

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, version 2.0



FÖR *IN VITRO*-DIAGNOSTISK ANVÄNDNING.

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV
Qualitative Test, v2.0

HCVQLV2

72 Tests

P/N: 05480477 190

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®
Wash Reagent

PG WR

5.1 Liters

P/N: 03587797 190

Innehållsförteckning

AVSEDD ANVÄNDNING	1
SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING AV TESTET	2
ANVÄNDNINGSPRINCIPER	2
REAGENS	4
VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER	6
FÖRVARING OCH HANTERING	7
MATERIAL SOM MEDFÖLJER	7
MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE MEDFÖLJER	8
PROVTAGNING, TRANSPORT OCH FÖRVARING AV PROVER	9
BRUKSANVISNING	9
KVALITETSKONTROLL	12
RESULTAT	12
TESTETS BEGRÄNSNINGAR	13
INTERFERERANDE ÄMNEN	14
ICKE-KLINISK EGENSKAPSVÄRDERING	14
REFERENSER	20

AVSEDD ANVÄNDNING

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 är ett kvalitativt *in vitro*-test för nukleinsyra-amplifiering för detektion av hepatit C-virus (HCV) RNA, genotyp 1 till 6 i human EDTA-plasma eller serum med instrumentet COBAS® AmpliPrep för automatisk provbearbetning och analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48 för automatisk amplifiering och detektion. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 är avsett för patienter som uppvisar kliniska och/eller biokemiska tecken på leversjukdom och har antikroppar som tyder på HCV-infektion, och som misstänks vara aktivt infekterade med HCV. Testet kan användas för att bekräfta antikroppspositiva prover. Detektion av HCV RNA indikerar att viruset replikeras och därför är tecken på en aktiv infektion.

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 är inte avsett att användas som screeningtest för förekomst av HCV i blod eller blodprodukter.

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING AV TESTET

Hepatit C-virus betraktas som det huvudsakliga etiologiska agenset som ansvarar för 90 till 95 % av fallen av hepatit i samband med blodtransfusion¹⁻⁴. 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-screeningtest 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 exponering⁴. Förekomsten av HCV-infektion i världen, fastställt genom immunserologi, ligger i intervallet mellan 0,6 % i Kanada till 1,5 % i Japan⁵. Spontan clearance av viruset hos infekterade personer varierar kraftigt; normaliserade leverenzym och clearance av plasma HCV RNA⁵ har rapporterats hos mellan 10 och 60 % av individerna i kliniska mätningar.

HCV-viruspartiklar kan inte odlas från infekterade blodprover. Förekomsten av anti-HCV-antikroppar hos patienter som är infekterade med HCV har lett till utarbetandet av immunserologiska analyser som är specifika för dessa antikroppar. Förekomsten av anti-HCV-antikroppar är ett mått på tidigare exponering för HCV-infektion, men kan inte betraktas som en markör för pågående infektion. Måttet för alaninaminotransferas-nivåer (ALAT) betraktas som en surrogatindikator på HCV-infektion, men är inte ett direkt mått på viremi.

Alternativt kan detektion av HCV RNA med nukleinsyretest ge bevis för pågående infektion. Med nukleinsyretest är det möjligt att detektera HCV-viremi före immunologisk serokonversion^{6,7}. Eftersom nukleinsyretest kan upptäcka HCV RNA direkt, d.v.s. oberoende av patientens immunologiska status, är ett nukleinsyrebaserat test värdefullt för detektion av HCV RNA hos patienter med nedsatt immunförsvar⁸.

ANVÄNDNINGSPRINCIPER

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 är ett nukleinsyraamplifieringstest för detektion av hepatit C-virus (HCV) RNA i humant serum eller EDTA-plasma. Preparation utförs automatiskt med instrumentet COBAS® AmpliPrep och amplifiering och detektion utförs automatiskt med analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48.

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 baseras på tre grundläggande principer: (1) preparation för att isolera HCV RNA; (2) reverse transcription av target RNA för att skapa komplementärt DNA (cDNA) och (3) samtidig PCR-amplifiering av target cDNA och detektion av klyvda dubbelmärkta oligonukleotiddetekteringsprober som är specifika för target.

Preparation

I COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 används en generisk kiselbaserad isoleringsteknik vid den automatiska preparationen i instrumentet COBAS® AmpliPrep. Prowolymeren är 650 µl, och vid proceduren krävs 500 µl EDTA-plasma eller serum. HCV-viruspartiklarna lyseras genom inkubering i förhöjd temperatur med en proteas- och kaotropisk lyserings-/bindningsbuffert som frigör nukleinsyror och skyddar det frigjorda HCV RNA mot RNaser i serum eller EDTA-plasma. Proteas och ett känt antal HCV Internal Control (IC) RNA-molekyler tillsätts i varje prov tillsammans med lyseringsreagenset och magnetiska glaspartiklar. Därefter inkuberas blandningen och HCV RNA och HCV IC RNA binds till de magnetiska glaspartiklarnas yta. Obundna ämnen, t.ex. salter, proteiner och andra cellulära föroreningar tas bort när de magnetiska glaspartiklarna tvättas. När partiklarna har separerats och tvättningen är klar elueras de adsorberade nukleinsyorna i förhöjd temperatur med en vattenbaserad lösning. Det bearbetade provet, som innehåller det frigjorda HCV RNA och HCV IC RNA, läggs till i amplifieringsblandningen och överförs till analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48.

Reverse transcription och PCR-amplifiering

I COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 används reverse transcription av HCV RNA till komplementärt DNA (cDNA) och PCR-amplifiering av cDNA med primers för att definiera en sekvens inom den maximalt konserverade UTR (5'-untranslated region) för HCV-genomet⁹. Nukleotidsekvensen hos primers har optimerats så att den ger jämförbar amplifiering av HCV-genotyperna 1 till 6. Reverse transcription och PCR-amplifieringsreaktionen utförs med en optimerad blandning av värmebeständiga rekombinanta enzymer: Z05- och Z05D DNA-polymeras. Vid förekomst av mangan (Mn²⁺) och under korrekta buffertförhållanden har både Z05 och Z05D reverse transkriptas- och DNA-polymerasaktivitet. På så sätt kan både reverse transcription och PCR-amplifiering ske tillsammans med realtidsdetektion av amplicon.

Extraherade prover tillsätts i amplifieringsblandningen i amplifieringsrör (K-tubes) i vilka såväl reverse transcription som PCR-amplifiering sker. Reaktionsblandningen värms så att nedströmsprimern kan binda specifikt till HCV target RNA och till HCV IC RNA. Vid förekomst av Mn^{2+} och överskott av deoxinukleotidtrifosfater (dNTPs), inklusive deoxiadenosin-, deoxiguanosin-, deoxicytidin- och deoxiuridin-trifosfater förlänger Z05- och Z05D-polymeras bundna primers och bildar en DNA-sträng som är komplementär till RNA target.

Målskvensamplifiering

Efter reverse transcription av HCV target RNA och HCV IC RNA värms reaktionsblandningen av termocyklern i analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48 för att denaturera RNA:cDNA-hybriderna och exponera de specifika primer-målskvenserna. När blandningen svalnar binder primers till mål-cDNA. I närvaro av Mn^{2+} och överskott av deoxinukleotidtrifosfater (dNTPs) förlänger de värmebeständiga DNA-polymerasen (Z05 och Z05D) bundna primers långa målskvensen och producerar en dubbelsträngad DNA-molekyl som kallas ett amplicon. Analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48 upprepar automatiskt proceduren ett bestämt antal cykler, varvid varje cykel effektivt fördubblar mängden amplicon-DNA. Det erforderliga antalet cykler förprogrammeras i analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48. Amplifiering sker endast i regionen för HCV-genomet mellan primers. Hela HCV-genomet amplifieras inte.

Selektiv amplifiering

Selektiv amplifiering av target-nukleinsyra från provet kan göras med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 genom användning av AmpErase-enzym (uracil-N-glykosylas) och deoxiuridin-trifosfat (dUTP). AmpErase-enzymet påvisar och katalyserar nedbrytning av DNA-strängar som innehåller deoxiuridin¹⁰, men inte DNA som innehåller deoxitymidin. Deoxiuridin finns inte i naturligt förekommande DNA men finns däremot alltid i amplicon på grund av att deoxiuridintrifosfat används som en dNTP i Master Mix-reagenset, varför endast amplicon innehåller deoxiuridin. Deoxiuridin gör kontaminerande amplicon känsligt för nedbrytning av AmpErase-enzymet före amplifiering av målskvens-DNA. Det är även så att en icke-specifik produkt som är skapad efter en initial aktivering av Master Mix med mangan förstörs av AmpErase-enzymet. AmpErase-enzymet, som ingår i Master Mix-reagenset, katalyserar klyvning av DNA innehållande deoxiuridin vid deoxiuridinresterna genom att öppna deoxiriboskedjan vid C1-positionen. Vid uppvärmning i det första termocyklersteget bryts amplicon-DNA-kedjan vid deoxiuridinets position vilket ger icke amplifierbart DNA. AmpErase-enzymet är fortsatt inaktivt under en förlängd tidsperiod när det en gång har exponerats för temperaturer över 55 °C, dvs. genom värmecykkelstegen. Därför förstör inte enzymet target amplicon som bildas under PCR-reaktionen.

Detektion av klyvda dubbelmärkta prober och HCV RNA

I COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 används realtids-PCR^{14,15}. Användning av prober märkta med två olika fluorokromer möjliggör realtidsdetektion av PCR-produktansamling genom övervakning av emissionsintensitet av reporterfluorokromer som frigörs under amplifieringen. Proberna består av HCV- och HCV IC-specifika oligonukleotidprober med en reporterfluorokrom och en quencherfluorokrom. I COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 märks HCV- och HCV IC-proberna med olika reporterfluorokromer. Om proberna är intakta hämmas reporterfluorokromen av quencherfluorokromens närhet på grund av energiöverföringseffekter av Förster-typ. Medan PCR pågår hybridiseras proben till en målskvens och klyvs med 5' → 3' nukleasaktivitet hos värmebeständigt Z05- och Z05D DNA-polymeras. När reporterfluorokromen och quencherfluorokromen har frigjorts och separerats förhindras quenching och den fluorescerande aktiviteten hos reporterfluorokromen ökar. Amplifiering av HCV RNA och HCV IC RNA mäts oberoende vid olika våglängder. Proceduren upprepas för ett bestämt antal cykler, varvid varje cykel effektivt ökar emissionsintensiteten hos de enskilda reporterfluorokromerna, vilket ger oberoende identifiering av HCV RNA och HCV IC RNA.

I nukleinsyraamplifieringsprocesser kan effektiviteten minskas av hämmare som eventuellt förekommer i provet. HCV IC har lagts till i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 för att möjliggöra identifiering av bearbetade prover som innehåller ämnen som kan påverka PCR-amplifieringen. HCV IC är en icke smittbärande armored RNA-konstruktion (aRNA) som innehåller fragment av HCV-sekvenser med likadana primerbindningsställen som HCV target RNA och en unik probbindningsregion som gör att HCV IC amplicon kan särskiljas från HCV target amplicon. Den fungerar som en extraktions- och amplifieringskontroll för varje enskilt bearbetat prov.

Under extensionsfasen för PCR-cykeln på analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48 belyses och exciteras proverna av filtrerat ljus och data för filtrerad emissionsfluorescens samlas in för varje prov. Avläsningarna från varje prov korrigeras sedan för instrumentella variationer. Fluorescensavläsningarna skickas automatiskt till programmet AMPLIINK och sparas i en databas. Förkontroller används för att bestämma om HCV RNA- och HCV IC RNA-data motsvarar giltiga uppsättningar. Flaggor genereras när data ligger utanför de angivna gränserna. När alla förkontroller har utförts och avslutats startar fluorescensavläsningarna som genererar Ct-värden för HCV RNA och HCV IC RNA. Resultaten rapporteras som antingen positiva eller negativa.

REAGENS

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV

Qualitative Test, v2.0

(P/N: 05480477 190)

HCVQLV2

72 test

HCV QL v2.0 CS1

(Reagenskassett för magnetiska glaspartiklar för HCV)

Magnetiska glaspartiklar

Trisbuffert

0,09 % natriumazid

0,1 % metylparaben

1 x 72 test

1 x 7,0 ml

HCV QL v2.0 CS2

(lyseringsreagenskassett för HCV)

Natriumcitrat-dihydrat

42,5 % guanidiniocyanat

< 6 % polydokanol

0,9 % ditiotreitol

1 x 72 test

1 x 78,0 ml

HCV QL v2.0 CS3

HCV-multireagenskassett som innehåller:

Pase

(proteinaslösning)

Trisbuffert

< 0,05 % EDTA

Kalciumklorid

Kalciumacetat

- 7,8 % proteinas

Glycerol

1 x 3,8 ml

EB

(elueringsbuffert)

Tris-bas-buffert

0,09 % natriumazid

1 x 8,1 ml

HCV QL v2.0 CS4

HCV-testspecifik reagenskassett som innehåller:

IC

(HCV-internkontroll)

Trisbuffert

EDTA

< 0,002 % poly rA RNA (syntetiskt)

< 0,001 % Armored HCV RNA-konstruktion innehållande

HCV-primerbindningssekvenser samt en unik

probbindningsregion

(icke smittbärande RNA i MS2-bakteriofag)

0,05 % natriumazid

1 x 72 test

1 x 3,6 ml

MMX

(HCV Master Mix)

1 x 3,5 ml

Tricinbuffert

Kaliumacetat

Kaliumhydroxid

< 20 % dimetylsulfoxid

Glycerol

< 0,004 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP

< 0,002 % uppströms- och nedströms-HCV-primers

i 5' UTR-regionen av HCV

< 0,001 % fluorescensmärkta oligonukleotidprober specifika för HCV och HCV-internkontroll

< 0,001 % oligonukleotid-aptamer

< 0,05 % Z05- och Z05D DNA-polymeras (mikrobiellt)

< 0,1 % AmpErase-enzym (uracil-N-glykosylas) (mikrobiellt)

0,09 % natriumazid

Mn²⁺

(manganlösning för COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®)

1 x 19,8 ml

< 0,5 % manganacetat

Isättika

0,09 % natriumazid

HCV (+) C, v2.0

(positiv kontroll för HCV)

6 x 0,85 ml

< 0,001 % Armored HCV RNA-konstruktion innehållande

HCV-sekvenser (icke smittbärande RNA i MS2-bakteriofag)

Negativ human plasma, icke-reaktiv enligt test för antikropp mot HCV,

antikropp mot HIV-1/2, HIV p24-antigen och HBsAg; HIV-1 RNA,

HCV RNA och HBV DNA som inte PCR-metoder kan detektera

0,1 % ProClin® 300 konserveringsmedel

CTM (-) C

[COBAS® TaqMan® negativ kontroll (human plasma)]

6 x 1,0 ml

Negativ human plasma, icke-reaktiv enligt test för antikropp mot HCV,

antikropp mot HIV-1/2, HIV p24-antigen och HBsAg; HIV-1 RNA,

HCV RNA och HBV DNA som inte PCR-metoder kan detektera

0,1 % ProClin® 300 konserveringsmedel

HCV (+) C, v2.0 Clip

(positiv kontroll för HCV, streckkodsmärkt klämma)

1 x 6 klämmor

HCV (-) C, v2.0 Clip

(negativ kontroll för HCV, streckkodsmärkt klämma)

1 x 6 klämmor

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Wash Reagent

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® tvättreagens

(P/N: 03587797 190)

PG WR

1 x 5,1 l

PG WR

(COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® tvättreagens)

Natriumcitrat-dihydrat

< 0,1 % N-metylisotiazolon-HCl

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

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

A. FÖR *IN VITRO*-DIAGNOSTISK ANVÄNDNING.

- B. Detta test är avsett att användas med humant serum eller plasma som samlats i EDTA-rör med antikoagulerande medel.
- C. Pipettera inte med munnen.
- D. Ät, drick eller rök inte i laboratorium. Använd engångshandskar, laboratorierock och ögonskydd när du hanterar prover och kitets reagens. Tvätta händerna noga efter hantering av prover och testreagens.
- E. Undvik mikrobiell och ribonukleassmitta av reagens när portioner tas från kontrollflaskor.
- F. Användning av sterila engångspipetter och RNase-fria pipettspetsar rekommenderas.
- G. Sammanför inte kontroller från olika loter eller från olika flaskor i samma lot.
- H. Blanda inte reagenskassetter eller kontroller från olika kit.
- I. Öppna inte kassetter från COBAS® AmpliPrep eller byt ut, blanda, ta bort eller lägg till flaskor.
- J. Kassera oanvända reagens, avfall och prover enligt gällande nationella, regionala och lokala föreskrifter.
- K. Använd inte kit efter utgångsdatum.
- L. Säkerhetsdatablad (SDS) erhålls på begäran hos närmaste Roche-kontor.
- M. Prover och kontroller ska behandlas som smittbärande material i enlighet med exempelvis de laboratorierutiner som beskrivs i *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹¹ och i CLSI-dokument M29-A3¹². Rengör och desinficera noga alla arbetsytor med nyberedd lösning bestående av 0,5 % natriumhypoklorit i avjoniserat eller destillerat vatten.
- N. **CTM (-) C** och **HCV (+) C, v2.0** innehåller human plasma som härstammar från humant blod. Källmaterialet har testats och befunnits icke-reaktivt för hepatit B-ytantigen (HBsAg), antikropp mot HIV-1/2 och HCV samt HIV p24-antigen. Testning av negativ human plasma med PCR-metoder visade inte något detekterbart HIV-1 RNA, HCV RNA eller HBV DNA. Det finns inga testmetoder som ger fullständig säkerhet för att produkter från humant blod inte kan överföra smitta. Allt material av humant ursprung, inklusive **CTM (-) C** och **HCV (+) C, v2.0** ska därför anses som potentiellt smittsamt.
- O. **MGP, EB, IC, Mn²⁺** och **MMX** innehåller natriumazid. Natriumazid kan reagera med bly- eller kopparrör och bilda mycket explosiva metallazider. Förhindra aziduppbbyggnad genom att spola med mycket vatten om lösningar som innehåller natriumazid hålls ut i avloppet.
- P. Använd engångshandskar, laboratorierock och ögonskydd när du hanterar reagens. Undvik att dessa material kommer i kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Tvätta omedelbart med stora mängder vatten vid eventuell kontakt. Brännskador kan annars uppstå. Vid spill av dessa reagens ska du späda med vatten innan spillet torkas upp.
- Q. Se till att inte **HCV QL v2.0 CS2** och vätskeavfall inklusive använda COBAS® AmpliPrep Sample Processing Units (SPUs) från instrumentet COBAS® AmpliPrep, som innehåller guanidintiocyanat, kommer i kontakt med natriumhypokloritlösning (blekmedel). Dessa blandningar kan bilda en mycket giftig gas.

FÖRVARING OCH HANTERING

- A. Kontrollera varje reagenskassett och -behållare före användning och försäkra dig om att det inte finns tecken på läckage. Använd inte material om det finns tecken på läckage.
- B. Förvara **HCV QL v2.0 CS1**, **HCV QL v2.0 CS2**, **HCV QL v2.0 CS3** och **HCV QL v2.0 CS4** i 2–8 °C. Oanvända är dessa reagens hållbara till angivet utgångsdatum. Efter användning är dessa reagens hållbara i 70 dagar i 2–8 °C, dock längst till angivet utgångsdatum. **HCV QL v2.0 CS1**, **HCV QL v2.0 CS2**, **HCV QL v2.0 CS3** och **HCV QL v2.0 CS4** kan användas upp till 96 timmar sammanlagt i instrumentet COBAS® AmpliPrep. Reagens ska förvaras i 2–8 °C mellan instrumentcykler.
- C. Förvara **HCV (+) C, v2.0** och **CTM (–) C** i 2–8 °C. Dessa kontroller är hållbara till det angivna utgångsdatumet. När förpackningen öppnats ska eventuella oanvända delar av innehållet kasseras.
- D. Förvara streckkodsmärkta klämmor [**HCV (+) C, v2.0 Clip** och **HCV (–) C, v2.0 Clip**] i 2–30 °C.
- E. Förvara **PG WR** i 2–30 °C. Oanvänt **PG WR** är hållbart till angivet utgångsdatum. Efter att förpackningen öppnats är reagenset hållbart i 28 dagar i 2–30 °C, dock längst till angivet utgångsdatum.

MATERIAL SOM MEDFÖLJER

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0

HCVQLV2

HCV QL v2.0 CS1

(Reagenskassett för magnetiska glaspartiklar för HCV)

HCV QL v2.0 CS2

(lyseringsreagenskassett för HCV)

HCV QL v2.0 CS3

(multireagenskassett för HCV)

HCV QL v2.0 CS4

(testspecifik reagenskassett för HCV)

HCV (+) C, v2.0

(positiv kontroll för HCV)

CTM (–) C

[COBAS® TaqMan® negativ kontroll (human plasma)]

HCV (+) C, v2.0 Clip

(positiv kontroll för HCV, streckkodsmärkt klämma)

HCV (–) C, v2.0 Clip

(negativ kontroll för HCV, streckkodsmärkt klämma)

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® tvättreagens

PG WR

PG WR

(COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® tvättreagens)

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE MEDFÖLJER

Instrument och programvara

- Instrumentet COBAS® AmpliPrep
 - Analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48
 - Docking Station (tillval)
 - Instrumentet **cobas p 630** (tillval)
 - Programmet AMPLILINK, version 3.3- eller version 3.4-serien
 - Kontrollenhet för programmet AMPLILINK, med skrivare
 - Instrument- och programhandböcker:
 - Instrumenthandbok till COBAS® AmpliPrep för användning med programmet AMPLILINK, version 3.3- och 3.4-serien
 - Instrumenthandbok till analysinstrumentet COBAS® TaqMan® för användning med programmet AMPLILINK, version 3.3- och 3.4-serien
 - Instrumenthandbok till analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48 för användning med programmet AMPLILINK, version 3.3- och 3.4-serien
 - Applikationshandbok till programmet AMPLILINK, version 3.3-serien för användning med instrumentet COBAS® AmpliPrep, analysinstrumentet COBAS® TaqMan®, analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48, analysinstrumentet COBAS® AMPLICOR och instrumentet **cobas p 630**
- eller
- Applikationshandbok till programmet AMPLILINK, version 3.4-serien
 - Tillval: användarhandbok till instrumentet **cobas p 630**, programversion 2.2
- Testdefinitionsfil (TDF). Namn och aktuell version på TDF-filen anges på produktinformationskortet som medföljer kitet.

Övrigt material

- Provrack (SK24 rack)
- Reagensrack
- SPU-rack
- K-carrier
- K-carrier-transportör
- K-carrier-rack
- Pipetter med RNase-fria spetsar och aerosolbarriär eller positiv förskjutning (kapacitet 1 000 µl); pipetterna ska ha en noggrannhet inom 3 % av angiven volym. RNase-fria spetsar med aerosolbarriär eller positiv förskjutning ska användas för att hindra överföring av smitta mellan prov och amplicon.
- Engångshandskar, puderfria
- Vortexmixer

Engångsartiklar

- SPU (Sample Processing Unit)
- S-tubes (Sample input tubes) med streckodsklämmer
- Rack för K-tips
- K-tube, förpackning 12 x 96

PROVTAGNING, TRANSPORT OCH FÖRVARING AV PROVER

OBS! Hantera alla prover och kontroller som potentiellt smittbärande.

Provtagning och förvaring av prover

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 ska användas med serum eller EDTA-plasmaprover. Blod ska uppsamlas i serumseparationsrören SST®, BD Vacutainer® PPT™-plasma-preparationsrör för molekylära diagnostiska testmetoder eller i sterila rör med EDTA (lila kork) som antikoagulant. Följ tillverkarens anvisningar för hantering av provrör. Färska prover (helblod) kan förvaras i 2–25 °C i upp till 24 timmar före centrifugering. Överför serum eller EDTA-plasma till ett sterilt polypropylenrör efter centrifugering. Vi rekommenderar att prover förvaras i portioner om ungefär 1 000 µl i sterila 2,0 ml-polypropylenrör med skruvkork (t.ex. 2 ml Sarstedt-mikrorör med skruvkork). Serum och EDTA-plasmaprover kan förvaras:

- i 2–8 °C i upp till 72 timmar
- i –20 °C till –80 °C i upp till 6 veckor

Serum- och EDTA-plasmaprover kan frysas och tinas högst fem gånger utan förlust av HCV RNA.

Transport av prover

Vid transport av helblod, serum eller EDTA-plasma ska gällande bestämmelser för transport av etiologiska agens följas¹³. Helblod ska transporteras i 2–25 °C och centrifugeras inom 24 timmar efter provtagning. EDTA-plasma och serum kan transporteras i 2–8 °C eller fruset i –20 °C till –80 °C.

BRUKSANVISNING

Detaljerad information om användning, vilka konfigurationer som kan väljas, utskrift av resultat samt tolkning av flaggor, kommentarer och felmeddelanden finns i handboken till programmet AMPLILINK, version 3.3- eller version 3.4-serien, som listas i avsnittet "Instrument och programvara".

Omgångsstorlek och arbetsflöde

Varje kit innehåller reagens som räcker till 72 test som kan utföras i omgångar om 12 till 24 test. Minst en kontroll vardera av [CTM (–) C och HCV (+) C, v2.0] måste ingå i varje omgång (se avsnittet "Kvalitetskontroll"). Körningen med analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48 måste startas inom 120 minuter efter att prov- och kontrollpreparationen har slutförts. De bearbetade proverna och kontrollerna FÅR varken FRYSAS eller FÖRVARAS i 2–8 °C.

Prov- och kontrollpreparation

Om frysta prover används ska proverna placeras i rumstemperatur tills de är helt tinade och vortexas i 3–5 sekunder innan de används. Kontrollerna ska tas bort från förvaringen i 2–8 °C, värmas till rumstemperatur och vortexas i 3–5 sekunder innan de används.

Arbetsgång för instrumentet COBAS® AmpliPrep

Del A. Underhåll och prime

- A1. Instrumentet COBAS® AmpliPrep är färdigt att användas i standbyläge.
- A2. Slå **PÅ** kontrollenheten för programmet AMPLILINK. Förbered kontrollenheten på följande sätt:
 1. Logga in på Microsoft Windows-operativsystemet.
 2. Dubbelklicka på programikonen AMPLILINK.
 3. Logga in på programmet AMPLILINK genom att ange ditt användar-id och lösenord.
- A3. Kontrollera förrådet av **PG WR** med hjälp av fönstret **Status** och byt om det behövs.
- A4. Utför det underhåll som anges på fliken **Due**. Instrumentet COBAS® AmpliPrep utför automatiskt prime på systemet.

Del B. Ladda reagenskassetter

OBS! *Alla reagenskassetter ska tas bort från förvaringen i 2–8 °C, omedelbart sättas in i instrumentet COBAS® AmpliPrep och ekvibreras till rumstemperatur i instrumentet i minst 30 minuter innan det första provet bearbetas. Ställ inte reagenskassetterna utanför instrumentet när de ska uppnå rumstemperatur eftersom kondens kan bildas på streckkodsetiketterna. Torka inte av kondensen om sådan uppstår på streckkodsetiketterna.*

- B1. Placera **HCV QL v2.0 CS1** i ett reagensrack. Placera **HCV QL v2.0 CS2**, **HCV QL v2.0 CS3** och **HCV QL v2.0 CS4** i ett separat reagensrack.
- B2. Ladda det reagensrack som innehåller **HCV QL v2.0 CS1** i rackposition **A** i instrumentet COBAS® AmpliPrep.
- B3. Ladda det reagensrack som innehåller **HCV QL v2.0 CS2**, **HCV QL v2.0 CS3** och **HCV QL v2.0 CS4** i rackposition **B**, **C**, **D** eller **E** i instrumentet COBAS® AmpliPrep (detaljerad information finns i motsvarande instrumenthandböcker).

Del C. Ladda engångsartiklar

OBS! *Fastställ hur många COBAS® AmpliPrep-reagenskassetter, SPU (Sample Processing Units), Input Sample tubes (S-tubes), K-tips och K-tubes som behövs. En SPU, ett Input S-tube, en K-tip och ett K-tube behövs för varje prov eller kontroll.*

Du kan välja bland flera konfigurationer vid användning av instrumentet COBAS® AmpliPrep med analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48. Sätt in det antal reagenskassettrack, provrack med Input S-tubes, SPU-rack, K-tip-rack, K-tube-rack och K-carriers i K-carrier-rack som krävs för den konfiguration som valts, i respektive rackposition i instrumentet COBAS® AmpliPrep.

- C1. Placera SPU i SPU-racken och ladda racken i rackposition **J**, **K** eller **L** i instrumentet COBAS® AmpliPrep.
- C2. Ladda fyllda K-tube-rack i rackposition **M**, **N**, **O** eller **P** enligt vald konfiguration i instrumentet COBAS® AmpliPrep.
- C3. Ladda fyllda K-tip-rack i rackposition **M**, **N**, **O** eller **P** i instrumentet COBAS® AmpliPrep.
- C4. Ladda fyllda K-carriers i K-carrier-rack i rackposition **M**, **N**, **O** eller **P** enligt vald konfiguration i instrumentet COBAS® AmpliPrep.

Del D. Beställa och ladda prover

- D1. Bered provrack på följande sätt: Fäst en streckkodsklämman i de provrackpositioner där ett prov (S-tube) ska placeras. Anslut en av de specifika streckkodsklämmorna för kontroller [**CTM (-) C** och **HCV (+) C, v2.0**] till de provrackpositioner där kontrollerna (S-tube) ska placeras. Streckkodsklämmorna för kontroller ska ha samma kontrollotsnummer som lotnumret på kontrollflaskorna i kitet. Var noga med att tilldela varje kontroll positionen med motsvarande kontrollstreckkodsklämman. Placera ett Input S-tube i varje position som är märkt med en streckkodsklämman.
- D2. Skapa provbeställningar för varje prov och kontroll på fliken **Sample** i fönstret **Orders** i programmet AMPLILINK. Välj lämplig testfil och avsluta genom att spara.
- D3. Tildela prov- och kontrollbeställningarna rackpositioner på fliken **Sample Rack** i fönstret **Orders**. Provracksnumret måste vara samma rack som bereddes i steg D1.
- D4. Skriv ut rapporten för provracksbeställning (**Sample Rack Order**) som ett arbetsblad.
- D5. Bered prov- och kontrollrack i det område som är avsett för överföring av prover och kontroller på följande sätt: Vortexa varje prov och kontroll [**CTM (-) C** och **HCV (+) C, v2.0**] i 3 till 5 sekunder. Undvik att förorena handskena när du hanterar prover och kontroller.

D6. Överför 650 µl av varje prov och kontroll [**CTM (-) C** och **HCV (+) C, v2.0**] i rätt streckkodsmärkta Input S-tube med hjälp av en mikropipett med RNase-fri spets med aerosolbarriär eller positiv förskjutning. **Undvik att överföra partiklar och/eller fibrinkoagel från ursprungsproverna till Input S-tube.** Prover och kontroller ska överföras till de rörpositioner som tilldelats och antecknats på arbetsbladet i steg D4. Streckkodsklämmorna för kontroller ska ha samma kontrollotsnummer som lotnumret på kontrollflaskorna i kitet. Tilldela varje kontroll positionen med motsvarande kontrollstreckkodsklämma. **Undvik att kontaminera den övre delen av S-tube med prover eller kontroller.**

D7. Läs användarhandboken till instrumentet **cobas p 630** om du använder **cobas p 630** för preparation.

D8. Beroende på den aktuella konfigurationen ska provracken som är fyllda med Input S-tubes placeras i rackpositionen **F, G** eller **H** i instrumentet COBAS® AmpliPrep.

D9. Beroende på den aktuella konfigurationen ska provracken laddas med Input S-tubes och K-tubes (ett för varje Input S-tube, i rätt position intill Input S-tubes) i rackposition **F, G** eller **H** i instrumentet COBAS® AmpliPrep.

Del E. Starta körning med instrumentet COBAS® AmpliPrep

E1. Starta instrumentet COBAS® AmpliPrep med hjälp av programmet AMPLILINK.

Del F. Avsluta körning med instrumentet COBAS® AmpliPrep och överföring till analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48 (endast för manuell överföring)

F1. Kontrollera om det finns flaggor eller felmeddelanden.

F2. Ta bort bearbetade prover och kontroller från instrumentet COBAS® AmpliPrep, antingen i provrack (för analysinstrumentet COBAS® TaqMan® utan Docking Station) eller i K-carrier-rack (för analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48), enligt aktuell konfiguration.

F3. Avlägsna avfall från instrumentet COBAS® AmpliPrep.

OBS! Alla bearbetade prover och kontroller ska skyddas mot ljus efter att prov- och kontrollpreparationen har slutförts.

Amplifiering och detektion

Förberedelse av analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48

Körningen med analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48 måste startas inom 120 minuter efter att prov- och kontrollpreparationen har slutförts. De bearbetade proverna och kontrollerna FÅR varken FRYSAS eller FÖRVARAS i 2–8 °C.

Del G. Ladda bearbetade prover

G1. Överför K-tubes till analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48 genom att utföra de steg som krävs för den instrumentkonfiguration som används.

Del H. Starta körning med analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48

H1. Starta analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48 beroende på vilken konfiguration som används.

Del I. Avsluta körning med analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48

I1. När körningen i analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48 har slutförts ska resultatrapporten skrivas ut. Kontrollera om det finns flaggor eller felmeddelanden i resultatrapporten. Hur prover med flaggor och kommentarer ska tolkas beskrivs i avsnittet "Resultat". Efter att data har godkänts ska de sparas.

I2. Ta bort använda K-tubes från analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48.

KVALITETSKONTROLL

En COBAS® TaqMan® negativ kontroll och en positiv kontroll för HCV måste ingå i varje testomgång. Omgången är giltig om inga flaggor visas för någon av kontrollerna [**HCV (+) C, v2.0** och **CTM (-) C**].

Det finns inga krav avseende kontrollernas position i provracket.

Kontrollera om det finns flaggor och kommentarer i utskriften så att du säkerställer att omgången är giltig.

Negativ kontroll

CTM (-) C måste ge ett "Negative"-resultat. Om **CTM (-) C** flaggas som ogiltig är hela omgången ogiltig. Upprepa hela förfarandet (prov- och kontrollpreparation, amplifiering och detektion). Om **CTM (-) C** är konsekvent ogiltig i flera omgångar ska du kontakta din Roche-representant och begära teknisk hjälp.

Positiv kontroll

HCV (+) C, v2.0 måste ge ett "Positive"-resultat. Om **HCV (+) C, v2.0** flaggas som ogiltig är hela omgången ogiltig. Upprepa hela förfarandet (prov- och kontrollpreparation, amplifiering och detektion). Om **HCV (+) C, v2.0** är konsekvent ogiltig i flera omgångar ska du kontakta din Roche-representant och begära teknisk hjälp.

RESULTAT

Förekomst av HCV RNA för proverna och kontrollerna fastställs automatiskt i analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48.

Programmet AMPLILINK:

- Bestämmer Ct-värdet för HCV RNA och HCV IC RNA.
- Bestämmer förekomst av HCV RNA och HCV IC RNA baserat på Ct-värdena för HCV RNA och HCV IC RNA.

Validering av omgång:

Försäkra dig om att omgången är giltig genom att kontrollera om det förekommer flaggor eller kommentarer i utskriften eller i resultatfönstret i programmet AMPLILINK.

För kontrollbeställningar utförs en kontroll för att bestämma om kontrollens Ct-värde ligger inom dess angivna intervall. Om kontrollens Ct-värde ligger utanför intervallet genereras en flagga som visar att kontrollen har misslyckats.

Omgången är giltig om inga flaggor visas för någon av kontrollerna [**HCV (+) C, v2.0** och **CTM (-) C**].

Omgången är inte giltig om någon av följande flaggor visas för HCV-kontrollerna:

Negativ kontroll:

Flagga	Resultat	Betydelse
NC_INVALID	Invalid	Ett ogiltigt resultat eller resultatet för den negativa kontrollen är inte negativt.

Positiv kontroll för HCV:

Flagga	Resultat	Betydelse
PC_INVALID	Invalid	Ett ogiltigt resultat eller resultatet för den positiva kontrollen är inte positivt.

Om omgången är ogiltig måste du upprepa hela omgången inklusive prov- och kontrollpreparation, reverse transcription, amplifiering och detektion.

Tolkning av resultat:

För en giltig omgång ska varje enskilt prov kontrolleras avseende flaggor eller kommentarer på resultatutskriften.

⇒ En giltig omgång kan innehålla både giltiga och ogiltiga provresultat, beroende på om flaggor och/eller kommentarer erhålls för de enskilda proverna.

Provresultaten tolkas på följande sätt:

Resultat	Betydelse
Negative	Ct-värde för HCV ovanför gränsen för analysen eller inget Ct-värde har erhållits för HCV. Rapportera resultat som "HCV RNA inte detekterat".
Positive	Rapportera resultat som "HCV RNA detekterat".

Om provresultatet visas som "Failed", "Invalid" eller "Aborted", se anvisningar i applikationshandboken till programmet AMPLILINK, version 3.3- eller version 3.4-serien som listas i avsnittet "Material som behövs men inte medföljer".

TESTETS BEGRÄNSNINGAR

1. Detta test har endast validerats för användning med humant serum eller plasma som samlats i EDTA-antikoagulantia. Testning av andra provtyper kan resultera i felaktiga resultat.
2. Mutationer inom de maximalt konserverade regionerna på det virusgenom som täcks av testets primers och/eller prober är visserligen sällsynta, men kan göra att viruset inte kan detekteras.
3. Detektion av HCV RNA är beroende av antalet viruspartiklar i provet och kan påverkas av provtagningsmetoder, patientfaktorer (t.ex. ålder, förekomst av symptom) och/eller infektionsstadium.
4. Resultatens tillförlitlighet förutsätter rätt provtagning, transport, förvaring och behandling av prover.
5. Förekomsten av AmpErase-enzym i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Master Mix minskar risken för amplicon-kontaminering. Smitta från positiva kontroller för HCV och kliniska prover kan dock endast undvikas om god laboratoriesed iakttas och de förfaranden som beskrivs i denna bipacksedel nogt följs.
6. Denna produkt ska endast användas av personal som har utbildats i användning av instrumentet **cobas p** 630 (tillval), instrumentet COBAS® AmpliPrep och analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48. Användaren ska ha goda kunskaper om de applikationer som körs på instrumenten och ska iakta god laboratoriesed.
7. Denna produkt kan endast användas med instrumentet **cobas p** 630 (tillval), instrumentet COBAS® AmpliPrep och analysinstrumentet COBAS® TaqMan® eller analysinstrumentet COBAS® TaqMan® 48.
8. På grund av inneboende skillnader mellan metoder rekommenderas användaren, innan en metod byts ut mot en annan, att genomföra metodkorrelationsanalyser i laboratoriet för att bedöma skillnaderna mellan metoderna.

INTERFERERANDE ÄMNEN

Förhöjda nivåer av triglycerider (3 300 mg/dl), konjugerat bilirubin (25 mg/dl) och okonjugerat bilirubin (20 mg/dl), albumin (6 000 mg/dl), hemoglobin (200 mg/dl) och humant DNA (40 mg/dl) i proverna samt förekomst av autoimmuna sjukdomar, t.ex. systemisk lupus erythematosus (SLE), reumatoid artrit (RA) och antinukleära antikroppar (ANA) interfererade inte med detektion av HCV RNA i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0.

Följande läkemedelsföreningar som testats vid topplasmanivå (C_{max}) och vid 3 gånger C_{max} interfererade inte med detektion av HCV RNA med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0:

Nukleotid reverse transkriptas- och DNA polymeras-hämmare Tenofovir Adefovir dipivoxil	Ikke-nukleosid reverse transkriptas-hämmare Efavirenz Nevirapin
HIV-proteashämmare Atazanavir Sakvinavir Ritonavir Lopinavir/Ritonavir Nelfinavir Darunavir Tipranavir Fosamprenavir	Nukleosid reverse transkriptas-hämmare Lamivudin Zidovudin Stavudin Abacavir Didanosin Emtricitabin Entecavir Telbivudin
HIV-fusionshämmare Enfuvirtid	HIV-inträdeshämmare Maraviroc
Föreningar för behandling av herpes-virus Ganciklovir Valganciclovir Acyklovir	Immunmodulatorer Peginterferon alfa-2b Ribavirin Peginterferon alfa-2a
HIV-integrashämmare Raltegravir	

IKKE-KLINISK EGENSKAPSVÄRDERING

A. Detektionsgräns

Detektionsgränsen för COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 fastställdes genom analys av seriella spädningar av WHO:s internationella standard för hepatit C-virus RNA för NAT-testning (Nucleic Acid Amplification Technology Assays), genotyp 1a, erhållet från NIBSC, i HCV-negativ human EDTA-plasma eller serum. Tre oberoende spädningar analyserades för varje matris. Totalt upp till 252 replikat per koncentrationnivå testades för varje matristyp. Studien utfördes med tre reagensloter i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0.

Resultaten för EDTA-plasma och serum i tabell 1 respektive 2 visar att COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 detekterade HCV RNA i koncentrationerna 15 IU/ml eller mer med en träffsannolikhet på $\geq 95\%$. Skillnaden mellan serum och EDTA-plasma var inte statistiskt signifikant.

Tabell 1
Detektionsgräns i EDTA-plasma fastställd enligt WHO:s första internationella standard
för hepatit C-virus RNA för NAT-testning (Nucleic Acid Amplification Technology Assays)

Input titer (HCV RNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träff-sann. (%)
50	314	314	100
25	314	313	100
15	314	308	98
10	315	291	92
5	315	228	72
2,5	314	157	50
0	313	0	0
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet	12 IU/ml 95 % konfidensintervall: 10–13 IU/ml		
Detektionsgräns genom träffsannolikhet	15 IU/ml		

Tabell 2
Detektionsgräns i serum fastställd enligt WHO:s första internationella standard
för hepatit C-virus RNA för NAT-testning (Nucleic Acid Amplification Technology Assays)

Input titer (HCV RNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träff-sann. (%)
50	251	251	100
25	251	250	100
15	252	248	99
10	252	232	92
5	252	185	73
2,5	252	116	46
0	251	0	0
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet	11 IU/ml 95 % konfidensintervall: 10–13 IU/ml		
Detektionsgräns genom träffsannolikhet	15 IU/ml		

B. Precision

Precisionen för COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 fastställdes genom analys av seriella spädningar av WHO:s internationella standard för hepatit C-virus RNA för NAT-testning (Nucleic Acid Amplification Technology Assays) i HCV-negativ human EDTA-plasma eller serum.

Två koncentrationsnivåer (5 IU/ml och 50 IU/ml) testades i upp till 168 replikat i 12 körningar på 4 dagar. Varje prov genomgick hela proceduren med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0, inklusive preparation, amplifiering och detektion. Studien utfördes med tre reagenslotter i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0. Alla giltiga precisionsdata utvärderades genom att beräkna träffsannolikheten i % för varje panelprov efter reagenslot (kombinerat för båda matriserna).

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 visar konsekventa egenskaper vid koncentrationsnivåerna 5 IU/ml och 50 IU/ml för EDTA-plasma- och serumprover i alla tre testade reagenslotter (tabell 3).

Tabell 3
Precision för COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0
(EDTA-plasma- och serumprover)

Nominell koncentration [IU/ml]	Träff-sann. (%)		
	Lot 1	Lot 2	Lot 3
5	74	70	74
50	100	100	100

C. Inklusivitet

Egenskaper för COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 med HCV-genotyper utvärderades genom att verifiera detektionsgränsen för genotyp 1 till 6.

Kliniska HCV RNA-prover för 8 olika genotyper/subtyper (1a, 1b, 2a, 2b, 3, 4, 5 och 6) späddes till tre olika koncentrationsnivåer i EDTA-plasma eller serum och en bestämning av träffsannolikhet utfördes för varje nivå med upp till 63 replikat. Studien utfördes med en reagenslot i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0.

Resultaten för EDTA-plasma och serum i tabell 4 respektive 5 verifierar att COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 detekterade HCV RNA för 8 olika genotyper/subtyper vid koncentrationer på 15 IU/ml eller mer med en träffsannolikhet på ≥ 95 %. Skillnaden mellan serum och EDTA-plasma var inte statistiskt signifikant.

Tabell 4
Detektionsgränsverifiering för HCV RNA-genotyper i EDTA-plasma

Genotyp	5 IU/ml			15 IU/ml			45 IU/ml		
	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träff-sann. (%)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träff-sann. (%)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träff-sann. (%)
1a	63	44	70	63	63	100	63	63	100
1b	63	47	75	63	62	98	63	63	100
2a	63	43	68	63	61	97	62	61	98
2b	62	57	92	62	62	100	62	62	100
3	62	58	94	63	63	100	62	62	100
4	63	43	68	63	62	98	63	63	100
5	63	46	73	62	62	100	62	62	100
6	63	54	86	62	62	100	63	63	100

Tabell 5
Detektionsgränsverifiering för HCV RNA-genotyper i serum

Genotyp	5 IU/ml			15 IU/ml			45 IU/ml		
	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träff-sann. (%)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träff-sann. (%)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träff-sann. (%)
1a	63	45	71	62	62	100	63	63	100
1b	62	50	81	63	63	100	63	63	100
2a	62	47	76	61	60	98	63	63	100
2b	63	42	67	63	62	98	63	63	100
3	63	58	92	63	63	100	63	63	100
4	63	40	64	63	62	98	63	63	100
5	62	46	74	61	60	98	62	62	100
6	63	51	81	63	63	100	63	63	100

D. Diagnostisk sensitivitet

Den diagnostiska sensitiviteten för COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 fastställdes genom analys av individuella HCV RNA-positiva EDTA-plasma- eller serumprover (totalt 337 resultat) med två reagensloter i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0. Alla prover var positiva för HCV RNA. I den här panelen är den diagnostiska sensitiviteten för COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 100 % (ensidig nedre 95-procentig konfidensgräns: $\geq 99,1$ %).

Dessutom utvärderades den diagnostiska sensitiviteten för COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 under serokonversion. Proverna i 10 kommersiellt tillgängliga HCV serokonversionspaneler, där var och en tagits från en individuell plasmadonator under en period av HCV antikropp-serokonversion, testades med en reagenslot i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 detekterade HCV tidigare i 10 av 10 serokonversionspaneler, jämfört med serologireferensen Abbott HCV EIA (enzymimmunananalys) 2.0. Vid jämförelse med ett annat NAT-test (COBAS® AMPLICOR HCV Test, v2.0) detekterades HCV RNA av COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 tidigare (2 av 10 paneler) eller på samma dag efter datumet för första provtagningen (8 av 10 paneler).

E. Specificitet

Specificiteten för COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 fastställdes genom analys av HCV RNA-negativa och seronegativa prover med EDTA-plasma eller serum från bloddonatorer. Enskilda EDTA-plasma- och serumprover (totalt 500 resultat) testades med två reagensloter i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0. 499 prover var negativa för HCV RNA. I den här panelen är specificiteten för COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 99,8 % (ensidig nedre 95-procentig konfidensgräns: $\geq 99,1$ %).

F. Analytisk specificitet

Den analytiska specificiteten för COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 utvärderades genom spädning av högtiterstammar av olika patogener (se tabell 6) med HCV RNA-positiva och HCV RNA-negativa kliniska EDTA-plasmaprover. Ingen av icke-HCV-patogenerna interfererade med testegenskaperna eller uppvisade ett falskt positivt resultat med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0.

Tabell 6
Prover för bestämning av analytisk specificitet

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

G. Egenskaper jämfört med COBAS® AMPLICOR HCV Test, v2.0

Egenskaperna hos COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 och COBAS® AMPLICOR HCV Test, v2.0 jämfördes genom analys av serum- och EDTA-plasmaprover från HCV-smittade patienter. Totalt 463 prover för genotyperna 1 till 6 för EDTA-plasma och genotyperna 1 till 4 för serum analyserades i duplikat. Resultaten för 436 EDTA-plasma- och serumprover var positiva och inom detektionsintervallet för båda testen, vilket ger en positiv överensstämmelse på 100 % mellan COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 och COBAS® AMPLICOR HCV Test, v2.0. Resultat för 27 prover exkluderades från dataanalysen; 3 prover hade otillräcklig volym för att kunna testas med COBAS® AMPLICOR HCV Test, v2.0, 4 prover gav resultatet "Target Not Detected" i alla analyser med båda testen, 8 prover gav avvikande resultat mellan de 2 replikaten inom varje test, 12 prover gav avvikande resultat mellan de båda testen [princip för exkludering: alla de här proverna hade HCV-koncentrationer under detektionsgränsen för COBAS® AMPLICOR HCV Test, v2.0, detektionsgräns (95-procentig detektionssannolikhet) för plasma: 50 IU/ml, detektionsgräns för serum: 60 IU/ml]. Alla negativa EDTA-plasma- och serumprover som testades (totalt 200 resultat) var giltiga och gav ett negativt resultat, vilket gav en negativ överensstämmelse på 100 % mellan COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Qualitative Test, v2.0 och COBAS® AMPLICOR HCV Test, v2.0.

REFERENSER

1. Choo Q-L., Kuo G, Weiner AJ, Overby LR., Bradley DW and Houghton M. 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis viral genome. *Science* **244**:359-362.
2. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP et al. 2006. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med* **144**:705-714.
3. Rustgi VK. 2007. The epidemiology of hepatitis C infection in the United States. *J Gastroenterol* **42**:513-521.
4. Lauer GM, Walker BD. 2001. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* **345**:41-52.
5. Caruntu FA, Benea L. 2006. Acute hepatitis C virus infection: Diagnosis pathogenesis, treatment. *JGLD* **15**:249-256.
6. Gretsch D, del la Rosa D, Corey L and Carithers R. 1996. Assessment of Hepatitis C viremia using molecular amplification technologies. *Viral Hepat Rev* **2**:85-96.
7. Young KKY, Resnick R and Myers TW. 1993. Detection of hepatitis C virus RNA by a combined reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay. *J Clin Microbiol* **31**:882-886.
8. NIH. 1997. Management of Hepatitis C. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement #105.
9. Bukh J, Purcell RH and Miller RH. 1992. Sequence analysis of the 5' noncoding region of hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**:4942-4946.
10. Longo MC, Berninger MS and Hartley JL. 1990. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene* **93**:125-128.
11. U.S. Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th Edition, HHS Publication No. (CDC) 21-1112; December 2009.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline – 3rd Edition. CLSI Document M29-A3. CLSI: Wayne, PA 2005.
13. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 49th Edition. 2008.
14. Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P.S., and Griffith, R. 1992. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Bio-Technology* **10**:413-417.
15. Heid, C.A., Stevens, J., Livak, J.K., and Williams, P.M. 1996. Real time quantitative PCR. *Genome Research* **6**:986-994.

Information om revidering av dokumentet	
Doc. Rev. 3.0 (Mfg-US) 02/2019	Numret för anmält organ under CE-märkningen har uppdaterats. Kontakta Roche kundsupport vid eventuella frågor.
Doc. Rev. 4.0 (Mfg-US) 09/2019	Avsnittet FÖRVARING OCH HANTERING har uppdaterats med information om att användaren ska kontrollera produkten visuellt innan användning för att försäkra sig om att det inte finns tecken på läckage, samt att inte använda produkten om det finns tecken på läckage. Adressen till Roches webbplats, www.roche.com, har lagts till. Sidan med harmoniserade symboler har uppdaterats. Kontakta Roche kundsupport vid eventuella frågor.



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



Distributed by

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

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

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

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

Roche Diagnostics
2, Avenue du Vercors
38240 Meylan, France

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

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

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

Varumärken och patent

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

©2019 Roche Molecular Systems, Inc.

09/2019
Doc Rev. 4.0 (Mfg-US)

07941706001-04



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Följande symboler används för närvarande vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter.



Stödprogramvara



Lotnummer



Auktoriserad representant
i Europeiska gemenskapen



Biologisk risk



Streckkodsdatablad



Katalognummer



Se bruksanvisningen



Endast för IVD-egenskapsutvärdering



Innehåller tillräckligt med reagens
för $<n>$ analyser



Lägre gräns för tilldelat intervall



Utrustningen innehåller



Tillverkare



Distribueras av



Förvaras mörkt



Medicinteknisk produkt för *in vitro*-
diagnostik



Temperaturgräns



Testdefinitionsfil



Utgångsdatum



Övre gräns för tilldelat intervall



GTIN-nummer



Tillverkningsdatum

Rx Only

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



Denna produkt uppfyller kraven enligt det Europeiska direktivet 98/79/EG
om medicintekniska produkter för *in vitro*-diagnostik.