaktivitet hos personer med icke-HCV-relaterad leversjukdom.....	43
Jämförelse mellan cobas ® 6800 och cobas ® 8800 Systems för diagnos	45
Slutsats	45
Ytterligare information.....	46
Viktiga testegenskaper.....	46
Symboler.....	47
Teknisk support.....	49
Tillverkare och distributörer.....	49
Varumärken och patent.....	49
Copyright.....	49
Referenser.....	50
Revidering av dokumentet.....	52

Avsedd användning

cobas® HCV är ett *in vitro*-test för nukleinsyraamplifiering för både detektion och kvantifiering av hepatit C (HCV) RNA, genotyp 1 till 6, i human EDTA-plasma eller serum från HCV-infekterade personer.

cobas® HCV är avsett som hjälpmedel vid diagnos av HCV-infektion hos följande populationer: personer med evidens på antikroppar mot HCV med evidens på leversjukdom, personer med evidens på antikroppar mot HCV som misstänks vara aktivt infekterade och personer med antikroppar mot HCV som riskerar att drabbas av HCV-infektion. Detektion av HCV-RNA indikerar att viruset replikeras och därför är tecken på en aktiv infektion.

Testet är avsett att användas för hantering av patienter med kronisk HCV-infektion i kombination med kliniska markörer och andra laboriemarkörer för infektion. Testet kan användas för att bedöma sannolikheten för kvarstående virologiskt svar (SVR) i ett tidigt skede i antiviral behandling, och för att bedöma virologiskt svar på antiviral behandling (responsstyrd behandling) mätt i förändringar i HCV RNA-nivåer i serum eller EDTA-plasma. Resultaten måste tolkas med hänsyn till alla relevanta kliniska fynd och laboriefynd.

Sammanfattning och förklaring av testet

Bakgrund

Hepatit C-virus (HCV) betraktas som det huvudsakliga etiologiska agenset som ansvarar för 90 till 95 % av fallen av hepatit i samband med blodtransfusion.¹⁻⁴ HCV är ett enkelsträngat, positivt RNA-virus med ett genom på cirka 9 500 nukleotider som kodar för 3 000 aminosyror. Som blodburet virus kan HCV överföras via blod eller blodprodukter. En utbredd användning av HCV-screeningstest för blod har märkbart minskat risken för transfusionsrelaterad hepatit. Risken för HCV-infektion är störst i samband med intravenöst drogmissbruk och i mindre utsträckning i samband med annan perkutan exponering.⁴

Kvantifiering av HCV-RNA för mätning av baseline-virusmängder och för kontroll under pågående behandling är nu en etablerad metod för att visa effektiviteten av antiviralt svar på kombinationsbehandling med pegylerat interferon och ribavirin (pegIFN/RBV).⁵⁻⁹ I riktlinjerna för hantering och behandling av HCV^{10, 11} rekommenderas kvantitativ testning av HCV-RNA innan antiviral behandling påbörjas, vid angivna tidsintervall under behandling (svarsstyrd behandling) och 12 veckor eller senare efter avslutad behandling.

Målet med behandlingen är avsaknad av detekterbart HCV-RNA i ett sensitivitetstest 12 veckor efter avslutad behandling, vilket indikerar att ett kvarstående virologiskt svar (*Sustained Virologic Response*, SVR) har uppnåtts.¹⁰

Bestämning av den virologiska kinetiken under behandling har använts för att ytterligare individanpassa behandlingens längd med de nyligen godkända direktverkande antivirala medlen (DAAs), proteashämmarna telaprevir och boceprevir.¹²⁻¹⁵

Princip för HCV-testning

Det görs ständigt nya framsteg inom forskningen vad gäller läkemedel för framtida HCV-behandlingar, och i denna dynamiska miljö framstår övervakning av virusmängden som det fortsatt viktigaste laboratorietestet för att bekräfta att SVR har uppnåtts med DAAs, till exempel andra generationens proteashämmare, nukleosidhämmare för HCV-polymeras och andra mekanismer för antivirala åtgärder.^{16–19}

Sammanfattningsvis är **cobas® HCV** för användning på **cobas® 6800/8800 Systems** ett kvantitativt test för HCV-RNA och virologisk kinetik, avsett för användning i laboratorier för kliniska undersökningar och för rutinmässig klinisk behandling av HCV-patienter.

Förklaring av testet

cobas® HCV är ett kvantitativt test som utförs på **cobas® 6800 System** och **cobas® 8800 System**. **cobas® HCV** möjliggör detektion och kvantifiering av HCV-RNA i EDTA-plasma eller serum hos infekterade patienter. Dubbla prover används till att detektera och kvantifiera men inte diskriminera genotyperna 1 till 6. Virusmängden kvantifieras mot en icke-HCV-RNA-kvantifieringsstandard (RNA-QS) som tillsätts i varje prov under provberedningen. RNA-QS fungerar även som en intern kontroll för övervakning av hela provberednings- och PCR-amplifieringsprocessen. Dessutom används tre externa kontroller i testet: en positiv med hög titer, en positiv med låg titer och en negativ kontroll. De högpositiva och lågpositiva externa kontrollerna tillverkas av spädning från stammaterial med en titer som är spårbar till WHO:s internationella standard för HCV. Varje amplifierings-/detektionskit-lot är kalibrerad spårbart till WHO:s internationella standard för HCV.

Användningsprinciper

cobas® HCV är baserat på helt automatisk provberedning (extraktion och rening av nukleinsyra) följt av PCR-amplifiering och detektion. **cobas® 6800/8800 Systems** består av en provinmatningsmodul, överföringsmodul, processmodul och analysmodul. Automatisk datahantering utförs av **cobas® 6800/8800-programmet** som tilldelar testresultat för alla tester enligt följande: mål inte detekterat, < LLoQ (nedre kvantifieringsgräns), > ULoQ (övre kvantifieringsgräns) eller HCV-RNA detekterat, ett värde i det linjära intervallet $LLoQ < x < ULoQ$. Resultaten kan visas direkt i systemfönstret, exporteras eller skrivas ut som en rapport.

Nukleinsyra från patientprover, externa kontroller och tillsatta armored RNA-QS-molekyler extraheras samtidigt. Sammanfattningsvis frisätts virala nukleinsyror genom tillsats av proteinas och lyseringsreagens i provet. Den frisatta nukleinsyran binder till kiselytan på de tillsatta magnetiska glaspartiklarna. Obundna substanser och föroreningar, till exempel denaturerat protein, cellrester och potentiella PCR-hämmare tas bort med efterföljande tvättbuffertsteg, och renad nukleinsyra elueras från de magnetiska glaspartiklarna med hjälp av elueringsbuffert vid förhöjd temperatur.

Selektiv amplifiering av mål-nukleinsyra från patientprovet uppnås genom användning av mål-virusspecifika forward- och reverse-primers som väljs från maximalt konserverade regioner på HCV. Selektiv amplifiering av RNA-QS uppnås genom användning av sekvensspecifika forward- och reverse-primers som väljs för att inte ha någon homologi med HCV-genomet. Ett värmebeständigt DNA-polymerasenzym används för både reverse transcription och PCR-amplifiering. Mål- och RNA-QS-sekvenserna amplifieras samtidigt med hjälp av en universell PCR-amplifieringsprofil med fördefinierade temperatursteg och antal cykler. I master-mixen ingår deoxiuridintrifosfat (dUTP) istället för deoxymidintrifosfat (dTTP), som inkorporerats i det nyligen syntetiserade DNA:t (amplikon).^{20–22} Eventuellt kontaminerande amplikon från tidigare PCR-körningar elimineras med hjälp av AmpErase-enzymet (ingår i PCR-mixen) under det första termocyklingssteget. Nybildade amplikon elimineras dock inte eftersom AmpErase-enzymet inaktiveras när det utsätts för temperaturer över 55 °C.

cobas® HCV-master-mixen innehåller två detektionsprober som är specifika för HCV-målsekvenserna och en som är specifik för RNA-QS. Proberna är märkta med målspecifika fluorescerande reporterfluorokromer som möjliggör samtidig detektion av HCV-mål och RNA-QS i två olika kanaler.^{23,24} Fluorescenssignalen för den intakta proben hämmas av en quencherfluorokrom när den inte är bunden till målsekvensen. Under PCR-amplifieringssteget hybridiserar proberna specifikt till respektive mål på det enkelsträngade DNA:t, vilket resulterar i klyvning med proben genom 5'-till-3'-nukleas-aktiviteten i DNA-polymeraset, vilket i sin tur resulterar i separation av reporter- och quencherfluorokromen och gör att en fluorescenssignal genereras. För varje PCR-cykel genereras ökande mängder klyvda prober, och som en följd av detta ökar den sammanlagda signalen för reporterfluorokromen. Realtidsdetektion och urskiljning av PCR-produkter uppnås genom att mäta fluorescensen i de frisläppta reporterfluorokromerna för de virala målen och RNA-QS.

Reagens och material

cobas® HCV-reagens och -kontroller

Alla öppnade reagens och kontroller ska sparas enligt rekommendationerna i Tabell 1 till Tabell 4.

Tabell 1 cobas® HCV

cobas® HCV Förvaras i 2–8 °C Kassett med 192 tester (P/N 09040765190)		
Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit 192 test
Proteinaslösning (PASE)	Trisbuffert, < 0,05 % EDTA, kalciumklorid, kalciumacetat, 8 % (vikt/volym) proteinas EUH210: Säkerhetsdatablad finns att rekvirera. EUH208: Kan orsaka allergisk reaktion. Innehåller: subtilisin, 9014-01-1	22,3 ml
RNA-kvantifierings- standard (RNA-QS)	Trisbuffert, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % icke-HCV-relaterad armored RNA- konstrukt som innehåller primer- och probspecifika sekvenser (ej infektiöst RNA i MS2-bakteriofag), < 0,1 % natriumazid	21,2 ml
Elueringsbuffert (EB)	Trisbuffert, 0,2 % metyl-4 hydroxybensoat	21,2 ml
Master Mix-reagens 1 (MMX-R1)	Manganacetat, kaliumhydroxid, < 0,1 % natriumazid	7,5 ml
HCV Master Mix- reagens 2 (HCV MMX-R2)	Tricinbuffert, kaliumacetat, 18 % dimetylsulfoxid, glycerol, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP och dUTP, < 0,01 % uppströms- och nedströms-HCV-primers, < 0,01 % forward- och reverse-primers för kvantifieringsstandard, < 0,01 % fluorescensmärkta oligonukleotidprober specifika för HCV och HCV-kvantifieringsstandarden, < 0,01 % oligonukleotid- aptamer, < 0,01 % Z05D DNA-polymeras, < 0,1 % AmpErase-enzym (uracil-N- glykosylas) (mikrobiellt), < 0,1 % natriumazid	9,7 ml

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

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit			
Förvaras i 2–8 °C (P/N 09040773190)			
Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit	Säkerhetssymbol och varning*
HBV/HCV/HIV-1 lågpositiv kontroll (HBV/HCV/HIV-1 L(+))C)	< 0,001 % armored HIV-1 grupp M-RNA inkapslat i MS2-bakteriofagens skalprotein, < 0,001 % syntetiskt (plasmid) HBV-DNA inkapslat i Lambda-bakteriofagens skalprotein, < 0,001 % syntetiskt (armored) HCV-RNA inkapslat i MS2-bakteriofagens skalprotein, normal human plasma, icke-reaktiv enligt licensierade tester för antikropp mot HCV, antikropp mot HIV-1/2, HBsAg, antikropp mot HBc; HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA och HBV-DNA icke detekterbart med PCR-metoder 0,1 % ProClin® 300 konserveringsmedel	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  VARNING H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P261: Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. P273: Undvik utsläpp till miljön. P280: Använd skyddshandskar. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P362 + P364: Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. P501: Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. 55965-84-9 reaktionsmassa av: 5-klor-2-metyl-4-isothiazolin-3-on [EC-nr 247-500-7] och 2-metyl-2H-isothiazol-3-on [EC-nr 220-239-6] (3:1).
HBV/HCV/HIV-1 högpositiv kontroll (HBV/HCV/HIV-1 H(+))C)	< 0,001 % syntetiskt (armored) HIV-1 grupp M-RNA med hög titer inkapslat i MS2-bakteriofagens skalprotein, < 0,001 % syntetiskt (plasmid) HBV-DNA inkapslat i Lambda-bakteriofagens skalprotein, < 0,001 % syntetiskt (armored) HCV-RNA inkapslat i MS2-bakteriofagens skalprotein, normal human plasma, icke-reaktiv enligt licensierade tester för antikropp mot HCV, antikropp mot HIV-1/2, HBsAg, antikropp mot HBc; HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA och HBV-DNA icke detekterbart med PCR-metoder 0,1 % ProClin® 300 konserveringsmedel	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  VARNING H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. P261: Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. P272: Nedstänkta arbetskläder får inte avlägsnas från arbetsplatsen. P280: Använd skyddshandskar. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P362 + P364: Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. P501: Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. 55965-84-9 reaktionsmassa av: 5-klor-2-metyl-4-isothiazolin-3-on [EC-nr 247-500-7] och 2-metyl-2H-isothiazol-3-on [EC-nr 220-239-6] (3:1).

* Produktsäkerhetsmärkningen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

Tabell 3 cobas® NHP Negative Control Kit

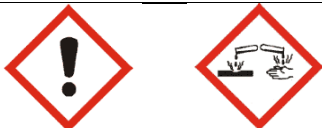
cobas® NHP Negative Control Kit			
Förvaras i 2–8 °C (P/N 09051554190)			
Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit	Säkerhetssymbol och varning*
Negativ kontroll, normal human plasma (NHP-NC)	Normal human plasma, icke-reaktiv enligt licensierade tester för antikropp mot HCV, antikropp mot HIV-1/2, HBsAg, antikropp mot HBc; HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA och HBV-DNA icke detekterbart med PCR-metoder < 0,1 % ProClin® 300 konserveringsmedel**	16 ml (16 × 1 ml)	  VARNING H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. P261: Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. P272: Nedstänkta arbetskläder får inte avlägsnas från arbetsplatsen. P280: Använd skyddshandskar. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P362 + P364: Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. P501: Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. 55965-84-9 reaktionsmassa av: 5-klor-2-metyl-4-isothiazolin-3-on [EC-nr 247-500-7] och 2-metyl-2H-isothiazol-3-on [EC-nr 220-239-6] (3:1).

* Produktsäkerhetsmärkningsen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

** Farlig substans.

cobas omni-reagens för provberedning

Tabell 4 cobas omni-reagens för provberedning*

Reagens	Reagensingredienser	Kvantitet per kit	Säkerhetssymbol och varning**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Förvaras i 2–8 °C (P/N 06997546190)	Magnetiska glaspartiklar, Trisbuffert, 0,1 % metyl-4 hydroxybensoat, < 0,1 % natriumazid	480 test	Ej tillämpligt
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Förvaras i 2–8 °C (P/N 06997511190)	Trisbuffert, 0,1 % metyl-4 hydroxybensoat, < 0,1 % natriumazid	4 × 875 ml	Ej tillämpligt
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Förvaras i 2–8 °C (P/N 06997538190)	43 % (vikt/vikt) guanidintiocyanat***, 5 % (vikt/volym) polydokanol***, 2 % (vikt/volym) ditiotreitol, natriumdivätecitrat	4 × 875 ml	 FARA H302 + H332: Skadligt vid förtäring eller vid inandning. H314: Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. EUH032: Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra. P261: Undvik att andas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. P273: Undvik utsläpp till miljön. P280: Använd skyddsglasögon/ansiktsskydd. P303 + P361 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten. P304 + P340 + P310: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P305 + P351 + P338: + P310: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. 593-84-0 Guanidintiocyanat 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-ditioerytritol
cobas omni Wash Reagent (WASH) Förvaras i 15–30 °C (P/N 06997503190)	Natriumcitrat-dihydrat, 0,1 % metyl-4 hydroxybensoat	4,2 l	Ej tillämpligt

* Dessa reagens ingår inte i cobas® HCV-testkitet. Se lista med ytterligare material som behövs (Tabell 7).

** Produktsäkerhetsmärkningen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

*** Farlig substans.

Förvaring och hantering av reagens

Reagens ska förvaras och hanteras enligt specifikationerna i Tabell 5 och Tabell 6.

När reagensen inte är laddade i cobas® 6800/8800 Systems ska de förvaras i den temperatur som anges i Tabell 5.

Tabell 5 Förvaring av reagens (när reagenset inte är i systemet)

Reagens	Förvaringstemperatur
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

Reagens som laddas i cobas® 6800/8800 Systems förvaras i rätt temperatur och deras utgångsdatum övervakas av systemet. cobas® 6800/8800 Systems tillåter endast att reagens används om alla villkor som anges i Tabell 6 är uppfyllda. Systemet förhindrar automatiskt användning av reagens som har passerat utgångsdatum. Tabell 6 visar de villkor för hantering av reagens som upprätthålls av cobas® 6800/8800 Systems.

Tabell 6 Villkor för hållbarhet för reagens som upprätthålls av cobas® 6800/8800 Systems

Reagens	Utgångsdatum för kitet	Hållbarhet i öppnat kit	Antal körningar som kitet kan användas	Hållbarhet i instrumentet (sammanlagd tid i instrumentet utanför kylskåp)
cobas® HCV	Datumet har inte passerats	90 dagar från första användning	Max 40 körningar	Max 40 timmar
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Datumet har inte passerats	Ej tillämpligt ^a	Ej tillämpligt	Max 8 timmar
cobas® NHP Negative Control Kit	Datumet har inte passerats	Ej tillämpligt ^a	Ej tillämpligt	Max 10 timmar
cobas omni Lysis Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni MGP Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Specimen Diluent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Wash Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt

^a Reagens för engångsbruk

* Tiden mäts från första gången reagenset laddas i cobas® 6800/8800 Systems.

Extramaterial som behövs

Tabell 7 Material och förbrukningsartiklar för användning på **cobas®** 6800/8800 Systems

Material	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
Påse för fast avfall och behållare för fast avfall eller Påse för fast avfall med insats och kit-låda	07435967001 och 07094361001 eller 08030073001 och 08387281001

Instrument och programvara som behövs

cobas® 6800/8800-programmet och **cobas®** HCV-analyspaketet måste installeras på instrumentet/instrumenten. IG-servern (Instrument Gateway) medföljer systemet.

Tabell 8 Instrument

Utrustning	P/N
cobas® 6800 System (flyttbart alternativ)	05524245001 och 06379672001
cobas® 6800 System (fast plattform)	05524245001 och 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Provinmatningsmodul	06301037001

Mer information finns i användarassistansen till **cobas®** 6800/8800 Systems och/eller i användarhandboken.

Obs! Kontakta Roche kundsupport om du vill ha en detaljerad beställningslista över provrack, rack för igensatta spetsar och rackbrickor som kan användas på instrumenten.

Försiktighetsåtgärder och information om hantering

Varningar och säkerhetsåtgärder

Liksom för alla testmetoder är det mycket viktigt att använda god laboratoriesed för att denna analys ska fungera korrekt. Med hänsyn till testets höga sensitivitet är noggrann hantering nödvändig så att reagens- och amplifieringsblandningarna hålls rena.

- Endast för *in vitro*-diagnostisk användning.
- **cobas® HCV** har inte utvärderats för användning som ett screeningtest för förekomst av HCV i blod eller blodprodukter.
- Alla patientprover ska hanteras som smittbärande material i enlighet med säkra laboratorierutiner som beskrivs i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories och i CLSI-dokumentet M29-A4.^{25, 26} Endast personal som har erfarenhet av att hantera smittbärande material och att använda **cobas® HCV** och **cobas® 6800/8800 Systems** får utföra denna procedur.
- Allt material av humant ursprung ska betraktas som potentiellt smittbärande och hanteras enligt allmänna säkerhetsföreskrifter. Om spill sker, desinficera omedelbart med en färsk lösning bestående av natriumhypoklorit 0,5 % i destillerat eller avjoniserat vatten (hushållsblekmedel utspädd 1:10) eller följ de lokala rutinerna.
- **cobas® HBV/HCV/HIV-1-kontrollkitet** och **cobas® NHP negativ kontroll-kitet** innehåller plasma som härstammar från humant blod. Källmaterialet har testats med licensierade antikroppstester och befunnits icke-reaktivt för antikropp mot HCV, antikropp mot HIV-1/2, HBsAg och antikropp mot HBc. Testning av normal human plasma med PCR-metoder visade inte något detekterbart HIV-1-RNA (grupperna M och O), HIV-2-RNA, HCV-RNA och HBV-DNA.

Det finns inga testmetoder som garanterar att produkter från humant blod inte kan överföra smitta.

- **Frys inte helblod eller prover som sparas i primärrör.**
- Använd endast de förbrukningsartiklar som medföljer eller efterfrågas för att säkerställa optimal testprestanda.
- Säkerhetsdatablad (SDS) erhålls på begäran från närmaste Roche-representant.
- Följ noga de rutiner och riktlinjer som medföljer för att säkerställa att testet utförs korrekt. Avvikelse från rutinerna och riktlinjerna kan göra att testets prestanda inte blir optimal.
- Falskt positiva resultat kan förekomma om kontrollen av carryover av prover är otillräcklig vid provhantering och -bearbetning.
- Använd inte provvolymen 200 µl om den förväntade virusmängden är < 100 IU/ml.
- Informera berörd lokal myndighet om eventuella allvarliga incidenter som inträffar när du använder den här analysen.

Reagenshantering

- Hantera alla reagens, kontroller och prover enligt god laboratoriesed för att förhindra carryover av prover eller kontroller.
- Kontrollera varje reagenskassett, spädningslösning, lyseringsreagens och tvättreagens före användning och försäkra dig om att det inte finns tecken på läckage. Använd inte material om det finns tecken på läckage.
- **cobas omni Lysis Reagent** innehåller guanidintiocyanat, en potentiellt farlig kemikalie. Undvik att reagens kommer i kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Tvätta omedelbart med rikliga mängder vatten vid eventuell kontakt. Brännskador kan annars uppstå.

- **cobas® HCV-kit**, **cobas omni MGP Reagent** och **cobas omni Specimen Diluent** innehåller natriumazid som konserveringsmedel. Undvik att reagens kommer i kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Tvätta omedelbart med rikliga mängder vatten vid eventuell kontakt. Brännskador kan annars uppstå. Vid spill av dessa reagens, späd med vatten innan spillet torkas upp.
- Låt inte **cobas omni Lysis Reagent**, som innehåller guanidintiocyanat, komma i kontakt med natriumhypoklorit-lösning (blekmedel). Denna blandning kan bilda en mycket giftig gas.
- Kassera allt material som har kommit i kontakt med prover och reagens enligt gällande nationella, regionala och lokala föreskrifter.

God laboratoriesed

- Pipettera inte med munnen.
- Ät, drick eller rök inte i laboratoriet.
- Använd laboratoriehandskar, laboratorierock och ögonskydd när du hanterar prover och reagens. Handskar ska bytas mellan hantering av prover och **cobas® HCV-kit** och **cobas omni**-reagens för att förhindra kontaminering. Undvik att förorena handskarna när du hanterar prover och kontroller.
- Tvätta händerna noga efter hantering av prover och kitets reagens, och efter att du har tagit av dig handskarna.
- Rengör och desinficera noga alla arbetsytor i laboratoriet med en nyberedd lösning bestående av 0,5 % natriumhypoklorit i destillerat eller avjoniserat vatten (hushållsblekmedel utspädd 1:10). Torka därefter av ytan med 70-procentig etanol.
- Om spill förekommer på **cobas® 6800/8800**-instrumentet ska anvisningarna i användarassistansen och/eller användarhandboken till **cobas® 6800/8800 Systems** följas för att rengöra och dekontaminera ytan på instrumentet på rätt sätt.

Provtagning, transport och förvaring av prover

Obs! Hantera alla prover och kontroller som potentiellt smittbärande.

Förvara alla prover vid de angivna temperaturerna.

Provernans hållbarhet påverkas vid förhöjda temperaturer.

Om du använder frusna prover i sekundärrör placerar du proverna i rumstemperatur (15–30 °C) tills de är helt tinade, och sedan blandar du dem en kort stund (t.ex. genom att vortexa 3–5 sekunder) och centrifugerar dem för att samla hela provvolymen i botten av röret.

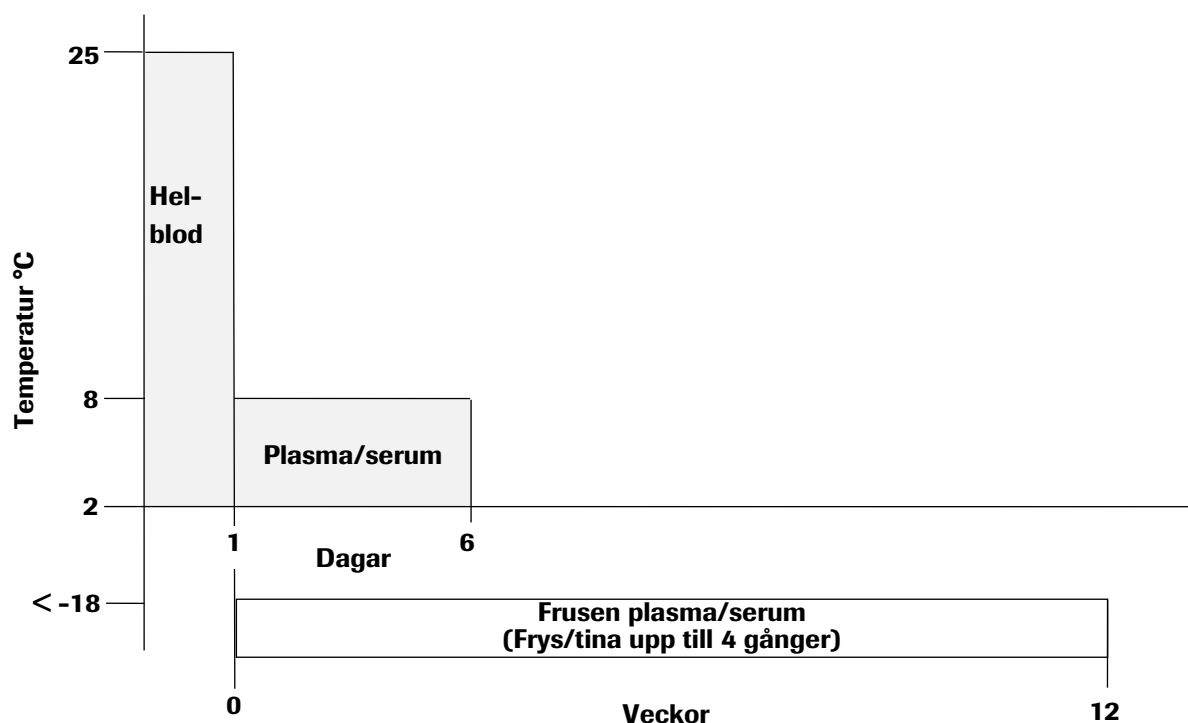
Prover

Blod ska samlas upp i SST™-serumseparationsrör, BD Vacutainer® PPT™-plasmapreparationsrör för molekyldiagnostiska testmetoder eller i sterila rör med EDTA som antikoagulant. Följ provrörstillverkarens instruktioner.

- Helblod som samlats in i SST™-serumseparationsrör, BD Vacutainer® PPT™-plasmapreparationsrör för molekyldiagnostiska testmetoder eller i sterila rör med EDTA som antikoagulant kan förvaras och/eller transporteras i upp till 24 timmar i 2 °C till 25 °C innan plasma-/serumpreparation. Centrifugering ska utföras enligt tillverkarens instruktioner.
- Efter separation kan EDTA-plasmaprover eller serumprover förvaras i sekundärrör upp till 6 dagar i 2 °C till 8 °C eller i upp till 12 veckor i ≤ –18 °C. Vid längre förvaring rekommenderas temperaturer på ≤ –60 °C.
- Plasma-/serumprover är hållbara i upp till fyra frys/tiningscykler om de fryses i ≤ –18 °C.

- Se till att tillräcklig mängd helblod samlas in för att den bearbetningsvolym om 500 µl som är att föredra för EDTA-plasma och serum ska kunna användas (för den sammanlagda minimi-provvolym som krävs om 650 µl), om det är möjligt.
- Om prover ska transporteras ska de förpackas och etiketteras i enlighet med nationella och/eller internationella föreskrifter för transport av prover och etiologiska agens.

Bild 1 Villkor för provförvaring



Bruksanvisning

Anmärkningar om testet

- Använd inte **cobas®** HCV-testreagens, **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, **cobas®** NHP Negative Control Kit eller **cobas omni**-reagens efter utgångsdatum.
- Återanvänd inte förbrukningsartiklar. De är endast avsedda för engångsbruk.
- I användarassistansen och/eller användarhandboken till **cobas®** 6800/8800 Systems finns instruktioner om hur underhåll av instrumenten ska utföras.

Körning av cobas® HCV

Vid körning av **cobas®** HCV finns två provvolymmer att välja mellan: 350 µl (för provarbetsflödet med 200 µl) och 650 µl (för provarbetsflödet med 500 µl). En detaljerad beskrivning av testproceduren finns i användarassistansen och/eller användarhandboken till **cobas®** 6800/8800 Systems. Bild 2 sammanfattar proceduren nedan.

- **Obs! Använd inte provarbetsflödet med 200 µl om den förväntade virusmängden är ≤ 100 IU/ml. Tillräcklig mängd blod ska samlas in för att den bearbetningsvolym om 500 µl som är att föredra för EDTA-plasma och serum ska kunna användas (för den sammanlagda minimi-provvolym som krävs om 650 µl).**

Bild 2 **cobas®** HCV-testprocedur

1	Logga in i systemet Tryck på Start för att förbereda systemet Beställ tester
2	Fyll på reagens och förbrukningsartiklar vid uppmaning från systemet • Ladda testspecifik reagenskassett • Ladda kontrollkassetter • Ladda pipettspetsar • Ladda processplattor • Ladda MGP-reagens • Ladda amplifieringsplattor • Fyll på spädningsbuffert • Fyll på lyseringsreagens • Fyll på tvättreagens
3	Ladda prover i systemet • Ladda provrack och racket för igensatta spetsar på provinmatningsmodulen • Bekräfta att proverna har tagits emot i överföringsmodulen
4	Starta körningen genom att trycka på knappen "Start manually" (Starta manuellt) i användargränssnittet eller låt körningen starta automatiskt efter 120 minuter eller om provomgången är full
5	Granska och exportera resultat
6	Förslut alla provrör som uppfyller kraven för minimivolymer för framtida användning om det behövs Gör i ordning instrumentet • Mata ut tomma kontrollkassetter • Töm lådan för amplifieringsplattan • Töm vätskeavfallet • Töm det fasta avfallet

Resultat

cobas® 6800/8800 Systems fastställer automatiskt HCV-RNA-koncentrationen för proverna och kontrollerna. HCV-RNA-koncentrationen uttrycks i internationella enheter per milliliter (IU/ml).

Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten

- En negativ kontroll [(-) C] och två positiva kontroller och en lågpositiv kontroll [HCV L(+)C] och en högpositiv kontroll [HCV H(+)C] bearbetas i varje provomgång.
- Kontrollera om det finns flaggor till resultaten i cobas® 6800/8800-programmet och/eller i rapporten för att säkerställa giltigheten för provomgången.
- Provomgången är giltig om inga flaggor visas för samtliga tre kontroller, vilket inkluderar en negativ kontroll och två positiva kontroller: HCV L(+)C, HCV H(+)C. Resultatet för den negativa kontrollen visas som (-) C och den lågpositiva och högpositiva kontrollen visas som HxV L(+)C och HxV H(+)C.

Ogiltigförklarande av resultat utförs automatiskt av cobas® 6800/8800-programmet baserat på misslyckade negativa och positiva kontroller.

Kontrollflaggor

Tabell 9 Kontrollflaggor för negativa och positiva kontroller

Negativ kontroll	Flagga	Resultat	Betydelse
(-) C	Q02 (Misslyckad kontrollbatch)	Ogiltig	Ett ogiltigt resultat eller det beräknade titerresultatet för den negativa kontrollen är inte negativt.
Positiv kontroll	Flagga	Resultat	Betydelse
HxV L(+)C	Q02 (Misslyckad kontrollbatch)	Ogiltig	Ett ogiltigt resultat eller det beräknade titerresultatet för den lågpositiva kontrollen ligger inte inom det tilldelade intervallet.
HxV H(+)C	Q02 (Misslyckad kontrollbatch)	Ogiltig	Ett ogiltigt resultat eller det beräknade titerresultatet för den högpositiva kontrollen ligger inte inom det tilldelade intervallet.

Om omgången är ogiltig måste du upprepa testningen av hela omgången inklusive prover och kontroller.

HxV L(+)C står för cobas® HBV/HCV/HIV-1 lågpositiv kontroll och HxV H(+)C står för cobas® HBV/HCV/HIV-1 högpositiv kontroll i cobas® 6800/8800-programmet.

Tolkning av resultat

För en giltig omgång ska varje enskilt prov kontrolleras avseende flaggor i **cobas**® 6800/8800-programmet och/eller i rapporten. Tolkningen av resultaten ska göras på följande sätt:

- En giltig omgång kan innehålla både giltiga och ogiltiga provresultat.

Tabell 10 Tolkning av enskilda målresultat

Resultat	Betydelse
Target Not Detected	HCV-RNA inte detekterat. Rapportera resultat som "HCV not detected".
< Titer Min	Beräknad titer ligger under analysens nedre kvantifieringsgräns (LLoQ). Rapportera resultat som "HCV detected, less than (Titer Min)". Titer min = 15 IU/ml (500 µl) Titer min = 40 IU/ml (200 µl)
Titer	Beräknad titer ligger inom analysens linjära intervall – större än eller lika stor som Titer Min och mindre än eller lika stor som Titer Max. Rapportera resultat som "(Titer) of HCV detected".
> Titer Max ^a	Beräknad titer ligger över analysens övre kvantifieringsgräns (ULoQ). Rapportera resultat som "HCV detected, greater than (Titer Max)". Titer max = 1,00E+08 IU/ml (500 µl och 200 µl)

^a Provresultat > Titer Max hänvisar till HCV-positiva prover som detekterats med titrar över analysens övre kvantifieringsgräns (ULoQ). Om ett kvantitativt resultat önskas ska det ursprungliga provet spädas med HCV-negativ EDTA-plasma eller serum, beroende på det ursprungliga provets typ, och testet upprepas. Multiplicera det rapporterade resultatet med spädningsfaktorn.

Testets begränsningar

- **cobas**® HCV har endast validerats för användning tillsammans med **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, **cobas**® NHP Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent och **cobas omni** Wash Reagent för användning på **cobas**® 6800/8800 Systems.
- Tillförlitliga resultat förutsätter rätt provtagning, förvaring och hantering av prover.
- Detta test har endast validerats för användning med EDTA-plasma och serum. Testning av andra provtyper kan resultera i felaktiga resultat.
- Kvantifiering av HCV-RNA är beroende av antalet viruspartiklar i provet och kan påverkas av provtagningsmetoder, patientfaktorer (dvs. ålder, förekomst av symptom) och/eller infektionsstadium.
- I sällsynta fall kan mutationer inom de maximalt konserverade regionerna på ett virusgenom som täcks in av **cobas**® HCV påverka primer- och/eller probbindning, vilket resulterar i för låg kvantifiering av virus eller misslyckad detektering av förekomst av virus.
- På grund av inneboende skillnader mellan metoder rekommenderas användaren, innan en metod byts ut mot en annan, att genomföra metodkorrelationsanalyser i laboratoriet för att bestämma skillnaderna mellan metoderna. Användarna ska följa sina egna specifika regler och procedurer.
- **cobas**® HCV är inte avsett för användning som ett screeningtest för förekomst av HCV i blod eller blodprodukter.

Utvärdering av icke-klinisk prestanda

Viktiga prestandaegenskaper

Detektionsgräns (LoD)

WHO:s internationella standard

Detektionsgränsen för **cobas**® HCV fastställdes genom analys av seriella spädningar av WHO:s internationella standard för hepatitis C-virus-RNA för NAT-testning (Nucleic Acid Amplification Technology, WHO:s fjärde internationella standard), genotyp 1a, erhållet från National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC), i HCV-negativ human EDTA-plasma och serum med provbearbetningsvolymerna på 500 µl och 200 µl. Minsta provvolym som krävdes för bearbetning av **cobas**® 6800/8800 Systems var 650 µl respektive 350 µl. Paneler med sex koncentrationsnivåer plus ett negativt prov testades med provbearbetningsvolymen 500 µl och sju koncentrationsnivåer testades med provbearbetningsvolymen 200 µl, med tre loter av **cobas**® HCV-testreagens, under flera körningar och dagar och med olika användare och instrument.

Resultaten för EDTA-plasma och serum från båda provbearbetningsvolymerna visas i Tabell 11 till Tabell 14. Studien visar att **cobas**® HCV detekterade HCV-RNA vid en koncentration på 8,46 IU/ml med ett 95-procentigt konfidensintervall för 7,50–9,79 IU/ml med provbearbetningsvolymen 500 µl i EDTA-plasma, och vid en koncentration på 9,61 IU/ml med ett 95-procentigt konfidensintervall för 8,70–10,95 IU/ml med provbearbetningsvolymen 500 µl i serum. Studien visade att **cobas**® HCV detekterade HCV-RNA vid en koncentration på 24,93 IU/ml med ett 95-procentigt konfidensintervall för 22,51–28,35 IU/ml med provbearbetningsvolymen 200 µl i EDTA-plasma, och vid en koncentration på 33,25 IU/ml med ett 95-procentigt konfidensintervall för 29,94–37,94 IU/ml med provbearbetningsvolymen 200 µl i serum. Skillnaden mellan EDTA-plasma och serum med provbearbetningsvolymerna på 500 µl och 200 µl var inte statistiskt signifikant.

Tabell 11 Detektionsgräns i EDTA-plasma (500 µl)

Input-koncentration för titer (HCV-RNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i %
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
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet	8,46 IU/ml 95 % konfidensintervall: 7,50–9,79 IU/ml		

* Prover bekräftade som negativa via alternativa analysmetoder.

Tabell 12 Detektionsgräns i serum (500 µl)

Input-koncentration för titer (HCV-RNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i %
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
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet	9,61 IU/ml 95 % konfidensintervall: 8,70–10,95 IU/ml		

Tabell 13 Detektionsgräns i EDTA-plasma (200 µl)

Input-koncentration för titer (HCV-RNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i %
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
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet	24,93 IU/ml 95 % konfidensintervall: 22,51–28,35 IU/ml		

* Prover bekräftade som negativa via alternativa analysmetoder.

Tabell 14 Detektionsgräns i serum (200 µl)

Input-koncentration för titer (HCV-RNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i %
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
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet	33,25 IU/ml 95 % konfidensintervall: 29,94–37,94 IU/ml		

Linjärt intervall

Studien av linjäritet för **cobas®** HCV utfördes med hjälp av en spädningsserie som bestod av 16 panelprover som omfattade det linjära intervallet för den dominerande genotypen (GT 1). Panelprover med hög titer preparerades från en armored RNA-stam (arRNA) med hög titer, medan panelprover med låg titer preparerades från ett kliniskt prov. Linjäritetspanelen utformades så att den hade en ungefärlig överlappning om 2 $\log_{10}$ titer mellan de två materialkällorna. Det förväntade linjära intervallet för **cobas®** HCV är från LLoQ (15 IU/ml i 500 μ l bearbetningsvolym och 40 IU/ml i 200 μ l bearbetningsvolym) till ULoQ (1,00E+08 IU/ml i båda bearbetningsvolymerna). Linjäritetspanelen utformades för ett intervall från en koncentration lägre än LLoQ (till exempel 7,5 IU/ml) till en koncentrationsnivå högre än ULoQ (till exempel 2,0E+08 IU/ml), och för att inkludera medicinska beslutspunkter. Dessutom utformades linjäritetspanelen för att delvis stödja steg om 1,0 $\log_{10}$ genom det linjära intervallet. För varje panelprov var den nominella koncentrationen i IU/ml och källan för HCV-RNA kända.

Med provbearbetningsvolymen 500 μ l är **cobas®** HCV linjärt för EDTA-plasma och serum från 15 IU/ml till 1,00E+08 IU/ml och visar en absolut avvikelse från den bättre passande icke-linjära regressionen på mindre än $\pm 0,24 \log_{10}$. Över hela det linjära intervallet var noggrannheten för testet inom $\pm 0,24 \log_{10}$.

Med provbearbetningsvolymen 200 μ l är **cobas®** HCV linjärt för EDTA-plasma och serum från 40 IU/ml till 1,00E+08 IU/ml och visar en absolut avvikelse från den bättre passande icke-linjära regressionen på mindre än $\pm 0,24 \log_{10}$. Över hela det linjära intervallet var noggrannheten för testet inom $\pm 0,24 \log_{10}$ i plasma och $\pm 0,27 \log_{10}$ i serum.

I Bild 3 till Bild 6 visas representativa resultat.

Bild 3 Linjäritet i EDTA-plasma (500 μ l)

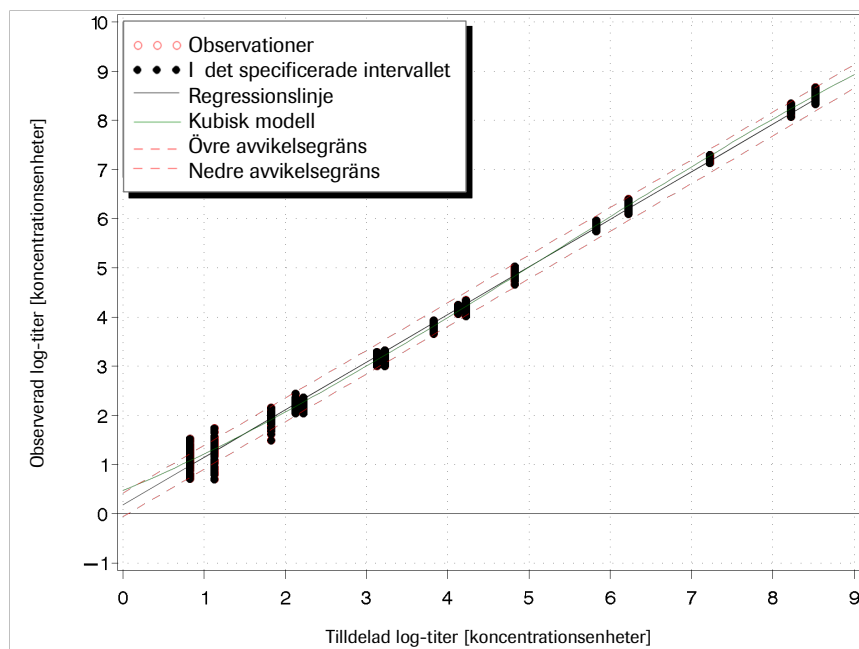


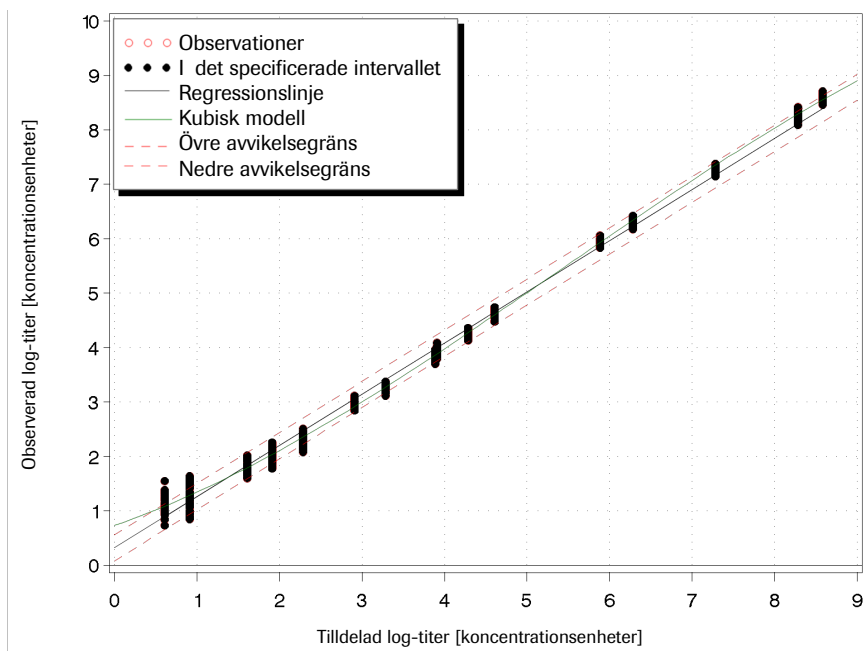
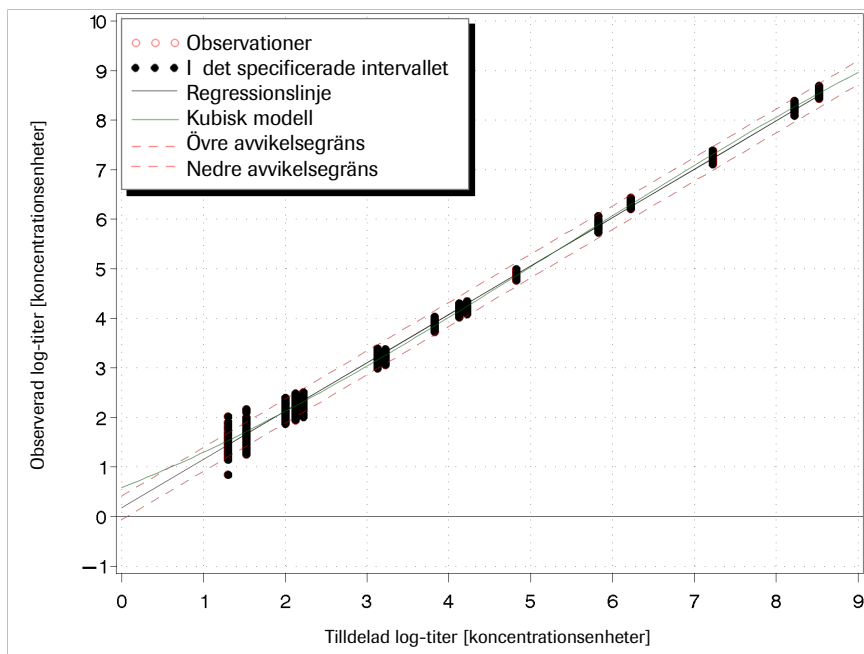
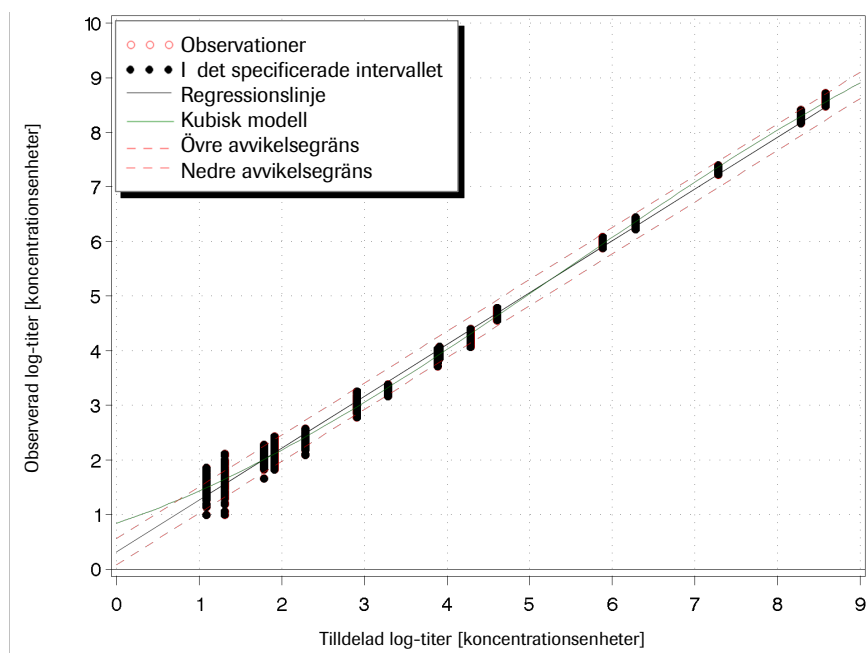
Bild 4 Linjäritet i serum (500 µl)**Bild 5** Linjäritet i EDTA-plasma (200 µl)

Bild 6 Linjäritet i serum (200 µl)

Precision – inom laboratoriet

Precisionen för **cobas**® HCV bestämdes genom analys av seriella spädningar av kliniska HCV-prover (genotyp 1) eller av armored RNA-HCV i HCV-negativ EDTA-plasma eller i serum. Här testades 13 spädningsnivåer i plasma och 12 nivåer testades i serum i 2 replikat för varje nivå i 2 körningar under 12 dagar vilket resulterade i totalt 48 replikat per koncentration. Varje prov genomgick hela **cobas**® HCV-testproceduren på det helt automatiska **cobas**® 6800/8800 Systems. Därför representerar den precision som anges här alla aspekter av testproceduren. Studien genomfördes med tre loter av **cobas**® HCV-testreagens. Resultaten visas i Tabell 15 till Tabell 18.

cobas® HCV visade hög precision för tre reagensloter som testades i ett koncentrationsintervall från 1,00E+01 IU/ml till 1,0E+07 IU/ml med 500 µl provbearbetningsvolym och 2,50E+01 IU/ml till 1,0E+07 IU/ml med 200 µl provbearbetningsvolym.

Tabell 15 Precision inom laboratoriet för **cobas**® HCV (EDTA-plasmaprover – provbearbetningsvolym 500 µl)*

Nominell koncentration (IU/ml)	Tilldelad koncentration (IU/ml)	Källmaterial	EDTA-plasma			
			Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alla loter
			SD	SD	SD	Poolad SD
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	Kliniska prover	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	Kliniska prover	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	Kliniska prover	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	Kliniska prover	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	Kliniska prover	0,09	0,17	0,10	0,13
1,00E+01	1,34E+01	Kliniska prover	0,26	0,21	0,13	0,21

* Titerdata anses ha fördelats log-normalt och analyseras efter omvandling enligt log₁₀. I kolumnerna för standardavvikelse (SD) visas totalvärdet för den log-omvandlade titern för var och en av de tre reagensloterna.

Tabell 16 Precision inom laboratoriet för cobas® HCV (serumprover – provbearbetningsvolym 500 µl)*

Nominell koncentration (IU/ml)	Tilldelad koncentration (IU/ml)	Källmaterial	Serum			
			Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alla loter
			SD	SD	SD	Poolad SD
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	Kliniska prover	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	Kliniska prover	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	Kliniska prover	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	Kliniska prover	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	Kliniska prover	0,09	0,14	0,18	0,14

* Titerdata anses ha fördelats log-normalt och analyseras efter omvandling enligt log₁₀. I kolumnerna för standardavvikelse (SD) visas totalvärdet för den log-omvandlade titern för var och en av de tre reagensloterna.

Tabell 17 Precision inom laboratoriet för cobas® HCV (EDTA-plasma – provbearbetningsvolym 200 µl)*

Nominell koncentration (IU/ml)	Tilldelad koncentration (IU/ml)	Källmaterial	EDTA-plasma			
			Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alla loter
			SD	SD	SD	Poolad SD
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	Kliniska prover	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	Kliniska prover	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	Kliniska prover	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	Kliniska prover	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	Kliniska prover	0,15	0,12	0,11	0,13
2,50E+01	3,34E+01	Kliniska prover	0,19	0,20	0,22	0,21

* Titerdata anses ha fördelats log-normalt och analyseras efter omvandling enligt log₁₀. I kolumnerna för standardavvikelse (SD) visas totalvärdet för den log-omvandlade titern för var och en av de tre reagensloterna.

Tabell 18 Precision inom laboratoriet för **cobas®** HCV (serum – provbearbetningsvolym 200 µl)*

Nominell koncentration (IU/ml)	Tilldelad koncentration (IU/ml)	Källmaterial	Serum			
			Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alla loter
			SD	SD	SD	Poolad SD
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	Kliniska prover	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	Kliniska prover	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	Kliniska prover	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	Kliniska prover	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	Kliniska prover	0,11	0,16	0,12	0,13

* Titerdata anses ha fördelats log-normalt och analyseras efter omvandling enligt $\log_{10}$. I kolumnerna för standardavvikelse (SD) visas totalvärdet för den log-omvandlade titern för var och en av de tre reagensloterna.

Verifiering av genotyp

Prestandan för **cobas®** HCV på HCV-genotyper utvärderades genom:

- Bestämning av detektionsgränsen för genotyperna 1b till 6 testades i 500 µl provbearbetningsvolym.
- Verifiering av detektionsgränsen för genotyperna 1b till 6 testades i 200 µl provbearbetningsvolym.
- Verifiering av linjäriteten för genotyp 2 till 6.

Detektionsgräns för genotyp 1b till 6

Detektionsgränsen för **cobas®** HCV för genotyperna 1b till 6 fastställdes genom analys av seriella spädningar från varje genotyp, i HCV-negativ human EDTA-plasma och serum med provbearbetningsvolymen om 500 µl. Paneler med sex koncentrationsnivåer plus ett negativt prov testades med tre loter av **cobas®** HCV-testreagens under flera körningar och dagar och med olika användare och instrument.

Resultaten för EDTA-plasma och serum för provbearbetningsvolymen 500 µl visas i Tabell 19 respektive Tabell 20. Studien visar att **cobas®** HCV detekterade alla HCV-genotyper som testades med en liknande LoD som HCV-genotyp 1a.

Tabell 19 Detektionsgräns för HCV-RNA-genotyp i EDTA-plasma (500 µl)

Genotyp	95 % LoD med Probit	95-procentigt konfidensintervall
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

Tabell 20 Detektionsgräns för HCV-RNA-genotyp i serum (500 µl)

Genotyp	95 % LoD med Probit	95-procentigt konfidensintervall
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

Verifiering av detektionsgräns för genotyp 1b till 6

Kliniska HCV-RNA-prover för sex olika genotyper (1b, 2, 3, 4, 5, 6) späddes till tre olika koncentrationsnivåer i EDTA-plasma och serum. Bestämning av träffsannolikheten utfördes med 63 replikat för varje nivå. Testningen utfördes med tre loter av cobas® HCV-reagens. Resultaten från EDTA-plasma och serum med 200 µl visas i Tabell 21 och Tabell 22. De här resultaten bekräftar att cobas® HCV detekterade HCV-RNA för de sex olika genotyperna vid koncentrationer på 33 IU/ml med en träffsannolikhet på $\geq 90,5$ %, med ett övre ensidigt 95-procentigt konfidensintervall om $\geq 95,8$ %.

Tabell 21 Verifiering av detektionsgräns för HCV-RNA-genotyp i EDTA-plasma (200 µl)

Genotyp	17,5 IU/ml			33 IU/ml			50 IU/ml		
	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i % (95 % CI*)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i % (95 % CI*)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i % (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

* Övre ensidigt 95 % konfidensintervall

Tabell 22 Verifiering av detektionsgräns för HCV-RNA-genotyp i serum (200 µl)

Genotyp	17,5 IU/ml			33 IU/ml			50 IU/ml		
	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i % (95 % CI*)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i % (95 % CI*)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i % (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

* Övre ensidigt 95 % konfidensintervall

Linjäriteten för genotyp 2 till 6

Spädningsserierna som användes i studien för verifiering av linjäritet för genotyper i **cobas**® HCV består av nio panelprover som täckte in det avsedda linjära intervallet. Panelprover med hög titer preparerades från en arRNA-stam med hög titer, medan panelprover med låg titer preparerades från ett kliniskt prov med hög titer. Linjäritetspanelen utformades så att den hade en ungefärlig överlappning om 2 log₁₀ titer mellan de två materialkällorna. Det linjära intervallet för **cobas**® HCV sträckte sig från LLoQ (15 IU/ml för en provbearbetningsvolym om 500 µl, 40 IU/ml för en bearbetningsvolym om 200 µl) till ULoQ (1,00E+08 IU/ml för båda bearbetningsvolymerna) och inkluderade minst en medicinsk beslutspunkt. Testningen utfördes med tre loter av **cobas**® HCV-reagens, där 15 replikat per nivå testades i EDTA-plasma.

Linjäriteten inom det linjära intervallet för **cobas**® HCV verifierades för alla fem genotyperna (2, 3, 4, 5 och 6). Den maximala avvikelser mellan den linjära regressionen och den bättre passande icke-linjära regressionen var lika stor som eller mindre än 0,24 log₁₀.

Specifitet

Specifiteten för **cobas**® HCV bestämdes genom analys av HCV-negativa EDTA-plasmaprover och serumprover från enskilda blodgivare. Här testades 300 enskilda EDTA-plasmaprover och 300 enskilda serumprover (totalt 600 resultat) med två loter av **cobas**® HCV-reagens. Alla prover testades som negativa för HCV-RNA. I testpanelen var specifiteten för **cobas**® HCV 100 % (95-procentig konfidensgräns: ≥ 99,5 %).

Analytisk specifitet

Den analytiska specifiteten för **cobas**® HCV utvärderades genom att späda en panel med mikroorganismer med HCV-RNA-positiv och HCV-RNA-negativ EDTA-plasma. Mikroorganismerna tillsattes i normal, virus-negativ human EDTA-plasma och testades med och utan HCV-RNA. Negativa resultat erhöles med **cobas**® HCV för alla mikroorganismprover utan HCV-mål och positiva resultat erhöles för alla mikroorganismprover med HCV-mål. Dessutom var den genomsnittliga log₁₀-titern för vart och ett av de positiva HCV-proverna som innehöll potentiellt korsreagerande organismer inom ±0,3 log₁₀ för den genomsnittliga log₁₀-titern för den respektive positiva spikade kontrollen.

Tabell 23 Mikroorganismer som testades för korsreaktivitet

	Virus	Bakterier	Svamp
Adenovirus typ 5	Västra Nilen-virus	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovirus	St. Louis-encefalitvirus	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Epstein-Barr-virus	Murray Valley-encefalitvirus		
Hepatit A-virus	Dengue-virus typ 1, 2, 3 och 4		
Hepatit B-virus	FSME-virus (stam HYPR)		
Hepatit D-virus	Gula febern-virus		
Humant immunbristvirus 1	Humant herpesvirus typ 6		
Humant T-cellymfotropvirus typ 1 och 2	Herpes simplex-virus typ 1 och 2		
Humant papillomavirus	Influensa A-virus		
Varicella-zoster-virus	Zika-virus		

Analytisk specificitet – interfererande substanser

Förhöjda nivåer av triglycerider (34,5 g/l), konjugerat bilirubin (0,25 g/l), okonjugerat bilirubin (0,25 g/l), albumin (58,7 g/l), hemoglobin (2,9 g/l) och humant DNA (2 mg/l) i proverna testades vid förekomst och avsaknad av HCV-RNA. De testade endogena interferenserna visades inte interferera med testprestandan för **cobas**® HCV.

Dessutom testades förekomst av autoimmuna sjukdomar som systemisk lupus erythematosus (SLE), reumatoid faktor (RF) och antinukleära antikroppar (ANA).

Avseende känslighet visade enskilda prover, för två SLE-donatorer, en RF-donator och fyra ANA-donatorer, interferens med **cobas**® HCV. En orsaksundersökning visade att interferensen från de aktuella SLE- och RF-donatorerna upphörde när de testades vid förekomst av 75 IU/ml HCV-RNA.

De fyra ANA-donatorerna som visade interferens med **cobas**® HCV vid test med 50 IU/ml HCV-RNA visade även interferens vid test med 75 IU/ml HCV-RNA. För att bedöma om den observerade interferensen var ANA-specifik eller donatorspecifik testades ytterligare 15 ANA-donatorer vid förekomst av 50 IU/ml och 75 IU/ml HCV-RNA. Ingen av de ytterligare donatorerna visade någon interferens med **cobas**® HCV för någon av de två testade koncentrationerna, med avseende på känslighet/kvantifiering.

Dessutom testades läkemedelsföreningarna som listas i Tabell 24 vid tre gånger C_{max} . Inte någon av de testade läkemedelsföreningarna visade sig interferera med specificiteten och kvantifieringen av HCV-RNA med **cobas**® HCV.

Alla potentiellt interfererande substanser har visats inte interferera med testets prestanda. Negativa resultat erhöles med **cobas**® HCV för alla prover utan HCV-mål och positiva resultat erhöles för alla prover med HCV-mål. Dessutom var den genomsnittliga $\log_{10}$ -titern för vart och ett av de positiva HCV-proverna som innehöll potentiellt interfererande substanser inom $\pm 0,3 \log_{10}$ för den genomsnittliga $\log_{10}$ -titern för den respektive positiva spikade kontrollen.

Tabell 24 Läkemedelsföreningar testade för interferens med kvantifiering av HCV-RNA med **cobas®** HCV

Läkemedelsgrupp	Generiskt läkemedelsnamn	
Immunmodulatorer	Peginterferon α -2a Peginterferon α -2b Ribavirin	
HIV-inträdeshämmare	Maraviroc	
HIV-integrashämmare	Elvitegravir/kobicistat	Raltegravir
Icke-nukleosid HIV omvänt transkriptas-hämmare	Efavirenz	Nevirapin
	Etravirin	Rilpivirin
HIV-proteashämmare	Atazanavir	Lopinavir
	Tipranavir	Nelfinavir
	Darunavir	Ritonavir
	Fosamprenavir	Sakvinavir
HCV-proteashämmare	Boceprevir	Telaprevir
	Simeprevir	
Omvänt transkriptas- eller DNA polymeras-hämmare	Abacavir	Tenofovir
	Emtricitabin	Adefovir dipivoxil
	Entecavir	Zidovudin
	Foskarnet	Aciclovir
	Cidofovir	Valganciclovir
	Lamivudin	Ganciklovir
	Telbivudin	Sofosbuvir
Föreningar för behandling av opportunistiska infektioner	Azitromycin	Pyrazinamid
	Klaritromycin	Rifabutin
	Etambutol	Rifampicin
	Flukonazol	Sulfametoxazol
	Isoniazid	Trimetoprim

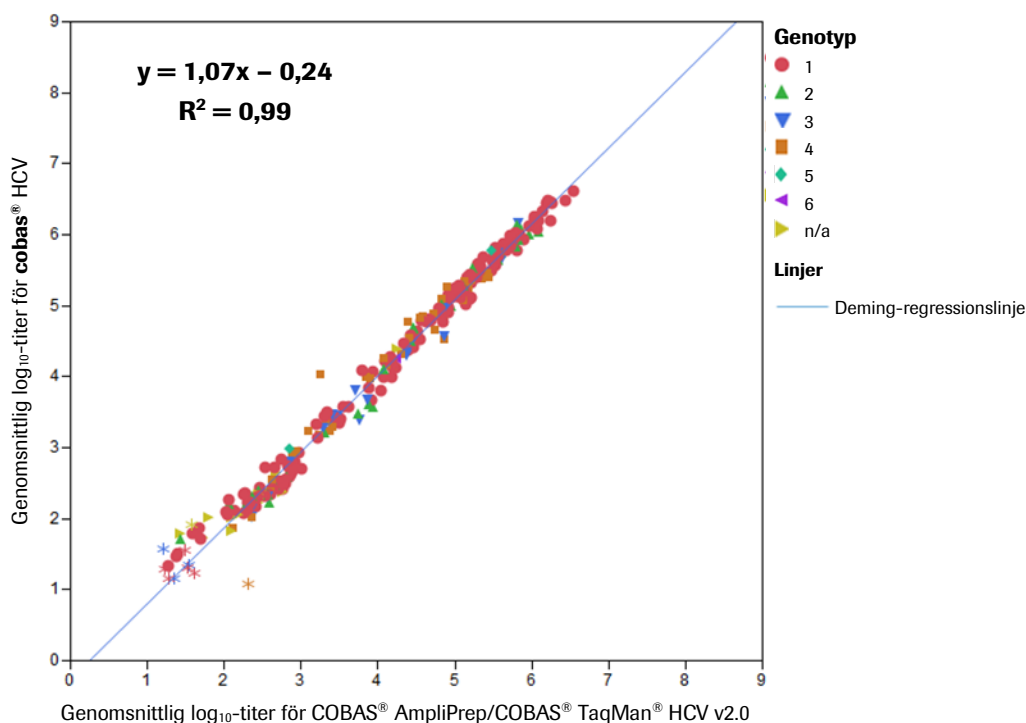
Metodkorrelation

Utvärdering av prestanda för cobas® HCV jämfört med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative Test, v2.0

Prestandan för cobas® HCV och testet COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative, v2.0 (testet TaqMan® HCV v2.0) jämfördes genom analys av serumprover och EDTA-plasmaprover från HCV-smittade patienter. Totalt 149 EDTA-plasmaprover och 122 serumprover för alla HCV-genotyper som analyserades i duplikat var giltiga och låg inom kvantifieringsintervallet för båda testen. Demings regressionsanalys utfördes. Medeltiteravvikelsen för proverna som testades med de två testen var 0,02 log₁₀ (95-procentigt konfidensintervall: 0,00; 0,04).

Resultaten för Demings regressionsanalys visas i Bild 7. Symbolen * i Bild 7 visar den separata bestämningen.

Bild 7 Regressionsanalys för cobas® HCV jämfört med testet TaqMan® HCV v2.0, EDTA-plasmaprover och serumprover

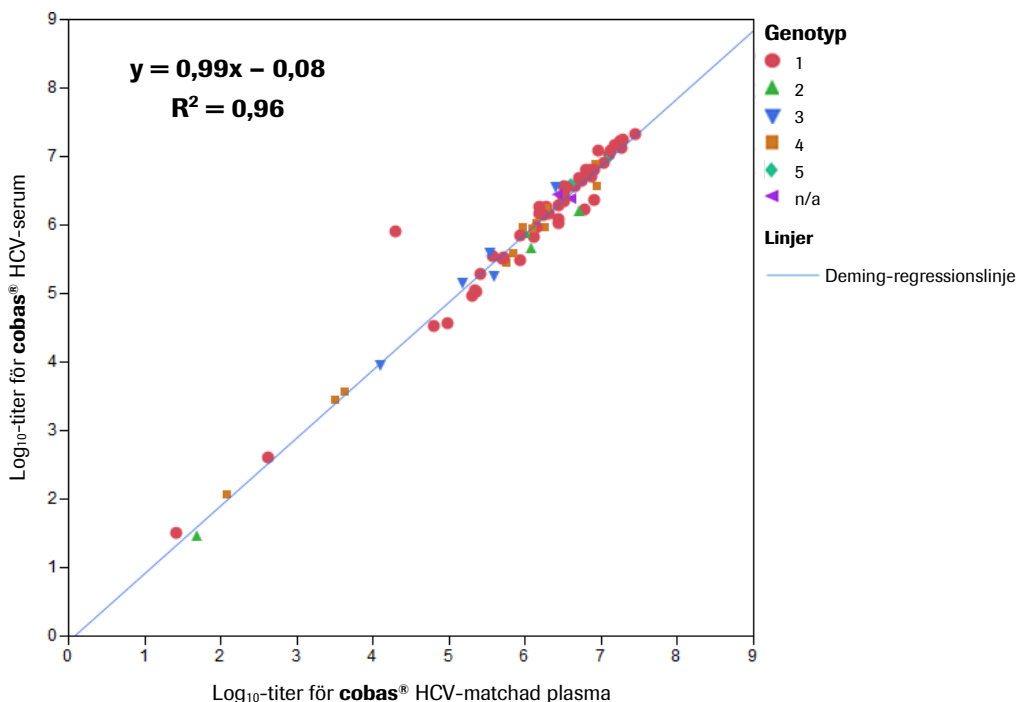


Matrisekvivalens – EDTA-plasma jämfört med serum

190 parade EDTA-plasma- och serumprover analyserades med avseende på matrisekvivalens. Av dessa var 73 parade prover HCV-positiva prover. De HCV-positiva proverna täckte genotyperna 1 till 4 i det linjära intervallet.

Medeltiteravvikelsen som uppmättes för de matchande EDTA-plasma- och serumproverna var $-0,13 \log_{10}$ (95-procentigt konfidensintervall: $-0,19$; $-0,07$) (Bild 8).

Bild 8 Utfall av utvärdering av matrisekvivalens mellan EDTA-plasma och serum



Systemfel

Felfrekvensen inom hela systemet för cobas® HCV bestämdes genom testning av 100 replikat av EDTA-plasma och 100 replikat av serum spikat med HCV-mål. De här proverna testades vid en målkonzentration på ungefär $3 \times \text{LoD}$.

Resultaten i den här studien fastställde att samtliga replikat var giltiga och positiva för HCV, vilket gav en felfrekvens inom hela systemet på 0 %. Det tvåsidiga 95-procentiga exakta konfidensintervallet var 0 % för den nedre gränsen och 3,62 % för den övre gränsen för varje matris [0 %: 3,62 %].

Korskontamination

Nivån för korskontamination för cobas® HCV bestämdes genom testning av 240 replikat av ett normalt, virus-negativt (HIV, HCV och HBV) humant EDTA-plasmaprov och 225 replikat av ett HCV-prov med hög titer vid $4,0\text{E}+07$ IU/ml. Sammanlagt fem körningar utfördes med positiva och negativa prover i en checkerboard-konfiguration.

239 av de 240 replikaten av de negativa proverna var giltiga och detekterat negativa, vilket gav en korskontaminationsnivå på 0,42 %. Det tvåsidiga 95-procentiga exakta konfidensintervallet var 0,01 % för den nedre gränsen och 2,3 % för den övre gränsen [0 %: 2,3 %].

Utvärdering av klinisk prestanda

Variabilitet mellan loter och reproducerbarhet

Variabiliteten mellan loter och reproducerbarheten för **cobas**® HCV utvärderades i EDTA-plasma på **cobas**® 6800 System med hjälp av en blandad modell för att uppskatta den totala variansen.

Resultaten sammanfattas i Tabell 25 till Tabell 28 nedan.

Variabilitet mellan loter

Testningen av variabilitet mellan loter utfördes för genotyp 1 till 6 på en testplats med tre reagensloter. Två användare på platsen testade varje lot i 6 dagar. Två körningar utfördes varje dag.

Tabell 25 nedan visar tillämpbara procentandelar av den totala variansen, SD för den totala precisionen och lognormal CV efter genotyp och förväntad log₁₀ HCV-RNA-koncentration för **cobas**® 6800 System.

Tabell 25 Tillämpbar procentandel av den totala variansen, standardavvikelse för den totala precisionen och lognormal CV (%) för HCV-RNA-koncentration (log₁₀ IU/ml) efter genotyp och positivt panelprov på **cobas**® 6800 System (mellan loter)

Genotyp	HCV-RNA-koncentration			Antal tester ^b	Bidrag till den totala variansen i procent (lognormal CV (%))					Total precision	
	Förväntad IU/ml	Förväntad log ₁₀ IU/ml	Genomsnittlig ^a log ₁₀ IU/ml		Lot	Användare	Dag	Körning	Inom körning	SD ^c	Log-normal 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

Geno- typ	HCV-RNA-koncentration			Antal tester ^b	Bidrag till den totala variansen i procent (lognormal CV (%))					Total precision	
	Förväntad IU/ml	Förväntad log ₁₀ IU/ml	Genom- snittlig ^a log ₁₀ IU/ml		Lot	Anvån- dare	Dag	Körning	Inom körning	SD ^c	Log- normal CV (%) ^d
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
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

Geno- typ	HCV-RNA-koncentration			Antal tester ^b	Bidrag till den totala variansen i procent (lognormal CV (%))					Total precision	
	Förväntad IU/ml	Förväntad log ₁₀ IU/ml	Genom- snittlig ^a log ₁₀ IU/ml		Lot	Anvån- dare	Dag	Körning	Inom körning	SD ^c	Log- normal CV (%) ^d
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
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

Obs! Tabellen inkluderar bara resultat med detekterbar virusmängd.

^a Beräknat med proceduren SAS MIXED.

^b Antal giltiga tester med detekterbar virusmängd.

^c Beräknat med den totala variabiliteten från SAS MIXED-proceduren.

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

CV(%) = variationskoefficient i procent; HCV = hepatit C-virus; RNA = ribonukleinsyra; SD = standardavvikelse; sqrt = kvadratroten.

I Tabell 26 nedan var den procentuella överensstämmelsen för negativa resultat (NPA) för cobas® 6800 System 99,54 % vid användning av tester med negativa panelprover.

Tabell 26 Procentuell överensstämmelse för negativa resultat vid användning av negativt panelprov på cobas® 6800 System (mellan loter)

Förväntad HCV- RNA-koncentration	Antal tester	Positiva resultat	Negativa resultat	Procentuell överensstämmelse för negativa resultat ^a	95% CI ^b
Negativ	216	1	215	99,54	(97,45/99,99)

^a Procentuell överensstämmelse för negativa resultat = (antal negativa resultat ÷ totalt antal giltiga tester i negativt panelprov) × 100.

^b Beräknat med Clopper-Pearson Exact-metoden för beräkning av binomialt konfidensintervall.

CI = konfidensintervall; HCV = hepatit C-virus; RNA = ribonukleinsyra.

Reproducerbarhet

Testningen av reproducerbarhet utfördes på tre platser för genotyperna 1 till 3 med en reagenslot. Två användare på varje plats testade i 6 dagar. Två körningar utfördes varje dag.

Tabell 27 Nedan visas tillämpbara procentandelar av den totala variansen, SD för den totala precisionen och lognormal CV efter genotyp och förväntad log₁₀ HCV-RNA-koncentration för cobas® 6800 System.

Tabell 27 Tillämpbar procentandel av den totala variansen, standardavvikelse för total precision och lognormal CV (%) för HCV-RNA-koncentration (log₁₀ IU/ml) efter genotyp och positivt panelprov på cobas® 6800 System (reproducerbarhet)

Genotyp	HCV-RNA-koncentration			Antal tester ^b	Bidrag till den totala variansen i procent (lognormal CV (%))					Total precision	
	Förväntad IU/ml	Förväntad log ₁₀ IU/ml	Genomsnittlig ^a log ₁₀ IU/ml		Plats	Användare	Dag	Körning	Inom körning	SD ^c	Lognormal 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

Geno- typ	HCV-RNA-koncentration			Antal tester ^b	Bidrag till den totala variansen i procent (lognormal CV (%))					Total precision	
	Förväntad IU/ml	Förväntad log ₁₀ IU/ml	Genom- snittlig ^a log ₁₀ IU/ml		Plats	Användare	Dag	Körning	Inom körning	SD ^c	Lognormal CV (%) ^d
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

Obs! Tabellen inkluderar bara resultat med detekterbar virusmängd.

^a Beräknat med proceduren SAS MIXED.

^b Antal giltiga tester med detekterbar virusmängd.

^c Beräknat med den totala variabiliteten från SAS MIXED-proceduren.

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

CV(%) = variationskoefficient i procent; HCV = hepatit C-virus; RNA = ribonukleinsyra; SD = standardavvikelse; sqrt = kvadratroten.

NPA var 100 % vid användning av tester med negativa panelprover på **cobas® 6800 System**, vilket visas i Tabell 28 nedan.

Tabell 28 Procentuell överensstämmelse för negativa resultat vid användning av negativt panelprov (reproducerbarhet) på **cobas® 6800 System**

Förväntad HCV- RNA-koncentration	Antal tester	Positiva resultat	Negativa resultat	Procentuell överensstämmelse för negativa resultat ^a	95% CI ^b
Negativ	108	0	108	100,00	(96,64/100,00)

^a Procentuell överensstämmelse för negativa resultat = (antal negativa resultat ÷ totalt antal giltiga tester i negativt panelprov) × 100.

^b Beräknat med Clopper-Pearson Exact-metoden för beräkning av binomialt konfidensintervall.

CI = konfidensintervall; HCV = hepatit C-virus; RNA = ribonukleinsyra.

Jämförelse mellan **cobas® 6800** och **cobas® 8800 Systems** – variabilitet mellan loter och reproducerbarhet

En identisk provuppsättning testades för variabilitet mellan loter och reproducerbarhet för **cobas® HCV** på **cobas® 8800 System**. Prestandan för de två systemen är jämförbar. Tabell 29 listar precisionsprestandan som uppnåddes i reproducerbarhetsdelen av studien för både **cobas® 6800** och **cobas® 8800 Systems** över det linjära intervallet för **cobas® HCV**.

Tabell 29 Jämförelse av standardavvikelse för precisionen för HCV-RNA-koncentrationen ($\log_{10}$ IU/ml) för genotyperna 1–3 på **cobas® 6800** och **cobas® 8800 Systems** (reproducerbarhet)

Koncentrationsnivå (IU/ml)	Standardavvikelse för precisionen ^a (antal tester ^b)					
	cobas® 6800 System			cobas® 8800 System		
	Genotyp 1	Genotyp 2	Genotyp 3	Genotyp 1	Genotyp 2	Genotyp 3
$1,0E+01 \leq X < 1,0E+02$	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)
$1,0E+02 \leq X < 1,0E+03$	-	0,11 (72)	-	-	0,12 (48)	-
$1,0E+03 \leq X < 1,0E+04$	0,14 (72)	0,07 (72)	0,08 (72)	0,13 (48)	0,07 (48)	0,08 (48)
$1,0E+04 \leq X < 1,0E+05$	0,17 (72)	0,10 (72)	0,08 (72)	0,11 (48)	0,06 (48)	0,08 (48)
$1,0E+05 \leq X < 1,0E+06$	0,15 (72)	0,08 (72)	0,08 (72)	0,11 (48)	0,07 (47)	0,10 (48)
$1,0E+06 \leq X < 1,0E+07$	0,10 (72)	0,12 (72)	0,11 (71)	0,09 (48)	0,13 (48)	0,11 (48)
$1,0E+07 \leq X < 1,0E+08$	0,22 (72)	0,14 (72)	0,18 (71)	0,16 (48)	0,10 (48)	0,19 (48)

Obs! Grupperingen av observerade precisioner i koncentrationsnivåer är baserad på medianen för testresultaten på den icke omvandlade skalan (IU/ml). Tabellen inkluderar bara resultat med detekterbar virusmängd. SD = standardavvikelse.

”-” indikerar att tillämpliga resultat för den här nivån saknas.

^a Standardavvikelse för precisionen i $\log_{10}$ -enheter.

^b Antal giltiga tester med detekterbar virusmängd.

Klinisk användbarhet

Studien utformades för att utvärdera analysens möjlighet att förutsäga kliniskt utfall.

Behandlingsplan 1 inkluderade fyra behandlingsregimer som innehåller en kombination av DAA-föreningar med eller utan pegIFN/RBV. Personerna var infekterade med HCV-genotypen 1 och var partiella svarare eller nollsvarare under en tidigare pegIFN/RBV-kombinationsbehandling.

Behandlingsplan 2 inkluderade personer som var infekterade med genotyp 2 eller 3, var behandlingsnaiva och som genomgick en pegIFN/RBV-kombinationsbehandling.

Testning med **cobas® HCV** utfördes på fyra platser. Ett **cobas® 6800 System** fanns på tre platser. Ett **cobas® 8800 System** fanns på två platser. På en plats utfördes testningen med både **cobas® 6800** och **cobas® 8800 Systems**. Tre kitloter med reagens användes i studien, och varje prov testades med en kitlot.

Tabell 30 nedan visar demografi- och baseline-egenskaperna för personer vars prover testades på **cobas® 6800** och **cobas® 8800 Systems**. Majoriteten av personerna var män över 40 år som var infekterade med HCV-genotyp 1. Personer med HCV-genotyperna 1, 2 och 3 deltog i studien. HCV-infektion med genotyperna 4, 5 och 6 är sällsynt i USA.

Tabell 30 Demografi- och baseline-egenskaper för personer för **cobas® 6800** och **cobas® 8800 Systems**

Egenskaper	cobas® 6800 System		cobas® 8800 System	
	Statistik	Personer	Statistik	Personer
Totalt	N	401	N	353
Behandlingsplan				
1	n (%)	307 (76,6 %)	n (%)	287 (81,3 %)
2	n (%)	94 (23,4 %)	n (%)	66 (18,7 %)
Ålderskategori (år)				
< 40	n (%)	90 (22,4 %)	n (%)	81 (22,9 %)
≥ 40	n (%)	311 (77,6 %)	n (%)	272 (77,1 %)

Ålder (år)				
	Medelvärde ± SD	49 ± 11,1	Medelvärde ± SD	49 ± 11,2
	Median	52	Median	52
	Intervall	20–76	Intervall	20–71
Kön				
Man	n (%)	276 (68,8 %)	n (%)	245 (69,4 %)
Kvinna	n (%)	125 (31,2 %)	n (%)	108 (30,6 %)
Ursprung/etnicitet				
Asiat	n (%)	3 (0,7 %)	n (%)	2 (0,6 %)
Afroamerikan	n (%)	13 (3,2 %)	n (%)	12 (3,4 %)
Vit/kaukasier	n (%)	357 (89,0 %)	n (%)	318 (90,1 %)
Övriga	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 %)
Totalt 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 %)
Totalt icke-1	n (%)	94 (23,4 %)	n (%)	66 (18,7 %)
Baseline HCV-RNA (log₁₀ IU/ml)				
	Medelvärde ± SD	6,32 ± 0,58	Medelvärde ± SD	6,33 ± 0,56
	Median	6,41	Median	6,41
	Intervall	2,57–7,52	Intervall	2,77–7,52
HCV-RNA-kategori vid baseline				
< 400 000 IU/ml	n (%)	36 (9,0 %)	n (%)	32 (9,1 %)
≥ 400 000 IU/ml	n (%)	363 (90,5 %)	n (%)	304 (86,1 %)
Saknas	n (%)	2 (0,5 %)	n (%)	17 (4,8 %)

HCV = hepatit C-virus; RNA = ribonukleinsyra; SD = standardavvikelse.

Förutsägelse av svar på antiviral behandling

Prestandan för analysen har fastställts för personer som har behandlats med särskilda DAA-regimer. Ingen information är tillgänglig om analysens prediktiva värde när andra DAA-kombinationsbehandlingar används.

Definitioner:

- Virusmängd (VL) vecka 2 = HCV-RNA < LLoQ = LoD = 15 IU/ml vid vecka 2 av den antivirala behandlingen
- VL vecka 2: HCV-RNA < LoD = LLoQ av 15 IU/ml
- VL vecka 4: HCV-RNA < LLoQ vid vecka 4 av den antivirala behandlingen
- VL vecka 8: HCV-RNA < LLoQ vid vecka 8 av den antivirala behandlingen
- VL vecka 12: Antingen minst en 2 log₁₀-minskning i HCV-RNA-nivån jämfört med baseline eller HCV-RNA < LLoQ vid vecka 12 av den antivirala behandlingen
- VL vecka 24 (slutet av behandlingen [EOT]): HCV-RNA < LLoQ vid vecka 24 av den antivirala behandlingen.
- Kvarstående virologiskt svar (SVR12): HCV-RNA < LLoQ vid vecka 12 efter slutförande av antiviral behandling uppmätt med ett oberoende HCV-RNA-test.

Prediktivt värde för virologiskt svar som indikator på framgångsrik antiviral behandling

I den här studien var det positiva prediktiva värdet (PPV) för VL vecka 4 78,1 % för att förutse SVR12 (95 % CI: 72,7 till 82,8 %) hos genotyp 1-personer och 84,7 % (95 % CI: 73,5 till 91,8 %) hos personer med icke-1-genotyper (Tabell 31). Därför var VR uppmätt vecka 4 med cobas® HCV en användbar prediktor för SVR12.

För behandlingsplan 1 som representant för en DAA-behandlingsregim förutser en VL vecka 12 eller en VL vecka 24 SVR12 hos genotyp 1-personer med PPV på 77,0 % respektive 78,6 % med **cobas®** HCV. Avsaknad av VL vecka 12 eller VL vecka 24 VL förutser icke-svar, med negativa prediktiva värden (NPV) på 87,5 % respektive 100 % (Tabell 31). Ytterligare analys av VL vecka 2 för att förutse SVR12 visar en PPV på 79,4 % men en låg NPV på 29,9 %.

I behandlingsplan 2 var VL vecka 12 i genotyp 2 och 3 med **cobas®** HCV prediktivt för SVR12, med en PPV på 75,3 %. På grund av att icke-svar är sällsynt är avsaknad av VL vecka 12 inte ett användbart mått på utfall i den här populationen. NPV var 50 % och antalet icke-svarare var litet i den här studien (Tabell 31).

Totalt sett visade den här studien den kliniska användbarheten för **cobas®** HCV och det fortsatta värdet för bedömning av HCV-RNA-svar vecka 4, vecka 12 och vecka 24 hos patienter som genomgår behandling för kronisk HCV-infektion.

Tabell 31 Sannolikhet för att uppnå varaktigt virologiskt svar (SVR12) givet virologiskt svar (< 15 IU/ml) vid ett specifikt besök under pågående behandling för **cobas®** 6800 System

				PPV (%)		NPV (%)		ELLER
Behandlingsplan	Genotyp	Besök under pågående behandling	Lämpliga personer	Uppskattning (95 % CI)	n/N	Uppskattning (95 % CI)	n/N	Uppskattning (95 % CI)
1	1	Vecka 2	290	79,4 (71,5, 85,5)	100/126	29,9 (23,4, 37,3)	49/164	1,64 (0,95, 2,83)
		Vecka 4	290	78,1 (72,7, 82,8)	200/256	50,0 (34,1, 65,9)	17/34	3,57 (1,71, 7,45)
		Vecka 8	285	76,8 (71,5, 81,4)	212/276	66,7 (35,4, 87,9)	6/9	6,63 (1,61, 27,24)
		Vecka 12	286	77,0 (71,7, 81,5)	214/278	87,5 (52,9, 97,8)	7/8	23,41 (2,83, 193,80)
		Vecka 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	Icke-1	Vecka 4	82	84,7 (73,5, 91,8)	50/59	47,8 (29,2, 67,0)	11/23	5,09 (1,72, 15,04)
		Vecka 12	83	75,3 (64,9, 83,4)	61/81	50,0 (9,5, 90,5)	1/2	3,05 (0,18, 51,04)

Anteckningar: Positivt prediktivt värde (PPV) = $TP \div (TP + FP)$ eller sannolikheten för att vara en SVR12 givet att personen uppvisade virologiskt svar vid ett specifikt besök. SVR12 uppnås om personen har HCV-RNA < 15 IU/ml vid 12 veckor efter den sista dosen.

Negativt prediktivt värde (NPV) = $TN \div (FN + TN)$ eller sannolikheten för att inte vara en SVR12 givet att personen inte uppvisade virologiskt svar vid ett specifikt besök.

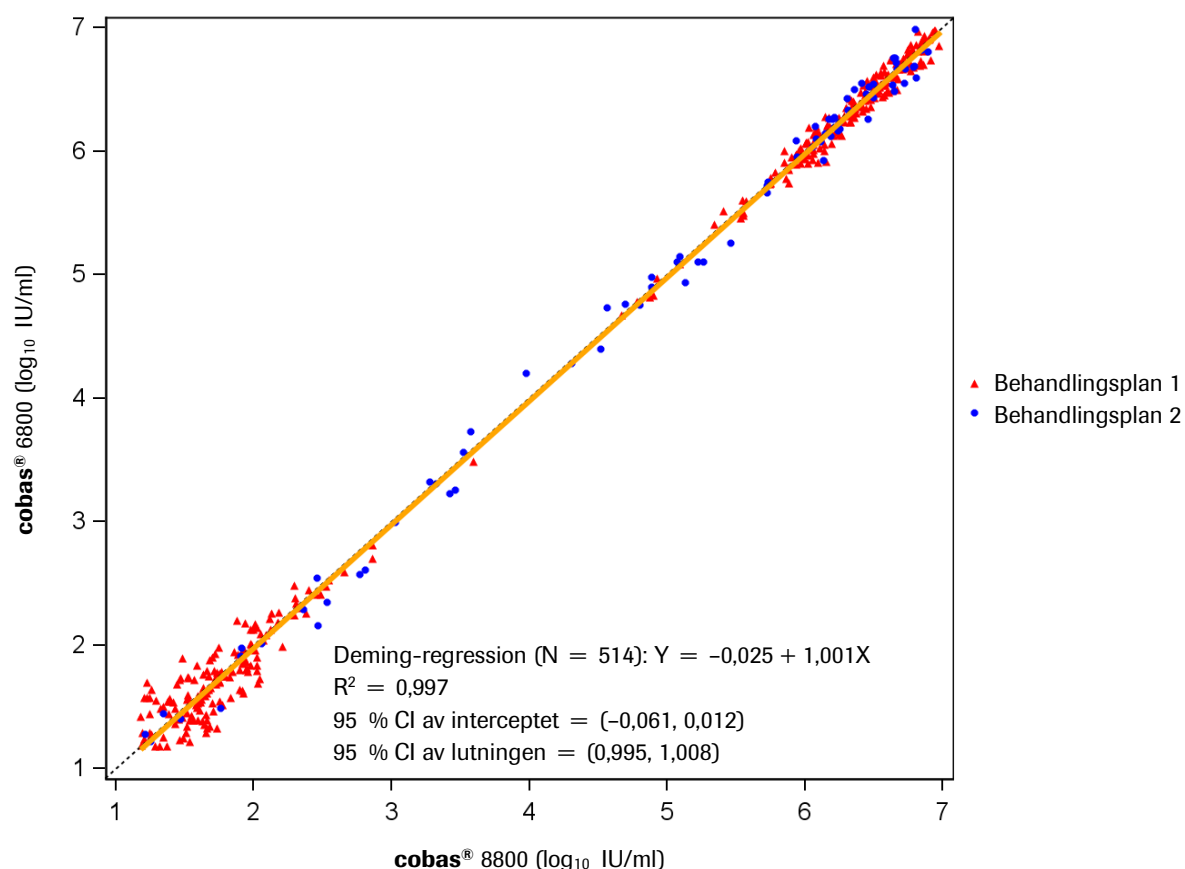
Oddsquot (OR) = $(TP \times TN) \div (FP \times FN)$.

CI = konfidensintervall; FN = falskt negativt; FP = falskt positivt; HCV = hepatit C-virus; SVR12 = varaktigt virologiskt svar 12 veckor efter den sista dosen; TN = sant negativt; TP = sant positivt.

Jämförelse mellan cobas® 6800 och cobas® 8800 Systems – klinisk användbarhet

En identisk provuppsättning testades för den kliniska användbarheten för cobas® HCV på cobas® 8800 System. Systemen visade en i hög grad överensstämmande prestanda som inte var signifikant annorlunda. Bild 5 nedan visar sambandsdiagram med Deming-regressionen för alla virusmängder (VL) ($\log_{10}$ IU/ml) som är större än 15 IU/ml vid alla tillämpliga tidpunkter under behandlingen.

Bild 9 Linjärt sambandsdiagram över Deming-regression för virusmängder ($\log_{10}$ IU/ml) från baseline, vecka 2 och vecka 4 (cobas® 6800 System jämfört med cobas® 8800 System)



CI = konfidensintervall.

Diagnostisk användbarhet

Studien utformades för att utvärdera analysens möjlighet att korrekt diagnostisera anti-HCV-positiva personer med aktiv HCV-infektion.

Tabell 32 nedan visar de demografiska och kliniska egenskaperna för personer vars prover testades på **cobas® 6800 System** och **cobas® 8800 System**.

Tabell 32 Demografiska och kliniska egenskaper efter system (HCV-antikroppspositiva personer)

Egenskaper	cobas® 6800 System	cobas® 8800 System
Totalt, N	235	230
Klinisk status		
HCV-antikroppspositiva^a, n (%)		
HCV-RNA-positiva	154 (65,5 %)	150 (65,2 %)
HCV-RNA-negativa	81 (34,5 %)	80 (34,8 %)
Ålder (år)		
Medelvärde ± SD	48 ± 11,9	49 ± 11,9
Median	50	50
Intervall	20–88	20–88
Kön, n (%)		
Man	132 (56,2 %)	127 (55,2 %)
Kvinna	103 (43,8 %)	103 (44,8 %)
Ursprung, n (%)		
Svart/afroamerikan	49 (20,9 %)	48 (20,9 %)
Vit/kaukasier	183 (77,9 %)	179 (77,8 %)
Övriga	3 (1,3 %)	3 (1,3 %)
Riskfaktor, n (%)		
Endast babyboomers (födda: 1945–1965)	114 (48,5 %)	112 (48,7 %)
Endast IVD-användare	22 (9,4 %)	22 (9,6 %)
Babyboomers och IVD-användare	23 (9,8 %)	22 (9,6 %)
Okända, HCV-antikroppspositiva*	76 (32,3 %)	74 (32,2 %)

^a Resultat från VERSANT HCV Test användes för att fastställa HCV-RNA-status. För personer vars resultat från VERSANT HCV Test inte var tillgängligt så användes resultatet från APTIMA HCV Test. Om inget resultat var tillgängligt från vare sig Versant eller Aptima så användes resultatet från COBAS® AMPLICOR® HCV Test, v2.0.

* Okända inkluderar personer för vilka båda riskfaktorerna antingen saknas eller har statusen ”Nej”, eller personer för vilka en riskfaktor saknas och den andra har statusen ”Nej”.

APTIMA = Aptima HCV RNA Qualitative Assay; HCV = hepatit C-virus; IVD = intravenöst drogmissbruk.

SD = standardavvikelse; VERSANT = VERSANT HCV RNA Qualitative Assay.

Sensitiviteten för **cobas**® HCV utvärderades hos personer som hade exponerats för HCV tidigare och som testat positivt för HCV-antikroppar på både **cobas**® 6800/8800 Systems (Tabell 33). Överensstämmelsen för **cobas**® HCV med patientinfektionsstatus fastställdes med ett cutoff-värde på < 25 IU/ml för att definiera avsaknad av aktiv HCV-infektion (tabell 33).

Tabell 33 Överensstämmelse för **cobas**® HCV med patientinfektionsstatusen på **cobas**® 6800 och **cobas**® 8800 System med ett cutoff-värde på 25 IU/ml

cobas ® HCV	Patientinfektionsstatus (PIS)					
	cobas ® 6800 System			cobas ® 8800 System		
	HCV-positiva	HCV-negativa	Totalt	HCV-positiva	HCV-negativa	Totalt
HCV-RNA detekterat över 25 IU/ml	152	0	152	149	1	150
HCV-RNA inte detekterat eller detekterat under 25 IU/ml	0	81	81	0	79	79
Totalt	152	81	233	149	80	229
Procentuell överensstämmelse för positiva resultat (95 % CI)	100,0 % (97,5, 100,0)	NA	NA	100,0 % (97,5, 100,0)	NA	NA
Procentuell överensstämmelse för negativa resultat (95 % CI)	NA	100,0 % (95,5, 100,0)	NA	NA	98,8 % (93,3, 99,8)	NA

Obs! Endast giltiga resultat från **cobas**® HCV bland de HCV-antikroppspositiva proverna är inkluderade i den här tabellen.

CI = konfidensintervall; **cobas**® HCV = **cobas**® HCV för användning på **cobas**® 6800/8800 Systems; HCV = hepatit C-virus; NA = inte tillämpligt.

Den här studien visar den kliniska användbarheten för **cobas**® HCV att korrekt diagnostisera personer med en pågående aktiv HCV-RNA-infektion och att särskilja dem från personer med inaktiva infektioner i en population med tidigare exponering för HCV (HCV-antikroppspositiv serologi).

Korsreaktivitet hos personer med icke-HCV-relaterad leversjukdom

Korsreaktiviteten för cobas® HCV utvärderades med prover som representerade olika leversjukdomar för vilka aktiv HCV-infektion inte var den underliggande orsaken. cobas® HCV visade sig kunna fastställa avsaknad av aktiv HCV-infektion hos personer med ett antal olika leversjukdomar med annan orsak än HCV-infektion (Tabell 34, Tabell 35, Tabell 36).

Tabell 34 Demografiska och kliniska egenskaper efter system

Egenskaper	cobas® 6800 System	cobas® 8800 System
Totalt, N	247	181
Klinisk status		
HCV-RNA-negativa, n (%)		
Alkoholrelaterad leversjukdom	33 (13,4 %)	20 (11,0 %)
Autoimmun hepatit	37 (15,0 %)	32 (17,7 %)
Kronisk HBV-infektion	30 (12,1 %)	30 (16,6 %)
Fettleversjukdom	66 (26,7 %)	38 (21,0 %)
Icke-alkoholorsakad steatohepatit (NASH)	41 (16,6 %)	30 (16,6 %)
Icke specificerad levercirros	6 (2,4 %)	3 (1,7 %)
Primär biliär cholangit	33 (13,4 %)	28 (15,5 %)
Okänd ^a	1 (0,4 %)	
Ålder (år)		
Medelvärde ± SD	54 ± 13,1	54 ± 13,5
Median	56	56
Intervall	20–81	20–81
Kön, n (%)		
Man	71 (28,7 %)	44 (24,3 %)
Kvinna	104 (42,1 %)	74 (40,9 %)
Okänd	72 (29,1 %)	63 (34,8 %)
Ursprung, n (%)		
Asiat	11 (4,5 %)	1 (0,6 %)
Svart/afroamerikan	13 (5,3 %)	11 (6,1 %)
Vit/kaukasier	70 (28,3 %)	48 (26,5 %)
Övriga	7 (2,8 %)	1 (0,6 %)
Okänd	146 (59,1 %)	120 (66,3 %)
Babyboomers (födda: 1945–1965), n (%)		
Ja	80 (32,4 %)	63 (34,8 %)
Nej	64 (25,9 %)	53 (29,3 %)
Okända	103 (41,7 %)	65 (35,9 %)

Tabell 35 Antal HCV-RNA-negativa prover i cobas® 6800 System med icke HCV-relaterade leversjukdomar inom testets resultatkategorier efter klinisk status

Klinisk status	Antal giltiga tester						Specificitet ^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	Totalt	
Alkoholrelaterad leversjukdom	33	0	0	0	0	33	100,0 (89,4, 100,0)
Autoimmun hepatit	37	0	0	0	0	37	100,0 (90,5, 100,0)
Kronisk HBV-infektion	30	0	0	0	0	30	100,0 (88,4, 100,0)
Fettleversjukdom	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)
Icke specificerad levercirros	6	0	0	0	0	6	100,0 (54,1, 100,0)
Primär biliär cholangit	33	0	0	0	0	33	100,0 (89,4, 100,0)
Totalt	245	1*	0	0	0	246	99,6 (97,8, 100,0)

Obs! Endast giltiga resultat från cobas® HCV bland de HCV-antikroppsnegativa proverna (icke-HCV-relaterad leversjukdom) är inkluderade i den här tabellen. Den enda personen med leversteatos exkluderades.

^a Klinisk specificitet: procentandelen RNA-negativa resultat jämfört med det totala antalet HCV-antikroppsnegativa prover bland de giltiga testresultaten.

^b 95 % CI: 95-procentigt exakt konfidensintervall.

* Prov rapporterat < LLOQ, HCV-RNA detekterat vid ~ 1,5 IU/ml.

CI = konfidensintervall, HBV = hepatit B-virus, HCV = hepatit C-virus, NASH = icke-alkoholorsakad steatohepatit (non-alcoholic steatohepatitis).

Tabell 36 Antal HCV-RNA-negativa prover i **cobas®** 8800 System med icke HCV-relaterade leversjukdomar inom testets resultatkategorier efter klinisk status

Klinisk status	Antal giltiga tester						Specificitet ^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	Totalt	
Alkoholrelaterad leversjukdom	20	0	0	0	0	20	100,0 (83,2, 100,0)
Autoimmun hepatit	32	0	0	0	0	32	100,0 (89,1, 100,0)
Kronisk HBV-infektion	30	0	0	0	0	30	100,0 (88,4, 100,0)
Fettleversjukdom	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)
Icke specificerad levercirros	3	0	0	0	0	3	100,0 (29,2, 100,0)
Primär biliär cholangit	28	0	0	0	0	28	100,0 (87,7, 100,0)
Totalt	181	0	0	0	0	181	100,0 (98,0, 100,0)

Obs! Endast giltiga resultat från **cobas®** HCV bland de HCV-antikroppsnegativa proverna (icke-HCV-relaterad leversjukdom) är inkluderade i den här tabellen.

^a Klinisk specificitet: procentandelen RNA-negativa resultat jämfört med det totala antalet HCV-antikroppsnegativa prover bland de giltiga testresultaten.

^b 95 % CI: 95-procentigt exakt konfidensintervall.

CI = konfidensintervall, HBV = hepatit B-virus, HCV = hepatit C-virus, NASH = icke-alkoholorsakad steatohepatit (non-alcoholic steatohepatitis).

Jämförelse mellan **cobas®** 6800 och **cobas®** 8800 Systems för diagnos

En del av proverna testades för bekräftelse av aktiv HCV-infektion med **cobas®** HCV på **cobas®** 8800 System. Specificiteten för **cobas®** HCV, i olika leversjukdomar där aktiv HCV-infektion inte var den underliggande orsaken, var också 100 %. Överensstämmelsen för **cobas®** HCV på **cobas®** 8800 System med patientinfektionsstatus, med ett cutoff-värde på < 25 IU/ml för att definiera avsaknad av aktiv HCV-infektion, var 99,6 %. De här resultaten indikerar att **cobas®** 6800 och **cobas®** 8800 Systems är jämförbara för diagnos av aktiv HCV-infektion med hjälp av **cobas®** HCV.

Slutsats

cobas® HCV kan kvantifiera nivån av HCV-RNA för att bedöma behandling och förutse svar på antiviral behandling. Resultaten av den här studien visar den kliniska användbarheten för det här testet för att fastställa svar på behandling hos patienter med kronisk HCV-infektion tidigt under pågående behandling.

Dessutom kan **cobas®** HCV användas som stöd för diagnos av aktiv HCV-infektion hos HCV-antikroppspositiva patienter.

Ytterligare information

Viktiga testegenskaper

Provtyp	EDTA-plasma, serum
Minsta mängd prov som krävs	650 µl eller 350 µl
Provbearbetningsvolym	500 µl eller 200 µl
Analytisk sensitivitet	15 IU/ml (500 µl) 40 IU/ml (200 µl)
Linjärt intervall	500 µl: 15 IU/ml – 1,0E+08 IU/ml 200 µl: 40 IU/ml – 1,0E+08 IU/ml
Specifitet	100 % (ensidigt 95-procentigt konfidensintervall: 99,5 %)
Detekterade genotyper	HCV-genotyp 1–6

Symboler

Följande symboler används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter.

Tabell 37 Symboler som används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter

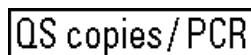
	Ålder eller födelsedatum		Tillverkningsdatum
	Stödprogramvara		Distribueras av
	Tilldelat intervall (kopior/ml)		Får ej återanvändas
	Tilldelat intervall (IU/ml)		Kvinna
	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen		Endast för IVD-prestandautvärdering
	Streckkodsdatablad		GTIN-nummer
	Lotnummer		Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik
	Biologisk risk		Lägre gräns för tilldelat intervall
	Katalognummer		Man
	Provtagningsdatum		Tillverkare
	Se bruksanvisningen		Negativ kontroll
	Innehåller tillräckligt med reagens för <n> analyser		Icke-steril
	Utrustningen innehåller		Patientnummer
	Kontroll		Patientens namn



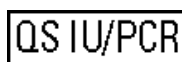
Öppna här



Positiv kontroll



QS-kopior per PCR-reaktion, använd antalet QS-kopior per PCR-reaktion vid beräkning av resultaten.



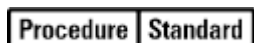
QS IU per PCR-reaktion, använd antalet internationella enheter (IU) för QS per PCR-reaktion vid beräkning av resultaten.



Serienummer



Plats



Standardprocedur



Steriliserad med etylenoxid



Förvaras mörkt



Temperaturgräns



Testdefinitionsfil



CE-märkning om överensstämmelse: den här enheten uppfyller alla tillämpliga krav för CE-märkning av en medicinteknisk produkt för *in vitro*-diagnostik



Denna sida upp



Unikt enhets-ID



Ultrasensitiv procedur



Övre gräns för tilldelat intervall



Urinfyllnadsnivå

Rx Only

Endast USA: Särskilda nationella regler kan gälla för försäljning av den här enheten.



Utgångsdatum



Produkt för patientnära testning



Produkt ej avsedd för patientnära testning



Produkt för självtestning



Produkt ej avsedd för självtestning

Teknisk support

Om du behöver teknisk support kontaktar du Roche kundsupport via:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Tillverkare och distributörer

Tabell 38 Tillverkare och distributörer



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

Made in USA (FTC-standard)



Roche Diagnostics
 9115 Hague Road
 Indianapolis, IN 46250-0457 USA
 (For Technical Assistance call the
 Roche Response Center
 toll-free: 1-800-526-1247)

Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 68305 Mannheim, Germany

Varumärken och patent

Den här produkten täcks av ett eller flera amerikanska patent (nr 8962293, 9102924, 8609340, 9234250, 8097717, 8192958, 10059993, 10358675, 8129118, 9963737, 9512494, 10041134 och 6727067) samt motsvarande respektive patent utomlands.

COBAS, COBAS OMNI och AMPERASE är varumärken som tillhör Roche.

Varumärket "Armored RNA" ägs av Asuragen, Inc. och Cenetron Diagnostics, Ltd.

ProClin® är ett registrerat varumärke som tillhör Rohm and Haas Company.

Vacutainer® är ett registrerat varumärke som tillhör Becton Dickinson & Company.

Alla andra produktnamn och varumärken tillhör respektive ägare.

Teknik för förhindrande av korskontaminering i AmpErase®-enzym täcks av amerikanskt patentnummer 7,687,247 som ägs av Life Technologies och är licensierat till Roche Molecular Systems, Inc.

Vissa komponenter för denna produkt täcks av ett eller flera amerikanska patent och motsvarigheten utomlands, utfärdade till Novartis Vaccines and Diagnostics, Inc. och licensierade till Roche Molecular Systems, Inc. och F. Hoffman-La Roche Ltd.

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

Copyright

©2021 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Str. 116
 68305 Mannheim
 Germany



Referenser

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.

Revidering av dokumentet

Information om revidering av dokumentet	
Doc Rev. 1.0 02/2021	Första publicering.