

cobas[®] HCV GT

**HCV-genotipizáló teszt
cobas**[®] 4800 rendszeren való használatra

In vitro diagnosztikai célra

cobas [®] HCV GT	120 Tests	P/N: 06984274190
cobas [®] HCV GT Control Kit	10 Sets	P/N: 06984339190
cobas [®] 4800 System Sample Preparation Kit 2	240 Tests	P/N: 06979513190
	960 Tests	P/N: 06979521190
cobas [®] 4800 System Wash Buffer Kit	240 Tests	P/N: 05235863190
	960 Tests	P/N: 05235871190
cobas [®] 4800 System Lysis Kit 2	240 Tests	P/N: 06979530190
	960 Tests	P/N: 06979548190

TARTALOMJEGYZÉK

A felhasználás célja

A teszt összegzése és ismertetése

Háttér	4
A HCV-genotipizálás elméleti alapjai	4
A vizsgálat háttere	4
Az eljárás alapelvei	5

Anyagok és reagensek

Reagensek	6
A reagensek tárolási és kezelési feltételei	11
További szükséges anyagok	11
Szükséges, de nem biztosított eszközök és szoftverek	12

Óvintézkedések és kezelési követelmények

Figyelmeztetések és óvintézkedések	13
Helyes laboratóriumi gyakorlat	13
Reagensek kezelése	14
Szennyeződés	14
Felhasználhatóság	14
Hulladékkezelés	15
Kiömlés és tisztítás	15
Minták levétele, szállítása és tárolása	15
Mintavétel	15
Minták szállítása, tárolása és stabilitása	16

Használati utasítás

A teszt futtatása	16
Futtatási mennyiség	17
Munkafolyamat	17

Eredmények

Minőségellenőrzés és az eredmények érvényessége	20
Kontrollereredmények értékelése	20
Az eredmények értelmezése	20
Eredményjelzők listája	21
Az eljárással kapcsolatos korlátozások	22

A nem klinikai teljesítmény értékelése

A fontosabb teljesítményjellemzők	23
Pontosság	23
Kimutatási határ (LoD)	24

Reprodukálhatóság	25
Vegyes genotípusú fertőzések	26
Specifitás	26
Analitikai specifitás	27
Analitikai specifitás – zavaró anyagok	27
Módszerkorreláció	29
Teljes rendszerhiba	30
Keresztzennyeződés	30

További információk

A teszt legfontosabb tulajdonságai	31
Szimbólumok	32
Technikai segítségnyújtás	33
Gyártó	33
Védjegyek és szabadalmak	33
Szerzői jogok	33
Hivatkozások	34
Dokumentumverzió	35

A felhasználás célja

A **cobas®** HCV GT egy *in vitro* nukleinsav-amplifikációs teszt a hepatitis C vírus (HCV) 1–6-os genotípusainak és az 1-es genotípus a és b altípusainak kvalitatív kimutatására krónikus HCV-fertőzésben szenvedő betegektől származó humán EDTA-s plazmából vagy szérumból a **cobas®** 4800 rendszer használatával. A **cobas®** x 480 készülék végzi az automatizált minta-előkészítést, és a **cobas®** z 480 analizátor az automatizált amplifikálást és kimutatást. A **cobas®** HCV GT felhasználási területei: krónikus HCV-fertőzöttek szűrése antivirális kezelésre és a kezelés időtartamának meghatározása a kezelés gyógyszerelési adatai alapján.

A teszt összegzése és ismertetése

Háttér

Tudomásunk szerint a HCV a poszttranszfúziós hepatitis esetek 90-95%-áért elsősorban felelős kórokozó.¹⁻⁴ A HCV egyszálú, pozitív RNS-t tartalmazó vírus, amelynek genomja mintegy 3000 aminosavat kódoló megközelítően 9500 nukleotidot tartalmaz. A különféle HCV-genotípusok és ezek altípusai az egész világon elterjedtek, és különböző földrajzi helyeken más-más genotípusok a leggyakoribbak. Mivel egy adott földrajzi helyen sokféle HCV-genotípus fordulhat elő, ezért a beteg antivirális kezelésének megkezdése előtt azonosítani kell a fertőzést okozó genotípust.

A HCV-genotipizálás elméleti alapjai

Korábban a krónikus HCV-fertőzöttek különféle kezelési időtartamban kapták a peginterferon és ribavirin kombinációját a fertőzést okozó HCV-genotípus meghatározása után aszerint, hogy milyen valószínűséggel érhető el a tartós virológiai válasz (sustained virological response – SVR) az antivirális kezelés végére.⁵ Akiknél a 2-es vagy 3-as genotípust mutatták ki, 24 hétig kapták a peginterferon és ribavirin kombinációját, akiknél pedig az 1-es genotípust, azoknál jobb eredményt lehetett elérni 48 hetes kezeléssel. Mivel 2011 óta jó néhány közvetlen hatású antivirális (direct acting antiviral – DAA) inhibitort engedélyeztek, ma már genotípusonként több elfogadott kezeléssrend-ajánlás létezik⁶, ami tartalmazza a gyógyszer-kombinációt és a kezelési időtartamot. Az, hogy egy adott esetben melyik kezelési rendet választják, jobban függ attól, hogy az adott országban mely gyógyszerek forgalomba hozatalát engedélyezték, és milyen az adott kezelés biztosítási támogatottsága. Általában elfogadott, hogy a HCV-genotípust, illetve az 1-es genotípus altípusát (1a/1b) a kezelés indítása előtt meg kell határozni, és a kezelést az eredmény szerint kell megválasztani.

A vizsgálat háttere

A **cobas®** HCV GT a **cobas®** 4800 rendszeren végzett kvalitatív nukleinsav-amplifikációs teszt. A **cobas®** HCV GT valós idejű reverz transzkripció polimeráz-láncreakcióval (reverse transcription-polymerase chain reaction – RT-PCR) azonosítja a HCV 1–6-os genotípusokat és az 1-es genotípus 1a és 1b altípusait. Ennek során genotípus- és altípus-specifikus primereket és fluoreszcens festékkel jelölt oligonukleotid-próbákat használ fel. A teszt a HCV-genom nagy fokban konzervált régióiban használt primerekkel és próbákkal a genotípustól függetlenül a HCV-t is kimutatja. Ez belső kontrollként működik a teljes minta-előkészítési és RT-PCR folyamat monitorozására.

Az eljárás alapelvei

A **cobas**® HCV GT teljesen automatizált minta-előkészítésen (nukleinsav-extrahálás és -tisztítás) alapul, amelyet valós idejű RT-PCR-amplifikálás és -kimutatás követ. A **cobas**® 4800 rendszer részei a **cobas**® x 480 készülék az automatizált minta-előkészítéshez és a **cobas**® z 480 analizátor az automatizált amplifikáláshoz és kimutatáshoz. Az automatizált adatkezelést a **cobas**® 4800 szoftver végzi, amely eredményként az összes teszthez egy vagy több genotípust és altípust rendel, illetve az „Indeterminate” (HCV RNS kimutatható, de nem sikerült genotípust vagy altípust azonosítani) vagy „Invalid” (HCV RNS nem mutatható ki) eredményt adja. Az eredményeket át lehet tekinteni közvetlenül a rendszer képernyőjén, de exportálhatók vagy jelentésként nyomtathatók is.

A nukleinsavakat a betegek mintáihoz és külső kontrollokhoz adott proteináz és kaotróp lízisreagens szabadítja fel. A felszabadult nukleinsavak mágneses üvegpartikulumok szilikonfelületéhez kötnek. A kötetlen anyagokat és szennyeződések, például a denaturált fehérjéket, sejttörmeléket és lehetséges PCR-inhibitorokat az ezt követő mosási lépések eltávolítják, és egy eluáló puffer magasabb hőmérsékleten eluálja a tisztított nukleinsavakat a mágneses üvegpartikulumokról.

Minden minta amplifikálása három valós idejű RT-PCR reakció során történik. A teszt a genotípus- és altípus-specifikus RT-PCR-amplifikálást és a HCV 1–6-os genotípusok, valamint 1a és 1b altípusok kimutatását genotípus- és altípus-specifikus primerekkel és fluoreszcens festékekkel jelölt próbákkal végzi. Minden reakcióban primerek és próbák szerepelnek a HCV-genom nagy fokban konzervált régióhoz, amelyekkel a HCV-t genotípustól függetlenül lehet amplifikálni és kimutatni; ez a teszt belső kontrollja. A próbákat négy különböző fluoreszcens jelzőfesték jelöli, ami lehetővé teszi a HCV és legfeljebb három genotípus vagy altípus egy reakción belüli kimutatását.

A teszt mind a reverz transzkripcióhoz, mind a PCR-amplifikáláshoz hőstabil DNS-polimerázt használ. A Master Mix munkareagensek dezoxitimidin-trifoszfát (dTTP) helyett dezoxiuridin-trifoszfátot (dUTP) tartalmaznak, amely beépül az újonnan szintetizált DNS-be (amplikon).⁷⁻⁹ A PCR első denaturálási lépése előtt a Master Mix reagensekben lévő AmpErase az előző PCR-futtatásokból származó minden szennyező amplikont PCR-templátként inaktívál. Az AmpErase katalizátorként szerepel az uracil DNS-ből eltávolításában, de nem hat az RNS-re vagy a természetes DNS-re, amelyek nem tartalmaznak uracilt. A PCR ezt követő ciklusaiban kialakuló amplikonok nem inaktiválódnak, mert az AmpErase a PCR annealing és denaturálási fázisában inaktív.

A **cobas**® HCV GT Master Mix reagensek mindegyik oligonukleotid-próbáját egy nem fluoreszcens blokkolófesték és egy fluoreszcens jelzőfesték jelöli. Amikor a próbák érintetlenek, a jelzőfestékek fluoreszcenciáját a blokkoló festék gátolja. A PCR-amplifikálás során a próbák a primer kötőhelyek között a saját targetrégiójukkal hibridizálnak, és a DNS-polimeráz meghosszabbítja a primereket. A hibridizált próbákat a DNS-polimeráz 5'-3'-nukleázaktivitása hasítja, így a jelzőfesték és a blokkolófesték elválik, és fluoreszcens jel keletkezik. Minden PCR-ciklus során megnő a hasított próbák mennyisége, és a jelzőfestékből származó összesített jel is növekszik. A **cobas**® z 480 analizátor a PCR-termékek valós idejű kimutatását és megkülönböztetését a felszabadult jelzőfestékek fluoreszcenciájának mérésével automatikusan végzi az összes PCR-ciklus során.

Anyagok és reagensek

Reagensek

Minden felbontatlan reagenst és kontrollt A reagensek tárolási és kezelési feltételei táblázat ajánlásai szerint tároljon.

Készlet	Összetevők és reagensek	Készletenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés ^a
cobas® HCV GT 120 teszt (P/N: 06984274190)	MMX R1 (cobas® Master Mix reagents 1) Mangán-acetát, kálium-hidroxid, < 0,1% nátrium-azid	10 × 1,75 ml	N/A
	HCV GT MMX R2A (cobas® HCV GT Master Mix reagents 2A) Tricin puffer, kálium-acetát, 18% dimetil-szulfoxid, glicerín, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% HCV-primer, < 0,01% fluoreszcensen jelölt oligonukleotid-próba, < 0,01% oligonukleotid aptamer, < 0,01% poliadenilsav, < 0,01% Z05D DNS-polimeráz (mikrobiális), < 0,01% AmpErase (uracil-N-glikoziláz) enzim (mikrobiális), < 0,1% nátrium-azid	10 × 0,5 ml	N/A
	HCV GT MMX R2B (cobas® HCV GT Master Mix reagents 2B) Tricin puffer, kálium-acetát, 18% dimetil-szulfoxid, glicerín, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% HCV-primer, < 0,01% fluoreszcensen jelölt oligonukleotid-próba, < 0,01% oligonukleotid aptamer, < 0,01% poliadenilsav, < 0,01% Z05D DNS-polimeráz (mikrobiális), < 0,01% AmpErase (uracil-N-glikoziláz) enzim (mikrobiális), < 0,1% nátrium-azid	10 × 0,5 ml	N/A
	HCV GT MMX R2C (cobas® HCV GT Master Mix reagents 2C) Tricin puffer, kálium-acetát, 18% dimetil-szulfoxid, glicerín, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% HCV-primer, < 0,01% fluoreszcensen jelölt oligonukleotid-próba, < 0,01% oligonukleotid aptamer, < 0,01% poliadenilsav, < 0,01% Z05D DNS-polimeráz (mikrobiális), < 0,01% AmpErase (uracil-N-glikoziláz) enzim (mikrobiális), < 0,1% nátrium-azid	10 × 0,5 ml	N/A

Készlet	Összetevők és reagensek	Készletenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés ^a
cobas® HCV GT Control Kit 10 készlet (P/N: 06984339190)	HCV GT (+)C (cobas® HCV GT pozitív kontroll) < 0,001% szintetikus (Armored) HCV RNS MS2 bakteriofág burokfehérjébe csomagolva, normál humán plazma, engedélyezett tesztek alapján nem reaktív HIV-1/2, HCV-, HBsAg-, valamint HBc-antitestre; HIV-1 RNS, HIV-2 RNS, HCV RNS és HBV DNS PCR-eljárásokkal nem mutatható ki 0,1% ProClin® 300 tartósítószer	10 × 0,75 ml	  FIGYELEM H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki. H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P261: Kerülje a gőzök vagy permet belélegzését. P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P280: Védőkesztyű használata kötelező. P333 + P313: Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. P362 + P364: A szennyezett ruhadarabot le kell vetni és újbóli használat előtt ki kell mosni. P501: A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelési üzemben. 55965-84-9 5-klór-2-metil-2H-izotiazol-3-on és 2-metil-2H-izotiazol-3-on reakciótömege (3:1).
	(-) C (cobas® negatív kontroll) Normál humán plazma, engedélyezett tesztek alapján nem reaktív HIV-1/2, HCV-, HBsAg-, valamint HBc-antitestre; HIV-1 RNS, HIV-2 RNS, HCV RNS és HBV DNS PCR-eljárásokkal nem mutatható ki < 0,1% ProClin® 300 tartósítószer	10 × 0,75 ml	  FIGYELEM H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki. P261: Kerülje a gőzök vagy permet belélegzését. P272: Szennyezett munkaruhát tilos kivinni a munkahely területéről. P280: Védőkesztyű használata kötelező. P333 + P313: Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. P362 + P364: A szennyezett ruhadarabot le kell vetni és újbóli használat előtt ki kell mosni. P501: A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelési üzemben. 55965-84-9 5-klór-2-metil-2H-izotiazol-3-on és 2-metil-2H-izotiazol-3-on reakciótömege (3:1).
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 240 teszt (P/N: 06979513190)	MGP 2 (cobas® 4800 MGP reagens 2) Mágneses üvegpartikulumok, Tris puffer, 0,1% metil-4-hidroxibenzoát, < 0,1% nátrium-azid	10 × 8 ml	N/A
	EB 2 (cobas® 4800 eluáló puffer 2) Tris puffer, 0,2% metil-4-hidroxibenzoát	10 × 17 ml	

Készlet	Összetevők és reagensek	Készletenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés ^a
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 960 teszt (P/N: 06979521190)	MGP 2 (cobas® 4800 MGP reagens 2) Mágneses üvegpartikulumok, Tris puffer, 0,1% metil-4-hidroxibenzoát, < 0,1% nátrium-azid	10 × 16 ml	N/A
	EB 2 (cobas® 4800 eluáló puffer 2) Tris puffer, 0,2% metil-4-hidroxibenzoát	10 × 17 ml	
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 teszt (P/N: 05235863190)	WB Nátrium-citrát-dihidrát, 0,05% N- metilizotiazolon-HCl	10 × 55 ml	N/A
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 teszt (P/N: 05235871190)	WB Nátrium-citrát-dihidrát, 0,05% N- metilizotiazolon-HCl	10 × 200 ml	N/A

Készlet	Összetevők és reagensek	Készletenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 240 teszt (P/N: 06979530190)	P 2 (cobas® 4800 proteáz 2) Tris puffer, < 0,05% EDTA, kalcium-klorid, kalcium-acetát, 8% (m/V) proteináz ^b	10 × 1,0 ml	 VESZÉLY H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki. H334: Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat. P261: Kerülje a gőzök vagy permet belélegzését. P280: Védőkesztyű használata kötelező. P284: Légzésvédelem kötelező. P304 + P340: BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. P333 + P313: Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. P342 + P311: Légzési problémák esetén: Forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. 39450-01-6 Proteináz, <i>Tritirachium album</i> szerin
	LYS 2 (cobas® 4800 lízispuffer 2) 43% (m/m) guanidin-tiocianát ^b , 5% (m/V) polidokanol ^b , 2% (m/V) ditiotreitol, nátrium-citrát-dihidrát	10 × 27 ml	 VESZÉLY H302: Lenyelve ártalmas. H314: Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. H411: Mérgező a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. EUH032: Savval érintkezve nagyon mérgező gázok képződnek. EUH071: Maró hatású a légutakra. P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P280: Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő/hallásvédelem használata kötelező. P303 + P361 + P353: HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel. P304 + P340 + P310: BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. P305 + P351 + P338 + P310: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. P391: A kiömlött anyagot össze kell gyűjteni. 593-84-0 Guanidin-tiocianát 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercapto-bután-2,3-diol

Készlet	Összetevők és reagensek	Készletenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 960 teszt (P/N: 06979548190)	P 2 (cobas® 4800 proteáz 2) Tris puffer, < 0,05% EDTA, kalcium-klorid, kalcium-acetát, 8% (m/V) proteináz ^b	10 × 1,0 ml	 VESZÉLY H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki. H334: Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat. P261: Kerülje a gőzök vagy permet belélegzését. P280: Védőkesztyű használata kötelező. P284: Légzésvédelem kötelező. P304 + P340: BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. P333 + P313: Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. P342 + P311: Légzési problémák esetén: Forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. 39450-01-6 Proteináz, <i>Tritirachium album</i> szerin
	LYS 2 (cobas® 4800 lízispuffer 2) 43% (m/m) guanidin-tiocianát ^b , 5% (m/V) polidokanol ^b , 2% (m/V) ditiotreitol, nátrium-citrát-dihidrát	10 × 84 ml	   VESZÉLY H302: Lenyelve ártalmas. H314: Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. H411: Mérgező a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. EUH032: Savval érintkezve nagyon mérgező gázok képződnek. EUH071: Maró hatású a légutakra. P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P280: Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő/hallásvédelem használata kötelező. P303 + P361 + P353: HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel. P304 + P340 + P310: BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. P305 + P351 + P338 + P310: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. P391: A kiömlött anyagot össze kell gyűjteni. 593-84-0 Guanidin-tiocianát 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercapto-bután-2,3-diol

^a A termék biztonsági címkéi megfelelnek az EU GHS előírásainak^b Veszélyes anyag.

A reagensz tárolási és kezelési feltételei

Reagens	Tárolási hőmérséklet	Tárolási idő
cobas® HCV GT	2–8 °C	A jelölt lejárati dátumig stabil
cobas® HCV GT kontrollkészlet	2–8 °C	A jelölt lejárati dátumig stabil
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2–8 °C	A jelölt lejárati dátumig stabil
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	15–25 °C	A jelölt lejárati dátumig stabil
cobas® 4800 System Lysis Kit 2	2–8 °C	A jelölt lejárati dátumig stabil

Ne fagyassza le a reagenszket.

További szükséges anyagok

Anyagok	P/N
cobas® 4800 rendszer kivonási (mély lyukú) lemeze, 2,0 ml	06884008001
cobas® 4800 rendszer AD (kislyukú) lemeze, 0,3 ml	05232724001
Zárófólia-felhelyező	04900383001
CORE hegyek, 1000 µl, 96-os állványban	04639642001
200 ml-es reagenstároló	05232759001
50 ml-es reagenstároló	05232732001
24-pozíciós hordozó	04639502001
32-pozíciós hordozó	04639529001
Szilárdhulladék-zacskó	05530873001 (kicsi) vagy 04691989001 (nagy)
Hamilton STAR műanyag csúsztató	04639669001
Laboratóriumi kesztyű, púdermentes	Bármely púdermentes egyszer használatos kesztyű elfogadható.
Vortex keverő (egycsöves)	Bármely vortexkeverő elfogadható.
Centrifuga, kilendülő fejes rotorral, minimum 1500 RCF	Bármely megfelelő centrifuga elfogadható.

A külön beszerezhető anyagokkal kapcsolatos további információkért forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

Szükséges, de nem biztosított eszközök és szoftverek

Szükséges, de nem biztosított eszközök és szoftverek
cobas® 4800 rendszer cobas® x 480 készülék cobas® z 480 analízátor Vezérlőegység
cobas® 4800 System Application Software (Core) 2.2.0-ás vagy újabb verziója
cobas® 4800 rendszer cobas® HCV GT AP 1.1.0-ás vagy újabb verziója

Megjegyzés: A készülékekkel használható mintaállványok, hegyállványok, reagensállványok és lemezhordozók részletes megrendelőlistájáért forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

Támogatott mintacsövek

A vizsgálat általánosan használt elsődleges és másodlagos csöveket fogad el.

A következő mintacsöveket támogatja:

Elsődleges csövek

Névleges átmérő (mm)	Bemenő minta térfogata – feldolgozott (centrifugázott) teljes vér	Csőadalék	
	400 µl feldolgozási térfogat	EDTA-s plazma	Szérum
11-14	1800 µl vagy több	Géllel vagy nélküle	Géllel
14,5-16	Több mint 4000 µl	Géllel vagy nélküle	Géllel

A mintacsövekre vonatkozó konkrét rendelési információkért és a konkrét elsődleges mintacsövek minimális bemenő mintatérfogatára vonatkozó információkért forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

Másodlagos csövek

Névleges átmérő (mm)	Bemenő mintatérfogat
	400 µl feldolgozási térfogat
11-16	1000 µl vagy több (a konkrét másodlagos csövek minimális bemenő térfogata kevesebb, mint 1000 µl)

A mintacsövekre vonatkozó konkrét rendelési információkért és a konkrét másodlagos mintacsövek minimális bemenő mintatérfogatára vonatkozó információkért forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

Óvintézkedések és kezelési követelmények

Figyelmeztetések és óvintézkedések

Mint minden teszteljárásnál, a helyes laboratóriumi gyakorlat alapvető a teszt megfelelő kivitelezéséhez. A vizsgálat nagy analitikai érzékenysége miatt ügyeljen arra, hogy a reagensek, minták és amplifikálási keverékek szennyeződéstől mentesek maradjanak.

- Csak *in vitro* diagnosztikai célra.
- A **cobas®** HCV GT tesztnek nem célja a vér és vérkészítmények HCV-fertőzöttségének szűrése vagy diagnosztikus vizsgálatként való használata HCV-fertőzés jelenlétének megerősítésére.
- Minden betegről származó mintát fertőzőként, megfelelő biztonságos laboratóriumi eljárásokat alkalmazva kell kezelni. Ilyeneket ír le a Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories és a CLSI Document M29-A4.^{10,11} Ezt a vizsgálatot csak a biológiailag veszélyes anyagok kezelésében és a **cobas®** HCV GT és **cobas®** 4800 rendszer használatában jártas személy végezheti.
- Minden humán eredetű anyagot potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és az általános óvintézkedések szerint kezelni.
- A **cobas®** HCV GT kontrollkészlet emberi vérből származó plazmát tartalmaz. A forrásanyagot engedélyezett szerológiai vizsgálattal tesztelték, és nem bizonyult reaktívnek HCV-, HIV-1/2, HBsAg- és HBc-antitest jelenlétére. A PCR-eljárásokkal történő tesztelés során HIV-1, HIV-2 RNS, HCV RNS vagy HBV DNS nem volt kimutatható. Egyetlen ismert vizsgálati módszer sem nyújthat teljes garanciát arra, hogy a humán vérkészítményekben nincs jelen fertőző anyag.
- Ügyeljen rá, hogy a mágneses üvegpartikulumok ne kerüljenek mágneses mezők közelébe.
- **Ne fagyassza a teljes vért és az elsődleges csövekben tárolt mintákat.**
- Az optimális vizsgálati feltételek biztosítása érdekében csak a szállított vagy a megadott szükséges fogyóeszközöket alkalmazza.
- A biztonsági adatlapok (SDS) igény esetén hozzáférhetőek a Roche helyi irodájában.
- A vizsgálat helyes kivitelezésének biztosítása végett szigorúan tartsa be a megadott eljárásokat és irányelveket. A megadott eljárásoktól és irányelvektől való bármilyen eltérés befolyásolhatja a vizsgálat teljesítményét.
- Álpozitív eredmények fordulhatnak elő, ha a minták átvitelét a mintakezelés és -feldolgozás során nem kontrollálják megfelelően.
- A **cobas®** x 480 készülék, illetve **cobas®** z 480 analizátor fertőzési kockázatának csökkentésére vonatkozó további figyelmeztetéseket, óvintézkedéseket és eljárásokat a **cobas®** 4800 rendszer felhasználói segédletében találja. Ha szennyeződés gyanúja merül fel, végezzen tisztítást és heti karbantartást a **cobas®** 4800 rendszer felhasználói segédletében leírtak szerint.

Megjegyzés: A konkrét utasításokat a „Minták levétele, szállítása és tárolása” című részben találja.

Helyes laboratóriumi gyakorlat

- Ne pipettázzon szájjal.
- Ne egyen, igyon vagy dohányozzon a laboratórium területén.
- Alaposan mosson kezet a minták és a készlet reagenseinek kezelése és laboratóriumi kesztyű levétele után.

- Minden reagens kezelése közben viseljen szemvédőt, laboratóriumi köpenyt és laboratóriumi kesztyűt. Ezen anyagok bőrrel, szemmel és nyálkahártyával való érintkezése kerülendő. Ha mégis érintkezésbe kerülnek, azonnal öblítse le bő vízzel. Ellenkező esetben égés jelentkezhet. A reagenseket kiömlés esetén szárazra törlés előtt hígítsa vízzel.
- Gondosan tisztítson meg, és desztillált vagy ioncserélt vízből frissen készített 0,5%-os nátrium-hipoklorit oldattal (1:10 arányban hígított háztartási fehérítőszer) fertőtlenítsen minden laboratóriumi munkafelületet. Ezután törölje át 70%-os etanollal a felületet.
- A laboratóriumban a **cobas® 4800** rendszer felhasználói segédletében meghatározott környezeti feltételeknek megfelelő, állandó hőmérsékletet tartson fenn.

Reagensek kezelése

- A minták és kontrollok átvitelének elkerülése érdekében minden reagenst, kontrollt és mintát a helyes laboratóriumi gyakorlat szerint kezeljen.
- Felhasználás előtt szemrevételezzen minden reagensüveget és csövet, hogy nem tapasztal-e szivárgásra utaló jeleket. Szivárgás esetén azt az anyagot ne használja fel a vizsgálatához.
- A **cobas® 4800** lízispuffer 2 guanidin-tiocianátot tartalmaz, ami potenciálisan veszélyes vegyület. Kerülje a reagensek bőrrel, szemmel vagy nyálkahártyával való érintkezését. Ha mégis előfordul érintkezés, azonnal mossa le bő vízzel, mert ellenkező esetben égés történhet.
- A **cobas® HCV GT** és a **cobas® 4800** minta-előkészítő készlet 2 nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként. Kerülje a reagensek bőrrel, szemmel vagy nyálkahártyával való érintkezését. Ha mégis előfordul érintkezés, azonnal mossa le bő vízzel, mert ellenkező esetben égés történhet. Ha a reagensek kiömlenek, szárazra törlés előtt hígítsa őket vízzel.
- Ügyeljen rá, hogy a guanidin-tiocianát tartalmú **cobas® 4800** lízispuffer 2 ne lépjen érintkezésbe nátrium-hipoklorit-oldattal (fehérítő). Az ilyen keverékből erősen mérgező gáz fejlődhet.

Szennyeződés

- Viseljen laboratóriumi kesztyűt, és a minták, valamint a **cobas® HCV GT**-reagensek kezelése között cserélje. A minták és kontrollok kezelése során ügyeljen a kesztyűk szennyezésének elkerülésére. A minták és a készlet reagenseinek kezelése közben viseljen laboratóriumi kesztyűt, laboratóriumi köpenyt és szemvédőt.
- Kerülje a reagensek mikrobiális és ribonukleáz-szennyezését.
- Álpozitív eredmények fordulhatnak elő, ha a mintakezelés során nem ügyel a minták átvitelének elkerülésére.

Felhasználhatóság

- Ne használja a készleteket a lejáratí idő után.
- Ne öntse össze a reagenseket.
- Ne használjon egyszer használatos anyagokat a lejáratí idő után.
- Az egyszer használatos anyagokat csak egyszer szabad felhasználni. Ne használja újra azokat.
- Valamennyi felszerelést a gyártó utasításai szerint megfelelően karban kell tartani.

Hulladékkezelés

- A **cobas®** HCV GT és a **cobas®** 4800 rendszer minta-előkészítő készlet 2 nátrium-azidot tartalmaz (lásd: „**Figyelmeztetések és óvintézkedések**”). A nátrium-azid az ólom- és rézcsövekkel reakcióba lépve erősen robbanékony fém-azidokat képezhet. Amikor nátrium-azid tartalmú oldatot önt ki a laboratóriumi mosogatóba, az azidlerakódás megakadályozása céljából nagy mennyiségű hideg vízzel öblítse le a lefolyót.
- A fel nem használt reagensek és hulladék kezelésének összhangban kell lennie a megfelelő országos, szövetségi, állami és helyi szabályozásokkal.

Megjegyzés: A folyékony hulladék hulladékkezelésének leírását a **cobas® 4800 rendszer felhasználói segédletében találja.**

Kiömlés és tisztítás

- A **cobas®** 4800 lízispuffer 2 guanidin-tiocianátot tartalmaz. Ha guanidin-tiocianátot tartalmazó folyadék ömlik ki, megfelelő laboratóriumi tisztítószerrel és vízzel tisztítsa fel. Ha potenciálisan fertőző anyagot tartalmazó folyadék ömlik ki, ELŐSZÖR laboratóriumi tisztítószerrel és vízzel, majd 0,5%-os nátrium-hipoklorit oldattal tisztítsa meg az érintett területet.
- Ha a **cobas®** x 480 készülékre folyadék ömlik, a **cobas®** 4800 rendszer felhasználói segédletének utasításai alapján tisztítsa meg.
- Ne használjon nátrium-hipoklorit oldatot (fehérítőszert) a **cobas®** x 480 készülék vagy a **cobas®** z 480 analízátor tisztításához. A **cobas®** x 480 készüléket vagy a **cobas®** z 480 analízátort a **cobas®** 4800 rendszer felhasználói segédletének utasításai szerint tisztítsa meg.

Minták levétele, szállítása és tárolása

Megjegyzés: Valamennyi mintát fertőző ágensek átvitelére alkalmasként kell kezelni.

Az összes mintát az előírt hőmérséklettartományban tárolja.

A minták stabilitását a magasabb hőmérséklet befolyásolja.

Ha a másodlagos csövekben fagyasztott mintákat használ, tartsa őket szobahőmérsékleten (15–30 °C), amíg teljesen ki nem olvadnak, majd rövid ideig keverje (pl. 3–5 másodpercig vortexelje) és utána centrifugálja, hogy a minta teljes térfogata a cső aljára kerüljön.

Mintavétel

A vért SST™ szérumbólvelező csövekbe, molekuláridiagnosztikai tesztmodszerekhez való BD Vacutainer® PPT™ plazma-előkészítő csövekbe vagy EDTA véralvadástgátlót tartalmazó steril csövekbe vegye le.

Megjegyzés: A felhasználó a szérumból vagy plazma előkészítése során mindig kövesse a csövek gyártójának utasításait.

Minták szállítása, tárolása és stabilitása

- A SST™ szérumbiztosító csövekbe, molekulárdiagnosztikai tesztmódszerekhez való BD Vacutainer® PPT™ plazma-előkészítő csövekbe vagy EDTA véralvadást gátlót tartalmazó steril csövekbe vett teljes vért 24 órán belül 2 °C és 25 °C között lehet tárolni és/vagy szállítani a plazma- vagy szérumbiztosítás és az azt követő vizsgálat előtt.
- A plazma- vagy szérummintákat a másodlagos csövekben legfeljebb 24 órán át 2 °C és 25 °C között, legfeljebb 72 órán át 2 °C és 8 °C között vagy legfeljebb 6 héten át ≤ -18 °C hőmérsékleten lehet tárolni. Az elválasztott plazma- vagy szérumminták a másodlagos csövekben legfeljebb három fagyasztás–olvasztás ciklusban maradnak stabilak fagyasztva (≤ -18 °C hőmérsékleten) tárolás esetén.
- Ha a mintákat szállítani kell, a minták és kórokozó anyagok szállítására vonatkozó országos és/vagy nemzetközi előírásoknak megfelelően kell csomagolni és címkézni.

Használati utasítás

A teszt futtatása

1. ábra: A cobas® HCV GT munkafolyamata

1	A rendszer indítása
2	A készülék karbantartásának elvégzése
3	A tárolt minták és reagensek elővétele
4	A futtatás indítása
5	A minták betöltése
6	LIS esetén: a munkasorrend jóváhagyása LIS nélkül: a munkasorrend létrehozása
7	A fogyóeszközök (mély lyukú lemez, mikrolemez, hegyállványok) betöltése
8	A reagensek betöltése
9	A minta-előkészítési futtatás indítása
10	A mikrolemez eltávolítása és lezárása
11	A mikrolemez analízátorba helyezése
12	A minták, használt reagensek és mély lyukú lemez eltávolítása
13	Az eredmények áttekintése
14	LIS esetén: az eredmények LIS-be küldése
15	Az eszközök és anyagok kivétele az analízátorból

Megjegyzés: A részletes üzemeltetési utasításokat a cobas® 4800 rendszer felhasználói segédletében találja.

Futtatási mennyiség

Az általános minta-előkészítési reagensek (cobas® 4800 rendszer minta-előkészítő készlet 2, cobas® 4800 rendszer líziskészlet 2 és cobas® 4800 rendszer mosófolyadék-készlet) kétféle méretű készletben érhetők el. Mindkettő 10 futtatásra alkalmas, egyszerre legfeljebb 24, illetve 96 mintával, amibe beletartoznak a futtatandó kontrollok és minták. A cobas® HCV GT egyféle készletméretben érhető el, és legfeljebb 120 (10×12) minta tesztelésére alkalmas (beleértve a kontrollokat és mintákat is). A cobas® HCV GT kontrollkészlet egyféle készletméretben érhető el, amelyben 10 negatív és pozitív kontrollpár van, és minden futtatási elrendezéshez alkalmas. Minden mintacsoporthoz egy HCV GT pozitív kontrollt és egy negatív kontrollt kell használni. A cobas® HCV GT egy tesztfuttatásában legfeljebb 30 minta és 2 kontroll megengedett.

Az 1. ábra foglalja össze az eljárást.

Megjegyzés: *A reagensek optimális felhasználása érdekében az általános minta-előkészítési reagenseket összesen 1-22 mintát tartalmazó futtatáshoz lehet használni (10 × 24-es tesztkészlet-méret) vagy összesen 1-30 mintához (10 × 96-os tesztkészlet-méret). A cobas® 4800 rendszer mosófolyadék-készlet, a cobas® 4800 rendszer minta-előkészítő készlet 2 és a cobas® 4800 rendszer líziskészlet 2 különböző méretei nem kombinálhatók. Ha például a futtatás kezdetén a 96-tesztes mosópuffer reagensüvegét olvassa be, a többi minta-előkészítési reagenskészletből is 96 teszthez való reagenseket használjon.*

Munkafolyamat

A cobas® HCV GT teszt kivitelezése a cobas® 4800 szoftver teljes munkafolyamatának használatával történik. Ez minta-előkészítési lépésből áll a cobas® x 480 készüléken, amit amplifikálási/kimutatási lépés követ a cobas® z 480 analízatoron. A cobas® HCV GT-t végezheti külön, vagy vegyes mintacsoportban olyan vizsgálatokkal, amelyek ugyanazt az automatizált mintaextrahálási eljárást és PCR-profilt igénylik az amplifikáláshoz és kimutatáshoz. A vizsgálat kiválasztási lépése során a szoftverben a cobas® HCV GT vegyes mintacsoportos üzemmódjával kompatibilis vizsgálatok jelennek meg. A részleteket a cobas® 4800 rendszer felhasználói segédletében találja.

1. A rendszer üzembe helyezését a cobas® 4800 rendszer felhasználói segédletében leírtak szerint végezze.
2. A karbantartást a cobas® 4800 rendszer felhasználói segédletében leírtak szerint végezze.
3. Készítse ki az összes szükséges reagenst és fogyóeszközt. A HCV GT MMX R2A, HCV GT MMX R2B, HCV GT MMX R2C és MMX R1 kivételével minden reagensnek szoba-hőmérsékletűnek kell lennie a cobas® x 480 készülékbe betöltés előtt. A HCV GT MMX R2A, HCV GT MMX R2B, HCV GT MMX R2C és MMX R1 reagenst a 2–8 °C-os tárolásból közvetlenül is kiveheti, mert a folyamatban való felhasználásuk előtt a cobas® x 480 készülékben töltött idő alatt felveszik a szobahőmérsékletet.

Megjegyzés: *Minden reagens és reagenstároló vonalkóddal van ellátva, és egyszeri használatra tervezve. A cobas® 4800 szoftver nyomon követi a reagensek és reagenstárolók felhasználását, és nem fogadja el a korábban már használt reagenseket és reagenstárolókat.*

4. Indítson új futtatást, és válassza a HCV GT munkafolyamat-típust. Vegyes mintacsoportos üzemeltetéshez a HCV GT-n felül válassza ki a megfelelő munkafolyamat-típusokat (azaz HIV-1, HCV vagy CMV).
5. Kövesse a szoftvervarázsló útmutatóját, és olvassa be a kontrolltartományokat és kalibrációs együtthatókat tartalmazó kártyák vonalkódját.

Megjegyzés: *Csak a nem lejárt reagensek paraméterkártyáit olvassa be. A szoftver nem ellenőrzi a paraméterkártyák reagenslejárati dátumait. A megfelelő vonalkód-azonosító beolvasása előtt ellenőrizze a paraméterkártyára vagy a reagenskészletre nyomtatott lejárati dátumot.*

6. Töltse be a mintákat. Elsődleges vagy másodlagos mintacsöveket lehet betölteni, és a minimális mintatérfogat a cső típusától és méretétől függ. További részleteket a támogatott mintacsövekre vonatkozó részben talál.
7. Hozza létre a munkasorrendet. Háromféleképpen hozhat létre munkasorrendet:
 - A mintaszerkesztő használatával, mielőtt a mintaállványt a **cobas®** x 480 készülékbe helyezi („Editor” gomb a főmenü jobb oldalán). A munkasorrendeket szükség szerint mentheti, szerkesztheti és újratöltheti. A kért eredmények kiválasztásakor válassza a „HCV GT” lehetőséget.
 - Kövesse a szoftvervarázslót az új futtatás során, és a mintákat akkor töltse be a **cobas®** x 480 készülékbe, amikor erre felszólítja. A rendszer automatikusan beolvassa a minták vonalkódjait, majd a kért eredményt minden mintához meg kell határozni. A kért eredmények kiválasztásakor válassza a „HCV GT” lehetőséget.
 - Az intézmény LIS-rendszerének használatával.

További részleteket a **cobas®** 4800 rendszer felhasználói segédletében talál. Töltse be a mintákat, és határozzon meg vagy válasszon egy munkasorrendet, illetve használja a LIS-t.

8. Töltse be a fogyóeszközöket a szoftvervarázsló utasításai szerint. Ne töltsön be vagy távolítsa el külön hegyeket részben használt hegyállványra vagy hegyállványról, mivel a szoftver nyomon követi a fennmaradó hegyek számát. Ha nincs elég hegy az adott futtatáshoz, a szoftver figyelmezteti a felhasználót.

9. Töltse be a reagenseket.

Töltse be a minta-előkészítési reagenseket a vonalkóddal ellátott reagenstárolókba. A reagenstárolók két méretben állnak rendelkezésre: 200 ml és 50 ml. Kövesse a szoftvervarázslót a reagenstárolók megfelelő méretének kiválasztásához. A reagenstároló vonalkódja a hordozó jobb oldala felé kell, hogy nézzen. „Beolvas-beolvas-beönt-behelyez” módszerrel töltse be a minta-előkészítési reagenseket:

- Olvassa be a reagensüveg vonalkódját.
- Olvassa be a reagenstároló vonalkódját.
- Öntse be a reagenst a tárolóba.
- Helyezze be a feltöltött reagenstárolót a reagenshordozó megfelelő pozíciójába.

Megjegyzés: A **cobas®** 4800 rendszer belső órával méri a reagensek készülékben töltött idejét. A LYS 2 vagy WB beolvasásától számítva 1 óra áll rendelkezésre a betöltési eljárás elvégzésére és a „Start” gomb megnyomására. A „Workplace” lapon visszaszámláló jelenik meg. A rendszer a belső időkorlát letelte után nem engedi a futtatás indítását.

Megjegyzés: Az MGP pontos átvitelének érdekében közvetlenül a reagenstárolóba mérés előtt vortexelje vagy alaposan rázza fel az MGP-reagenscsövet.

10. Töltse be az amplifikáláshoz és kimutatáshoz szükséges reagenseket (HCV GT MMX R2A, HCV GT MMX R2B, HCV GT MMX R2C és MMX R1) és kontrollokat [HCV GT(+)C és (–) C] tartalmazó csöveket közvetlenül a reagenshordozóra.

Megjegyzés: A futtatás felesleges megszakítása és a szennyeződés megelőzése érdekében pöccintse meg a reagenscsöveket, hogy ne képződjenek buborékok vagy folyadékfilmek. A kontrollokat a legközelebb elhelyezettekkel kezdve kell megnyitni (a 24-es pozíciótól az 1-esig). A pozitív kontrollok kezelése után cseréljen kesztyűt.

11. Indítsa a minta-előkészítési futtatást. A sikeres minta-előkészítési futtatás után aktív lesz a „Sample Preparation results” (minta-előkészítés eredményei) és az „Unload” (eltávolítás) gomb. Ha kívánja, a „Sample Preparation results” gomb kiválasztásával áttekintheti az eredményeket, majd válassza ki az „Unload” gombot a lemezhordozók eltávolításához. Az eredmények áttekintése nélkül is eltávolíthatja a lemezhordozót, ha kiválasztja az „Unload” gombot. További információkat a **cobas® 4800** rendszer felhasználói segédletében talál.
12. Miután a mikrolemezt kivette, kövesse a **cobas® 4800** rendszer felhasználói segédletének utasításait a lemez lezárása és **cobas® z 480** analizátorba történő átvitele során.
13. Töltse be a mikrolemezt az analizátorba, és a **cobas® 4800** rendszer felhasználói segédletében leírtak szerint indítsa el az amplifikálást és kimutatást.

Megjegyzés: A cobas® 4800 rendszer belső órával méri az előkészített minták aktivált Master Mix reagenshez adása óta eltelt időt. Az amplifikálást és kimutatást minél hamarabb, de nem később mint 40 perccel a cobas® x 480 készülék futásának befejezése után meg kell kezdeni. A „Workplace” lapon visszaszámláló jelenik meg. A rendszer a visszaszámláló lejártá után megszakítja a futtatást.

14. A **cobas® 4800** felhasználói segédletében leírtak szerint távolítsa el a mintákat, a használt reagenseket és a mély lyukú lemezeket.
15. Az amplifikálás és kimutatás elvégzése után kövesse a **cobas® 4800** rendszer felhasználói segédletének az eredmények áttekintésére és elfogadására vonatkozó utasításait.
16. Ha LIS-sel dolgozik, küldje az eredményeket az LIS-be.
17. A mikrolemez **cobas® z 480** analizátorból történő kivétele során kövesse a **cobas® 4800** rendszer felhasználói segédletének utasításait.

Eredmények

A **cobas®** 4800 rendszer automatikusan meghatározza, hogy az egyes mintákban mely HCV-genotípus, illetve 1a vagy 1b altípus van.

Minőségellenőrzés és az eredmények érvényessége

- A rendszer minden mintacsoportot egy (–) C negatív kontrollal és egy HCV GT(+) pozitív kontrollal dolgoz fel.
- A **cobas®** 4800 szoftverben és/vagy jelentésben ellenőrizzé, hogy a csoport érvényes-e.
- A **cobas®** 4800 automatikusan érvényteleníti az eredményeket a negatív és pozitív kontrollok helytelen jelzői alapján.

Kontrolleredmények értékelése

1. táblázat: A negatív és pozitív kontrollok eredményeinek értékelése

Negatív kontroll	Eredmény	Magyarázat
(–) C	Valid	A kontroll érvényes. Nincs kimutatható HCV RNS.
	Invalid	A negatív kontroll érvénytelen.
Pozitív kontroll	Eredmény	Magyarázat
HCV GT (+)C	Valid	A kontroll érvényes.
	Invalid	A pozitív kontroll érvénytelen.

Az eredmények értelmezése

Megjegyzés: Minden vizsgálat és mintacsoport érvényességét a **cobas®** 4800 szoftver határozza meg.

Megjegyzés: Egy érvényes csoport érvényes és érvénytelen mintaeredményeket is tartalmazhat.

A szoftver az érvényes csoporthoz a minták eredményeit a 2. táblázat szerint értelmezi.

2. táblázat: Eredmények és magyarázat

cobas® HCV GT	Eredményjelentés és -értékelés
Invalid	A reakciók közül egy, kettő vagy mindhárom érvénytelen. A reakciók közül egy, kettő vagy mindhárom során nem sikerült az összes HCV-kontroll kimutatása.
Indeterminate	A teszt minden HCV-kontrollt mindhárom reakció során kimutatott, de a genotípust vagy altípust nem határozta meg.
1, 1a, 1b, 2, 3, 4, 5 vagy 6	Az azonosított genotípusok alfanumerikus sorrendben, pontosvesszővel elválasztva jelennek meg.

Eredményjelzők listája

A következő táblázat minden olyan jelzőt tartalmaz, amely az eredmények értékelése szempontjából releváns.

3. táblázat: Jelzők listája

Jelzőkód	Leírás	Javasolt teendő
R20	A pozitív kontroll érvénytelen.	A pozitív kontroll értékei érvénytelenek voltak. 1. Ismételje az egész futtatást friss reagensekkel. 2. Ha a probléma nem szűnik meg, lépjen kapcsolatba a Roche szervizével.
R21	A negatív kontroll érvénytelen.	A negatív kontroll értékei érvénytelenek voltak. Az átvitel megakadályozása érdekében a helyes laboratóriumi gyakorlat szerint járjon el. 1. Ismételje az egész futtatást friss reagensekkel. 2. Ha a probléma nem szűnik meg, lépjen kapcsolatba a Roche szervizével.
R4805	Hiba: A végeredmény érvénytelen, mert legalább egy reakció érvénytelen.	Újra kell vizsgálni az eredeti mintát, ha elegendő mennyiség marad. Ha az eredmény így sem érvényes, új mintát kell használni.
R4806	Információ: A rendszer HCV-genotípust észlelt, de a genotípus bizonytalan.	A mintában jelen lévő genotípus meghatározására alternatív módszert kell alkalmazni.
X3	Hiba: A rendszer rögzítést észlelt, és a mintát nem dolgozta fel.	Gondoskodjon róla, hogy a minták kezelése a munkafolyamat leírása szerint történjen. 1. Ellenőrizze, hogy van-e a mintában rög. 2. Futtassa újra a mintát.
X4	Hiba: Pipettázási hiba történt. A minta feldolgozása nem történt meg.	A legvalószínűbb ok az elégtelen mintamennyiség vagy mechanikai hiba a pipettázás során. 1. Gondoskodjon az elegendő mintamennyiségről. 2. Ellenőrizze, hogy a használt hegyek tálcáját megfelelően helyezték-e el. 3. Futtassa újra a mintát.

Megjegyzés: Az összes rendszerjelző leírását a cobas® 4800 rendszer felhasználói segédletében találja.

Az eljárással kapcsolatos korlátozások

1. A **cobas**® HCV GT tesztet csak a **cobas**® HCV GT kontrollkészlettel, **cobas**® 4800 rendszer minta-előkészítő készlet 2, **cobas**® 4800 rendszer líziskészlet 2 és a **cobas**® 4800 rendszer mosófolyadék-készlet oldatokkal együtt használva vizsgálták.
2. A megbízható eredmény a megfelelő mintalevételen, szállításon, tároláson és feldolgozáson múlik. Kövesse a jelen használati útmutatóban és a **cobas**® 4800 rendszer felhasználói segédletében leírt eljárásokat.
3. A tesztet csak EDTA-s plazmával vagy szérummal való használatra validálták. Más típusú minták tesztelése pontatlan eredménnyel járhat.
4. A HCV-genotípusok azonosítása a mintákban jelenlévő víruspartikulumoktól függ, ezért befolyásolhatják a mintavételi módszerek, a betegfaktorok (azaz kor, tünetek megléte) és/vagy a fertőzés stádiuma.
5. Ritkán bár, de előfordulhat, hogy a **cobas**® HCV GT primer- és/vagy próbakötő helyein lévő mutációk olyan hatással vannak a primerek és/vagy próbák kötődésére, ami miatt nem sikerül azonosítani a minta genotípusát.
6. Az AmpErase enzim hozzáadása a **cobas**® HCV GT Master Mixhez lehetővé teszi a targetnukleinsav szelektív amplifikálását, ugyanakkor a reagensek és amplifikálási keverékek szennyeződésének elkerüléséhez a helyes laboratóriumi gyakorlat és ezen használati utasításban meghatározott eljárások gondos betartása szükséges.
7. A terméket csak a PCR-technikák alkalmazására és a **cobas**® 4800 rendszer használatára kiképzett dolgozók használhatják.
8. Csak a **cobas**® x 480 készüléket és a **cobas**® z 480 analizátort validálták a termékkel való használatra. A termékkel nem használható más minta-előkészítő készülék vagy PCR rendszer.
9. A technológiák különbözősége miatt javasolt, hogy az egyik technológiáról a másikra való áttéréskor a felhasználók végezzenek korrelációs laboratóriumi vizsgálatokat, hogy a technológiák közötti különbség minősíthető legyen. A felhasználóknak a helyi specifikus irányelveket/eljárásokat kell követniük.
10. A keresztszennyeződés álpozitív eredményeket okozhat. A **cobas**® HCV GT tesztnél a minták közötti keresztszennyeződés arányát egy nem klinikai vizsgálatban 0,0%-osnak találták. Nem figyeltek meg futtatások közötti keresztszennyeződést.
11. A **cobas**® HCV GT tesztnek nem célja a vér és vérkészítmények HCV-fertőzöttségének szűrése vagy diagnosztikus vizsgálatként való használata HCV-fertőzés jelenlétének megerősítésére.
12. A **cobas**® HCV GT a 6-os genotípusnak csak a 6a és 6b altípusát mutatja ki.

A nem klinikai teljesítmény értékelése

A fontosabb teljesítményjellemzők

Pontosság

A **cobas®** HCV GT pontosságát úgy állapították meg, hogy 379 HCV-pozitív mintát teszteltek, és az eredményeket a nukleinsav-szekvenálással meghatározott genotípusokkal (4. táblázat) hasonlították össze. A vizsgálatot a **cobas®** HCV GT két gyártási tételével végezték. A **cobas®** HCV GT és a nukleinsav-szekvenálás genotipizálási eredményei a 353 minta közül 352-nél azonosak voltak, így a teljes genotipizálási pontosság 99,7% volt. A **cobas®** HCV GT tesztet az 1-es genotípus 1a és 1b altípusának azonosítási pontossága szempontjából is vizsgálták 99 db 1a altípusú és 50 db 1b altípusú mintán (5. táblázat). A teljes altípus-pontosság 100%-os volt (148/148).

4. táblázat: Az 1–6-os genotípusok pontossága

HCV-genotípus szekvenálással	Tesztek száma ^a	Vegyes genotípusú eredmények	Bizonytalan eredmények ^b	Figyelembe vett eredmények ^c	A cobas® HCV GT szekvenálással azonos eredményei	Helyesen azonosítottak százalékaránya (pontosság)	95% CI ^d	
							Alsó határ	Felső határ
1 ^e	151	0	2	149	149	100 (149/149)	97,6	100
2	65	3	0	62	62	100 (62/62)	94,2	100
3 ^f	60	1	12	47	46	97,9 (46/47)	88,7	100
4 ^g	57	2	0	55	55	100 (55/55)	93,5	100
5	27	0	3	24	24	100 (24/24)	85,8	100
6 ^h	19	0	3	16	16	100 (16/16)	79,4	100
Összesen	379	6	20	353	352	99,7 (352/353)	98,4	100

^a Az összes érvényes **cobas®** HCV GT eredményű mintát tartalmazza.

^b A **cobas®** HCV GT eredménye „Indeterminate” (bizonytalan), ha a HCV-t mutatott ki, de a genotípust nem azonosította.

^c Eredmények száma – (vegyes genotípusú eredmények + bizonytalan eredmények)

^d 95%-os kétoldali konfidenciaintervallum.

^e 99 db 1a genotípusú, 50 db 1b genotípusú és 2 db 1l genotípusú mintát tartalmaz (nukleinsav-szekvenálás szerint).

^f Egy 3-as genotípusú minta 1a genotípus eredményt adott a **cobas®** HCV GT tesztel.

^g 43 db 4a genotípusú, 9 db nem „a” altípusba tartozó 4-es genotípusú és 5 db 4-es genotípusú, azonosíthatatlan altípusú mintát tartalmaz.

^h 18 db 6a genotípusú és egy 6b genotípusú mintát tartalmaz.

5. táblázat: Az 1-es genotípus 1a és 1b altípusának meghatározási pontossága

HCV-genotípus szekvenálással	Tesztek száma ^a	Vegyes altípusú eredmények	Bizonytalan és az 1-es genotípust azonosító eredmények ^b	Figyelembe vett eredmények ^c	A cobas® HCV GT szekvenálással azonos eredményei	Helyesen azonosítottak százalékaránya (pontosság)	95% CI ^d	
							Alsó határ	Felső határ
1a	99	0	0	99	99	100 (99/99)	96,3	100
1b ^e	50	0	1	49	49	100 (49/49)	92,8	100
Összesen	149	0	1	148	148	100 (148/148)	97,5	100

^a Az összes érvényes cobas® HCV GT eredményű 1a és 1b genotípusú mintát tartalmazza.

^b A cobas® HCV GT eredménye „Indeterminate” (bizonytalan), ha a HCV-t mutatott ki, de a genotípust nem azonosította. Az altípus meghatározásának pontossága szempontjából a „gt 1” eredmény bizonytalanak („Indeterminate”) tekintendő, ha a teszt nem azonosította az 1a vagy 1b altípust.

^c Eredmények száma – (vegyes genotípusú eredmények + bizonytalan eredmények)

^d 95%-os kétoldali konfidenciaintervallum.

^e Egy 1b genotípusú minta „gt 1” eredményt adott a cobas® HCV GT teszttel, de nem azonosította az 1a vagy 1b genotípust.

Kimutatási határ (LoD)

A cobas® HCV GT kimutatási határát HCV-negatív szérumban vagy EDTA-s plazmában előkészített HCV-pozitív minták hígításainak tesztelésével határozták meg (6. táblázat). Minden genotípushoz egy HCV-mintát hígítottak HCV-negatív EDTA-s plazmában vagy szérumban 1000, 500, 250, 125, 50 és 25 nemzetközi egység/ml koncentrációra (az 5-ös genotípusnál a koncentrációk 1000, 750, 500, 250, 125 és 50 IU/ml voltak). Az egyes genotípusok hat koncentrációsintjéből és egy HCV-negatív plazmából vagy szérumból álló paneleket teszteltek a cobas® HCV GT reagensek három gyártási tételével tételenként 20–24 futtatásban, mintánként 60–72 méréssel több futtatásban, napon, kezelővel és készüléken. A tesztek $\geq 95\%$ -ában helyes genotipizálási eredményt adó legkisebb koncentrációkat az 6 tartalmazza.

6. táblázat: A cobas® HCV GT kimutatási határa* (IU/ml)

Minta típusa	HCV-genotípus						
	1a	1b	2	3	4	5	6
Plazma	125	250	125	125	125	1000	125
Szérum	125	125	50	125	125	500	125

* A legkisebb vizsgált koncentráció a helyes genotipizálási eredménnyel a tesztek legalább 95%-ában

Reprodukálhatóság

A **cobas®** HCV GT reprodukálhatóságát vak, randomizált vizsgálattal határozták meg egy 15-tagú panelen, futtatásonként 2 ismétléssel, napi 2 futtatással, reagens-gyártásitételenként 5 napon át, 3 gyártási tétellel, egy készülékkel és egy kezelővel, mintánként összesen 60 teszttel (7. táblázat). A panel egy klinikai minta két hígításából állt, amelyet HCV-negatív humán szérumban vagy EDTA-s plazmában készítettek elő, és egy HCV-negatív humánszérum- vagy plazmamintából. Minden genotípus két koncentrációban szerepelt a panelben: Alacsony (500–1000 IU/ml), valamint vagy közepes (10 000–20 000 IU/ml), vagy magas ($\geq 100\,000$ IU/ml). A **cobas®** HCV GT helyes eredményeinek teljes aránya 99,8% volt (890/892).

7. táblázat: A **cobas®** HCV GT reprodukálhatósága

Genotípus	Koncentráció (IU/ml)	Minta típusa	Összes eredmény száma ^a	Helyes eredmények száma	Helyes eredmények százalékaránya ^b
1a	910	Szérum	60	60 ^c	100 (60/60)
1a	330 000	Plazma	60	60	100 (60/60)
1b	970	Szérum	58	58	100 (58/58)
1b	350 000	Plazma	59	59	100 (59/59)
2	780	Szérum	59	59	100 (59/59)
2	13 000	Plazma	60	60	100 (60/60)
3	570	Plazma	60	60	100 (60/60)
3	96 000	Szérum	60	60	100 (60/60)
4	940	Szérum	59	59	100 (59/59)
4	180 000	Plazma	59	59	100 (59/59)
5	1 000	Szérum	59	57 ^d	96,6 (57/59)
5	16 000	Plazma	60	60	100 (60/60)
6	800	Plazma	60	60	100 (60/60)
6	17 000	Szérum	59	59	100 (59/59)
HCV-negatív	0	Plazma	30	30	100 (30/30)
HCV-negatív	0	Szérum	30	30	100 (30/30)
Összesen			892	890	99,8 (890/892)

^a Az összesen 900 teszt közül nyolc csomósodási hiba miatt nem adott eredményt.

^b Helyes eredmények százalékaránya = helyes eredmények száma / összes eredmény száma

^c A 60 teszt közül 58 adott „1; 1a” eredményt, 2 teszt pedig „1a” eredményt.

^d Egy teszt adott „Indeterminate” (bizonytalan) eredményt, egy másik pedig „1; 5” eredményt.

Vegyes genotípusú fertőzések

A vegyes genotípusú fertőzések azonosítását az 1a, 1b és 2–6-os genotípusok összes lehetséges kéttagú kombinációjának tesztelésével értékelték ki a koncentrációk három különböző arányánál:

1:1 (1000:1000 IU/ml), 1:1 (1E+06:1E+06 IU/ml), 10:1 (1E+04:1E+03 IU/ml) és 100:1 (1E+05:1E+03 IU/ml). Minden mintát háromszor teszteltek. A **cobas®** HCV GT mindkét genotípust azonosította az 1:1 keverékekkel és 1E+06 IU/ml koncentrációnál végzett tesztek 100%-ában (63/63), és az 1:1 keverékekkel és 1000 IU/ml koncentrációnál végzett tesztek 95,2%-ában (60/63) (8. táblázat). A **cobas®** HCV GT a kisebb arányban szereplő genotípust azonosította a 10:1 keverékekkel végzett tesztek 85,7%-ában (108/126) és a 100:1 keverékekkel végzett tesztek 63,5%-ában (80/126). A **cobas®** HCV GT a nagyobb arányban szereplő genotípust azonosította a 10:1 és 100:1 keverékekkel végzett tesztek 100%-ában (252/252).

8. táblázat: Vegyes genotípusú fertőzések azonosítása

Koncentrációk ^a (IU/ml)	Koncentrációk aránya	Vizsgált kombinációk száma	Összes teszt száma	Mindkét genotípus azonosítása ^b
1 × 10 ⁶ : 1 × 10 ⁶	1:1	21	63	100% (63/63)
1 × 10 ³ : 1 × 10 ³	1:1	21	63	95,2% (60/63) ^c
1 × 10 ⁴ : 1 × 10 ³	10:1	42	126	85,7% (108/126) ^d
1 × 10 ⁵ : 1 × 10 ³	100:1	42	126	63,5% (80/126) ^e

^a A magas koncentrációjú, 5-ös genotípust tartalmazó 1:1 keverékeket 1 × 10⁵ IU/ml koncentrációnál tesztelték.

^b Az egyenlőtlen koncentrációjú (10:1 és 100:1) keverékekben a nagyobb arányban szereplő genotípust a tesztek 100%-a (252/252) azonosította.

^c Az 1:1 arányú, 1 × 10³ IU/ml koncentrációjú keverékekben a 3-as genotípust a tesztek 83%-a (15/18) azonosította. Minden más genotípust a tesztek 100%-a azonosította.

^d A 10:1 arányú keverékekben a 3-as genotípust a 18 teszt közül 0 azonosította, amikor ez volt a kisebb arányban szereplő genotípus. Minden más genotípust a tesztek 100%-a azonosított, amikor azok a kisebb arányban szereplő genotípusok voltak.

^e A 100:1 keverékekben az 1b, 2-es, 3-as és 6-os genotípust a tesztek 83%-a (15/18), 44%-a (8/18), 0%-a (0/18), illetve 17%-a (3/18) azonosította, amikor azok a kisebb arányban szereplő genotípusok voltak. Az 1a, 4-es és 5-ös genotípust a tesztek 100%-a azonosította, amikor azok a kisebb arányban szereplő genotípusok voltak.

Specifititás

A **cobas®** HCV GT specifitását 104 különálló, normál, HCV-negatív donortól származó 52 EDTA-s plazmaminta és 52 szérumminta tesztelésével határozták meg a **cobas®** HCV GT két gyártási tételével. A **cobas®** HCV GT krónikus HCV-fertőzésben szenvedők esetében használandó. A teszt belső kontrollként, genotípustól függetlenül kimutatja a HCV-t. Amikor a **cobas®** HCV GT nem mutat ki HCV-t, „Invalid” (érvénytelen) eredményt ad. A specifitási vizsgálatban mind a 104 teszt „Invalid” (érvénytelen) eredményt adott, ami a várt eredmény HCV-negatív minták esetén.

Analitikai specifikitás

A **cobas**® HCV GT analitikai specifikitását olyan panellel vizsgálták, ahol 27 kórokozót (9. táblázat) hígítottak HCV-negatív EDTA-s plazmával, és a mintákat az 1a HCV-genotípus jelenlétében (körülbelül 1500 IU/ml koncentráció) és hiányában tesztelték. A teszt a HCV-t és kórokozókat tartalmazó minden mintában azonosította a HCV 1a genotípusát, ami alátámasztja, hogy a kórokozók nem zavarták az eredményt. „Invalid” (érvénytelen) eredményt (ami a várt eredmény HCV-negatív minták esetén) kaptak a **cobas**® HCV GT teszttel minden HCV nélküli kórokozómintánál, ami azt mutatja, hogy a kórokozók nem kerültek keresztreakcióba a **cobas**® HCV GT reagenseivel. A **cobas**® HCV GT belső kontrollként, genotípustól függetlenül kimutatja a HCV-t. Amikor a **cobas**® HCV GT nem mutat ki HCV-t, „Invalid” (érvénytelen) eredményt ad.

9. táblázat: Keresztreaktivitásra vizsgált kórokozók

Vírusok		Baktériumok	Sarjadzógomba
Adenovírus 5-ös típus	Herpes simplex vírus 1 és 2	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovírus	Humán papillomavírus	<i>Staphylococcus aureus</i>	
1-es, 2-es, 3-as, 4-es típusú	Influenzavírus A		
dengue vírus	Murray Valley encephalitis vírus		
Epstein-Barr vírus	St. Louis encephalitis vírus		
Kullancs encephalitis vírus	Varicella-zoster vírus		
FSME vírus (HYPR törzs)	West Nile vírus		
Hepatitis A vírus	Sárgalázvírus		
Hepatitis B vírus	Zika vírus		
Humán immundeficiencia vírus 1			
Humán T-sejtes lymphotrop vírus 1 és 2			
6-os típusú humán herpeszvírus			

Analitikai specifikitás – zavaró anyagok

Magas triglicerid (27,9–30,0 g/l), konjugált bilirubin (0,18–0,22 g/l), nem konjugált bilirubin (0,19–0,2 g/l), albumin- (57,8–60,6 g/l), hemoglobin- (1,8–2,3 g/l) és humán DNS (2 mg/l) tartalmú plazmamintákat tesztelték a **cobas**® HCV GT teszttel 1a genotípusú HCV jelenlétében (körülbelül 1500 IU/ml koncentráció), illetve hiányában. A teszt a HCV 1a genotípusát minden HCV-tartalmú mintában kimutatta, a HCV nélküli mintáknál pedig „Invalid” (érvénytelen) eredményt adott (ami a várt eredmény HCV-negatív minták esetén), ami azt mutatja, hogy ezek az anyagok nem zavarják a **cobas**® HCV GT teljesítményét. A **cobas**® HCV GT teszttel olyan HCV-negatív donorok plazmamintáit tesztelték 1a genotípusú HCV jelenlétében (körülbelül 1500 IU/ml koncentráció), illetve hiányában, akiknél a szisztémás lupus erythematosus (SLE) vagy a reumatoid arthritis (RA) autoimmun betegségek markerei, illetve antinukleáris antitestek (ANA) voltak jelen, és ezek nem befolyásolták a **cobas**® HCV GT teljesítményét.

A 10. táblázatban felsorolt gyógyszereket tartalmazó plazmamintákat a Cmax érték háromszorosánál tesztelték a **cobas**® HCV GT teszttel 1a genotípusú HCV jelenlétében (körülbelül 1500 IU/ml koncentráció), illetve hiányában. A teszt a HCV 1a genotípusát minden HCV-tartalmú mintában kimutatta, a HCV nélküli mintáknál pedig „Invalid” (érvénytelen) eredményt adott (ami a várt eredmény HCV-negatív minták esetén), ami azt mutatja, hogy ezek a gyógyszerek nem zavarják a **cobas**® HCV GT teljesítményét.

10. táblázat: A cobas® HCV GT teszt genotipizálását esetlegesen zavaró gyógyszervegyületek vizsgálata

Gyógyszersztály	Gyógyszer generikus neve	
Immunmodulátorok	Peginterferon α -2a	Ribavirin
	Peginterferon α -2b	
HIV entry inhibitor	Maraviroc	
HIV-integráz inhibitorok	Elvitegravir/kobicisztát	Raltegravir
Non-nukleozid HIV reverz transzkriptáz inhibitorok	Efavirenz	Nevirapin
	Etravirin	Rilpivirin
HIV-proteáz inhibitorok	Atazanavir	Nelfinavir
	Darunavir	Ritonavir
	Fosamprenavir	Saquinavir
	Lopinavir	Tipranavir
HCV-proteáz	Boceprevir	Simeprevir
Reverz transzkriptáz vagy DNS-polimeráz inhibitorok	Abacavir	Ganciclovir
	Aciclovir	Lamivudin
	Adefovir dipivoxil	Sofosbuvir
	Cidofovir	Telbivudin
	Emtricitabin	Tenofovir
	Entecavir	Valganciclovir
	Foscarnet	Zidovudin
Opportunista fertőzések kezelésére szolgáló vegyületek	Azitromicin	Pyrazinamid
	Klaritromicin	Rifabutin
	Etambutol	Rifampicin
	Flukonazol	Sulfamethoxazol
	Isoniazid	Trimethoprim

Módszerkorreláció

A cobas® HCV GT teljesítményének vizsgálata egy CE-jelölésű *in vitro* diagnosztikai termékhez hasonlítva

A cobas® HCV GT tesztet 379 HCV-pozitív minta kétszeres tesztelésével hasonlították össze egy CE-jelölésű *in vitro* diagnosztikai HCV-genotipizáló termékkel az 1–6-os HCV-genotípusok azonosítása szempontjából (11. táblázat). A vizsgálatban a 379 minta közül 334 esetben mindkét módszerrel érvényes, egy genotípusos eredményeket kaptak. Két minta rendszerhibák miatt nem adott eredményt az összehasonlított termékkel, és 43 minta az egyik vagy mindkét módszerrel bizonytalan vagy kevert genotípus-eredményt adott. A cobas® HCV GT és az összehasonlított termék által azonosított 1–6-os HCV-genotípusok megfelelési aránya 99,7% volt (333/334). A cobas® HCV GT és az összehasonlított termék által az 1-es genotípus azonosított 1a és 1b altípusai megfelelési arányát 99 db 1a altípusú és 50 db 1b altípusú mintából határozták meg nukleinsav-szekvenálással. A 149 minta közül 142 esetben kaptak mindkét módszerrel érvényes, az altípust azonosító eredményeket. Egy 1a genotípusú minta és 4 db 1b genotípusú minta (nukleinsav-szekvenálással) 1-es genotípus-eredményt adott az összehasonlított termék használatával, ami azonban nem azonosította az 1a vagy 1b altípust. Az összehasonlított termék egy 1b genotípusú mintát (nukleinsav-szekvenálással) bizonytalannak mutatott, a cobas® HCV GT pedig egy 1b genotípusú mintát 1-es genotípusúnak. A cobas® HCV GT és az összehasonlított termék által azonosított 1a és 1b HCV-altípusok megfelelési aránya 100,0% volt (142/142).

11. táblázat: A cobas® HCV GT és egy CE-jelölésű IVD-eszköz módszerének összehasonlítása az 1–6-os HCV-genotípusok azonosítására

Az összehasonlított termék genotipizálási eredménye	Eredmények száma ^a	A cobas® HCV GT összehasonlított termékkel azonos eredményei	Megfelelési arány	95% CI ^b	
				Alsó határ	Felső határ
1	150 ^c	149 ^c	99,3 (149/150)	96,3	100
2	52	52	100,0 (52/52)	93,2	100
3	44	44	100,0 (44/44)	92,0	100
4	50	50	100,0 (50/50)	92,9	100
5	24	24	100,0 (24/24)	85,8	100
6	14	14	100,0 (14/14)	76,8	100
Összesen	334	333	99,7 (333/334)	98,3	100

^a Az összes olyan mintát tartalmazza, amely mind az összehasonlított termékkel, mind a cobas® HCV GT tesztel érvényes, egy genotípust azonosító eredményt adott. Nem tartalmazza azokat a mintákat, amelyek az egyik vagy mindkét módszerrel sikertelen, bizonytalan vagy vegyes genotípusú eredményt adtak.

^b 95%-os kétoldali konfidenciaintervallum.

^c Egy, az összehasonlított termék szerint 1-es genotípusú eredményt adó mintát a cobas® HCV GT és a nukleinsav-szekvenálás 6-os genotípusúként azonosított. Egy, mind az összehasonlított termék, mind a cobas® HCV GT szerint 1-es genotípusú eredményt adó mintát a nukleinsav-szekvenálás 3-as genotípusúként azonosított.

12. táblázat: A **cobas®** HCV GT és egy CE-jelölésű IVD-eszköz módszerének összehasonlítása az 1-es genotípus 1a és 1b altípusainak azonosítása során

Az összehasonlított termék genotipizálási eredménye	Eredmények száma ^a	A cobas® HCV GT összehasonlított termékkel azonos eredményei	Megfelelési arány	95% CI ^b	
				Alsó határ	Felső határ
1a	98	98	100,0 (98/98)	96,3	100
1b	44	44	100,0 (44/44)	92,0	100
Összesen	142	142	100,0 (142/142)	97,5	100

^a Az összes olyan 1a és 1b genotípusú mintát tartalmazza, amely nukleinsav-szekvenálás alapján mind az összehasonlított termékkel, mind a **cobas®** HCV GT teszttel érvényes eredményt adott. Nem tartalmazza azokat a mintákat, amelyek az egyik vagy mindkét módszerrel sikertelen, bizonytalan vagy vegyes genotípusú eredményt adtak.

^b 95%-os kétoldali konfidenciaintervallum.

Teljes rendszerhiba

A teljes rendszerhiba arányát, amely álnegatív eredményhez vezetett a **cobas®** HCV GT tesztnél, összesen 200 ismétlés tesztelésével határozták meg, amelyek során EDTA-s plazmához és szérumhoz 375 IU/ml koncentrációban 1a HCV-genotípusú mintát adtak, ami az 1a genotípus kimutatási határának körülbelül a háromszorosa. A **cobas®** HCV GT mind a 200 mintánál helyesen azonosította az 1a genotípust, ami szerint a teljes rendszerhiba aránya 0,0% (a felső egyoldali 95%-os konfidenciaintervallum 1,49%).

Keresztszennyeződés

A **cobas®** HCV GT keresztszennyeződési arányát a **cobas®** HCV GT nyolc mintacsoportjával határozták meg. Mindegyikben 15 EDTA-s plazma ismétlései voltak, amelyek a HCV GT pozitív kontroll Armored RNS-t 1,0E+08 IU/ml-nek megfelelő koncentrációban tartalmazták, és 15 ismétlés HCV-negatív EDTA-s plazmából. A mintákat a mintaállványokon olyan pozíciókra helyezték, hogy a **cobas®** x 480 készülék mintakivonási lemezén sakktáblaszerű elrendezést kapjanak. A HCV-negatív EDTA-s plazma mind a 120 ismétlése „Invalid” (érvénytelen) eredményt adott, ami megegyezett a HCV-negatív minták esetén várt eredménnyel, így a keresztszennyeződési arány 0,0% lett (a felső egyoldali 95%-os konfidenciahatár 2,47%).

További információk

A teszt legfontosabb tulajdonságai

Minta típusa	EDTA-s plazma, szérum
Mintafeldolgozási térfogat	400 µl
Azonosított genotípusok és altípusok	1–6-os HCV-genotípusok és az 1-es genotípus a és b altípusa.
Pontosság	Az 1–6-os HCV-genotípusok azonosítása során: 99,7% Az 1-es HCV-genotípus 1a és 1b altípusának azonosítása során: 100%
Analitikai érzékenység	Szérum: 50–125 IU/ml (1a, 1b, 2-es, 3-as, 4-es és 6-os genotípusok), 500 IU/ml (5-ös genotípus) Plazma: 125–250 IU/ml (1a, 1b, 2-es, 3-as, 4-es és 6-os genotípusok), 1000 IU/ml (5-ös genotípus)

Szimbólumok

A következő szimbólumok használatosak a Roche PCR diagnosztikai termékek jelölésére.

13. táblázat: A Roche PCR diagnosztikai termékek címkéjén használt szimbólumok

Age/DOB Kor vagy születési dátum	 Nem a beteg közelében használható teszteszköz	QS IU/PCR QS-IU-k száma PCR-reakciónként; használja a QS-IU-k (nemzetközi egységek) reakciónkénti számát az eredmények számításához.
 Segédszoftver	 Nem öntesztelő eszköz	SN Sorozatszám
Assigned Range [copies/mL] Megadott tartomány (kópia/mL)	 Forgalmazó (Megjegyzés: Az alkalmazandó ország/régió a szimbólum alatt jelölhető meg)	Site Hely
Assigned Range [IU/mL] Megadott tartomány (IU/mL)	 Ne használja újra	Procedure Standard Szokásos eljárás
EC REP Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben	 Nő	STERILE EO Etilén-oxiddal sterilizálva
 Vonalkód-adatlap	 Csak IVD teljesítmény értékelésre	 Sötétben tárolandó
LOT Mintacsoportkód	GTIN Globális kereskedelmi cikkszám	 Hőmérsékletkorlát
 Biológiai veszély	 Importőr	 Vizsgálatdefiníciós fájl
REF Katalógusszám	IVD <i>In vitro</i> diagnosztikai felhasználásra	 Felfelé nézzen
 CE megfelelési jelzés: ez az eszköz megfelel az <i>in vitro</i> diagnosztikai felhasználású orvostechnikai eszközök CE jelölésére vonatkozó előírásoknak	LLR Megadott tartomány alsó határa	Procedure UltraSensitive Ultraérzékeny eljárás
Collect Date Adatgyűjtés	 Férfi	UDI Egyedi eszközazonosítás
 Olvassa el a használati útmutatót	 Gyártó	ULR Megadott tartomány felső határa
 Tartalma <n> vizsgálathoz elegendő	CONTROL - Negatív kontroll	Urine Fill Line Eddig töltendő vizelettel
CONTENT A készlet tartalma	 Nem steril	Rx Only Csak az USA-ban: Az USA szövetségi törvényei értelmében az eszköz csak orvos részére vagy rendelvényére adható ki.
CONTROL Kontroll	 Beteg neve	 Lejárat dátuma
 Gyártás napja	 Beteg száma	
 Beteg közelében használható teszteszköz	 Itt válassza le	
 Öntesztelő eszköz	CONTROL + Pozitív kontroll	
	QS copies / PCR QS-kópiák száma PCR-reakciónként; használja a QS-kópiák reakciónkénti számát az eredmények számításához.	

Technikai segítségnyújtás

Technikai segítségnyújtásért (segítségért) forduljon a helyi kirendeltséghez:

https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Gyártó

14. táblázat: Gyártó



Készült az Amerikai Egyesült Államokban

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

Készült az USA-ban

Védjegyek és szabadalmak

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

Szerzői jogok

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Hivatkozások

1. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 1989;244(4902):359-362.
2. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, McQuillan GM, Kuhnert WL, Alter MJ. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med*. 2006;144(10):705-714.
3. Rustgi VK. The epidemiology of hepatitis C infection in the United States. *J Gastroenterol*. 2007;42(7):513-521.
4. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2001;345(1):41-52.
5. Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, Balan V, Diago M, Marcellin P, et al.; PEGASYS International Study Group.
Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med*. 2004;140:346-355.
6. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol*. 2014;60:392-420.
7. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-128.
8. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-493.
9. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-878.
10. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Dokumentumverzió

Dokumentum verzióinformációi	
Doc Rev. 8.0 02/2024	A Lysis Kit 2 veszélyeiről szóló információk frissítve. A harmonizált szimbólumok oldala frissítve. Új Technikai segítségnyújtás rész. Frissítés aktuális gazdasági szereplőkre. Új mondat a gyártási országról. Szimbólum „Rx Only” hozzáadása. A cobas® márka jelzése frissítve. A védjegyekre és szabadalmakra vonatkozó rész és a hivatkozás frissítve. Esetleges kérdésével forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.