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

TIL *IN VITRO*-DIAGNOSTIK.

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative Test, v2.0	**HCVQTV2**	72 Tests	P/N: 05532264 190
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Wash Reagent	**PG WR**	5.1 Liters	P/N: 03587797 190

Indholdsfortegnelse

TILSIGTET BRUG 1
OVERSIGT OVER OG FORKLARING AF TESTEN 2
PRINCIPPER FOR PROCEDUREN 2
REAGENSER 4
ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER VED PROCEDURERNE 6
KRAV TIL OPBEVARING OG HÅNDTERING 7
MEDFØLGENDE MATERIALER 7
NØDVENDIGE, MEN IKKE MEDFØLGENDE MATERIALER 8
INDSAMLING, TRANSPORT OG OPBEVARING AF PRØVER 9
BRUGSANVISNING 9
KVALITETSKONTROL 12
RESULTATER 13
BEGRÆNSNINGER VED PROCEDURERNE 14
INTERFERERENDE STOFFER 15
EVALUERING AF IKKE-KLINISK PERFORMANCE 16
REFERENCER 23

TILSIGTET BRUG

Den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, er en *in vitro*-nukleinsyre-amplifikationstest til kvantificering af hepatitis C-virus (HCV), RNA-genotype 1 til 6, i humant EDTA-plasma eller serum ved hjælp af COBAS® AmpliPrep Instrument til automatisk prøvebehandling og COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer til automatisk amplifikation og detektion. Testen er beregnet til brug ved behandling af patienter med kronisk HCV sammen med kliniske og laboratoriemæssige infektionsmarkører. Testen kan bruges til at forudsige sandsynligheden for vedvarende virologisk respons (SVR) tidligt i en antivirusbehandling og til at vurdere det virale respons på antiviral behandling (responskontrolleret behandling) målt ved ændringer i HCV RNA-koncentrationen i serum eller EDTA-plasma.

Den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0. er ikke beregnet til brug som screeningstest for tilstedeværelsen af HCV i blod eller blodprodukter eller som diagnostisk test til bekræftelse af HCV-infektion.

Afsnittet med oplysninger om dokumentrevision findes sidst i dette dokument.

OVERSIGT OVER OG FORKLARING AF TESTEN

Hepatitis C-virus betragtes som det vigtigste ætiologiske stof, der er skyld i 90 til 95 % af smittetilfældene af hepatitis efter transfusion[1–4]. HCV er en enkeltstrenget, positiv-sense RNA-virus med et genom, der består af ca. 9.500 nukleotider, som koder for 3.000 aminosyrer. Da HCV findes i blodet, kan det bl.a. overføres via blod og blodprodukter. Udbredt indførelse af screening af blod for HCV har sænket risikoen for hepatitis i forbindelse med transfusioner markant. Forekomsten af HCV-infektioner er størst i forbindelse med intravenøst stofmisbrug og i mindre grad i forbindelse med anden perkutan eksponering[4]. Den globale forekomst af HCV-infektioner, bestemt ved immunserologi, varierer fra 0,6 % i Canada til 1,5 % i Japan[3]. Spontan viral clearance hos udsatte personer varierer meget. Der er rapporteret mellem 10 og 60 % målt klinisk ved normalisering af leverenzymer og clearance af plasma-HCV RNA[5].

HCV-viruspartikler kan ikke dyrkes ud fra inficerede blodprøver. Derfor har forekomsten af anti-HCV-antistoffer hos patienter, der er smittet med HCV, ført til udviklingen af immunserologiske analyser, der er specifikke for disse antistoffer. Forekomsten af anti-HCV-antistoffer er et tegn på en tidligere HCV-infektion, men kan ikke betragtes som en markør for aktuel infektion. Målingen af koncentrationen af alaninaminotransferase (ALAT) betragtes som en kunstig indikator for HCV-infektion, men er ikke et direkte mål for viræmi.

I modsætning hertil er kvantificering af HCV RNA til måling af baseline-virusbelastning og til igangværende behandlingsovervågning, blevet fastlagt til påvisning af effektiviteten af antivirusrespons på kombinations-behandlinger med peginterferon og ribavirin[6–10]. De nuværende retningslinjer til håndtering og behandling af HCV anbefaler kvantitativ test af HCV RNA inden påbegyndelse af antivirusbehandling, under behandlingen (responskontrolleret behandling) samt generelt 12 til 24 uger efter behandlingens afslutning. Fraværet af påviselig HCV RNA ved en følsom test, 24 uger efter behandlingens afslutning, er behandlingens mål og angiver, at vedvarende virologisk respons (SVR) er opnået[11]. Under antivirusbehandling ses ofte en tidlig virologisk respons (EVR), defineret som et fald på to log eller mere i HCV RNA efter 12 ugers behandling. Manglende opnåelse af EVR har en høj negativ prædikativ værdi for opnåelse af en SVR og er blevet inkorporeret i reglerne for resultatløshed (stop) for behandlinger med pegyleret interferon og ribavirin[11-13]. En hurtig virologisk respons (RVR), ikke-detekterbare koncentrationer af HCV RNA efter 4 ugers behandling, har en høj positiv prædikativ værdi for SVR[14]. Fastsættelsen af viral kinetik under behandling er på det seneste blevet brugt til at individualisere behandlingens varighed yderligere med nye direkte virkende antivirusstoffer til behandlingen af kroniske HCV-infektioner[15,16].

PRINCIPPER FOR PROCEDUREN

Den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, er en nukleinsyreamplifikationstest til kvantificering af hepatitis C-virus (HCV) RNA i humant serum eller EDTA-plasma. Prøveforberedelsen er automatiseret med COBAS® AmpliPrep Instrument, og amplifikation samt detektion er automatiseret med COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer.

Den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, er baseret på tre hovedprocesser: (1) prøveforberedelse for at isolere HCV RNA, (2) revers transkription af target-RNA'et for at danne komplementær DNA (cDNA) og (3) samtidig PCR-amplifikation af target-cDNA og detektion af spaltede dobbeltmærkede oligonukleotide detektionsprober, der er specifikke for target.

Klargøring af prøver

Den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, bruger automatisk prøveoprensning på COBAS® AmpliPrep Instrument ved hjælp af en generisk siliciumbaseret capture-teknik. Prøveinput-volumenen er 650 µl, hvorimod proceduren behandler 500 µl EDTA-plasma eller serum. HCV-viruspartiklerne lyseres under inkubation ved en forhøjet temperatur med en protease- og kaotropisk lysis-/bindingsbuffer for at frigive nukleinsyrer og beskytte det frigivne HCV RNA fra RNaser i serum eller EDTA-plasma. Et kendt antal HCV-kvantificeringsstandard (QS) RNA-molekyler tilsættes til hver enkelt prøve samtidig med lysisreagenset og magnetiske glaspartikler. Derefter inkuberes blandingen, og HCV RNA'et og HCV QS RNA'et bindes til overfladen på de magnetiske glaspartikler. Ubundne stoffer, f.eks. salte, proteiner og andre cellulære urenheder, fjernes ved vask af de magnetiske glaspartikler. Efter separation af glaspartiklerne og udførelse af vasketrinene elueres de adsorberede nukleinsyrer ved en forhøjet temperatur med en vandig opløsning. Den behandlede prøve, der indeholder det frigjorte HCV RNA og HCV QS RNA, tilsættes til amplifikationsblandingen og overføres til COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer.

Revers transkription og PCR-amplifikation

Den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, bruger revers transkription af HCV RNA til komplementær DNA (cDNA) og PCR-amplifikation af cDNA ved hjælp af primere, der definerer en sekvens i den bedst konserverede region af 5'-untranslated region af HCV-genomet[17]. Primernes nukleotidsekvens er optimeret for at give en ensartet amplifikation af HCV-genotyperne 1 til 6. Revers transkriptions- og PCR-amplifikationsreaktionerne udføres med en optimeret blanding af de termostabile rekombinante enzymer: Z05 og Z05D DNA-polymerase. Ved tilstedeværelsen af mangan (Mn^{2+}) og under passende bufferforhold har Z05 og Z05D både revers transkriptase- og DNA-polymerase-aktivitet. Dermed kan både revers transkription og PCR-amplifikation foregå samtidig med real-time detektion af amplikonet.

Oprensede prøver tilsættes til amplifikationsblandingen i amplifikationsrørene (K-tubes), hvor der foregår både revers transkription og PCR-amplifikation. Reaktionsblandingen tempereres for at lade en downstream-primer binde sig specifikt til HCV-target-RNA'et og til HCV QS RNA'et. Ved tilstedeværelsen af Mn^{2+} og overskydende deoxynukleotidtrifosfater (dNTP'er), herunder deoxyadenosin, deoxyguanosin, deoxycytocin og deoxyuridintrifosfater forlænger Z05- og Z05D-polymeraser i de bundne primere og danner en DNA-streng, der er komplementær til RNA-target.

Amplifikation af target

Efter revers transkription af HCV-target RNA og HCV QS RNA tempereres reaktionsblandingen i thermo cycleren på COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer for at denaturere RNA:cDNA-hybriden og blotlægge de specifikke primertargetsekvenser. Når blandingen afkøler, binder primerne sig til target-cDNA'et. Ved tilstedeværelsen af Mn^{2+} og overskydende deoxynukleotidtrifosfater (dNTP'er) forlænger de termostabile DNA-polymeraser (Z05 og Z05D) i de bundne primere langs targetskabelonerne og producerer et dobbeltstrenget DNA-molekyle, kaldet et amplikon. COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer gentager automatisk denne proces et bestemt antal gange, hvor mængden af amplikon-DNA fordobles for hver cyklus. Det påkrævede antal cyklusser er forprogrammeret i COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer. Amplifikationen foregår kun i området mellem primerne på HCV-genomet. Hele HCV-genomet amplificeres ikke.

Selektiv amplifikation

Selektiv amplifikation af targetnukleinsyre fra prøven opnås i den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, ved hjælp af enzymet AmpErase (uracil-N-glycosylase) og deoxyuridintrifosfat (dUTP). AmpErase-enzymet genkender og katalyserer nedbrydningen af DNA-strenge, der indeholder deoxyuridin[18], men ikke DNA, der indeholder deoxythymidin. Deoxyuridin findes ikke i naturligt forekommende DNA, men findes altid i amplikon som følge af brugen af deoxyuridintrifosfat som et af dNTP'erne i Master Mix-reagenset. Det er derfor kun amplikonet, der indeholder deoxyuridin. Deoxyuridin gør det kontaminerende amplikon modtageligt for nedbrydning med enzymet AmpErase før amplifikationen af target-DNA'et. Desuden vil ikke-specifikke produkter, der dannes efter den første aktivering af Master Mix ved hjælp af mangan, blive ødelagt af AmpErase-enzymet. Enzymet AmpErase, der findes i Master Mix-reagenset, katalyserer spaltningen af deoxyuridindholdigt DNA ved deoxyuridin-residues ved at åbne deoxyribosekæden ved positionen C1. Ved opvarmning i den første termiske cyklus brydes amplikonets DNA-kæde ved positionen for deoxyuridin, og dermed kan DNA'et ikke amplificeres. AmpErase-enzymet forbliver inaktivt i længere tid, når det udsættes for temperaturer over 55 °C, dvs. under thermo cycler-processen, og derfor ødelægges target-amplikonet, der dannes i løbet af PCR-reaktionen, ikke.

Detektion af spaltede dobbeltmærkede prober og HCV RNA-kvantificering

Den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, bruger real-time[24,25] PCR-teknologi. Anvendelsen af dobbeltfluorescerende prober gør det muligt at foretage real-time detektion af PCR-produktopbygningen ved at monitorere emissionsintensiteten i de fluorescerende rapportfarvestoffer, der frigives under amplifikationen. Proberne består af HCV- og HCV QS-specifikke oligonukleotidprober, der er mærket med et rapportfarvestof og et quencher-farvestof. I den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, mærkes HCV- og HCV QS-proberne med forskellige fluorescerende rapportfarvestoffer. Når proberne er intakte, undertrykkes rapportfarvestoffets fluorescens på grund af nærheden af quencher-farvestoffet som følge af Förster-energioverførselseffekten. Under PCR-reaktionen hybridiseres proben til en targetsekvens og spaltes af 5' → 3'-nukleaseaktiviteten i de termostabile Z05 og Z05D DNA-polymeraser. Når rapport- og quencher-farvestofferne frigives og separeres, stopper quenching-effekten, og rapportfarvestoffets fluorescensaktivitet øges. Amplifikationen af HCV RNA og HCV QS RNA måles uafhængigt ved forskellige bølgelængder. Denne proces gentages et bestemt antal gange, og hver cyklus øger effektivt emissionsintensiteten i det individuelle rapportfarvestof, hvilket giver mulighed for en uafhængig identifikation af HCV RNA og HCV QS RNA. Den PCR-cyklus, hvor en vækstkurve starter sin eksponentielle vækst, står i forhold til mængden af udgangsmateriale ved begyndelsen af PCR-reaktionen.

Kvantificeringen af HCV-virus-RNA udføres med HCV QS. Den kompenserer for virkningen af hæmning og fungerer som kontrol for forberedelsen og amplifikationsprocessen for at give mulighed for en mere nøjagtig kvantificering af HCV RNA i hver prøve. HCV QS er en ikke-smitsom Armored RNA-konstruktion (aRNA), der indeholder fragmenter af HCV-sekvenser med de samme primerbindingsregioner som HCV RNA-target og en unik probebindingsregion, der gør det muligt at skelne HCV QS fra HCV-targetamplikonet.

HCV QS tilsættes til hver prøve med et kendt kopiantal, hvorefter der udføres prøveforberedelse, revers transkription, PCR-amplifikation og påvisning af spaltede dobbeltmærkede detektionsprober. COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer beregner HCV RNA-koncentrationen i testprøverne ved at sammenligne HCV-signalet med HCV QS-signalet for hver enkelt prøve og kontrol.

Under PCR-reaktionens ekstensionsfase på COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer belyses og exciteres prøverne med filtreret lys, og der indsamles filtrerede emissionsfluorescensdata for hver prøve. Aflæsningerne fra hver prøve korrigeres derefter for instrumentudsving. Fluorescensaflæsningerne sendes af instrumentet til AMPLILINK Software og gemmes i en database. Der foretages præ-tjek for at bestemme, om datasættene for HCV RNA og HCV QS RNA er valide, og der genereres markeringer, hvis dataene falder uden for de forudindstillede grænser. Når alle præ-tjek er udført og godkendt, behandles fluorescensaflæsningerne for at generere Ct-værdier for HCV RNA'et og HCV QS RNA'et. De lotspecifikke kalibreringskonstanter, der følger med den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, genereres ved hjælp af kalibreringsmateriale og bruges til at beregne titerværdien for prøverne og kontrollerne, baseret på forskellen mellem Ct-værdierne for HCV RNA'et og HCV QS RNA'et. Den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, er standardiseret i henhold til den internationale WHO-standard for hepatitis C-virus RNA for nukleinsyreamplifikationsteknologiske analyser (NIBSC-kode 96/798)[23], og titerresultater rapporteres i internationale enheder pr. milliliter (IU/ml).

REAGENSER

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative Test, v2.0 — **HCVQTV2** — **72 test**
(P/N: 05532264 190)

HCV QT v2.0 CS1 — 1 x 72 test
(HCV-reagenskassette med magnetiske glaspartikler) — 1 x 7,0 ml
- Magnetiske glaspartikler
- Trisbuffer
- 0,09 % natriumazid
- 0,1 % methylparaben

HCV QT v2.0 CS2 — 1 x 72 test
(HCV-lysisreagenskassette) — 1 x 78 ml
- Natriumcitratdihydrat
- 42,5 % guanidinthiocyanat
- < 6 % polydocanol
- 0,9 % dithiothreitol

HCV QT v2.0 CS3 — 1 x 72 test
HCV-multireagenskassette, der indeholder:

Pase — 1 x 3,8 ml
(proteinaseopløsning)
- Trisbuffer
- < 0,05 % EDTA
- Kalciumklorid
- Kalciumacetat
- ≤ 7,8 % proteinase
- Glycerol

EB — 1 x 8,1 ml
(elueringsbuffer)
- Tris-base-buffer
- 0,09 % natriumazid

HCV QT v2.0 CS4 1 x 72 test

HCV-testspecifik reagenskassette, der indeholder:

QS 1 x 3,6 ml

(HCV-kvantificeringsstandard)

Trisbuffer
EDTA
< 0,002 % Poly rA RNA (syntetisk)
< 0,001 % Armored HCV RNA-konstruktion, der indeholder HCV-primerbindingssekvenser og en unik probebindingsregion (ikke-smitsomt RNA i MS2-bakteriofag)
0,05 % natriumazid

MMX 1 x 3,5 ml

(HCV Master Mix)

Tricinbuffer
Kaliumacetat
Kaliumhydroxid
< 20 % dimethylsulfoxid
Glycerol
< 0,004 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP
< 0,002 % upstream- og downstream HCV-primere til den 5'-untranslated region af HCV
< 0,001 % fluorescensmærkede oligonukleotide prober, der er specifikke for HCV og HCV-kvantificeringsstandarden
< 0,001 % oligonukleotid aptamer
< 0,05 % Z05 og Z05D DNA-polymerase (mikrobiel)
< 0,1 % AmpErase-enzym (uracil-N-glycosylase) (mikrobiel)
0,09 % natriumazid

Mn^{2+} 1 x 19,8 ml

(Manganopløsning)

< 0,5 % manganacetat
Iseddikesyre
0,09 % natriumazid

HCV H(+)C, v2.0 6 x 0,85 ml

(HCV høj positiv kontrol)

< 0,001 % Armored HCV RNA-konstruktion, der indeholder HCV-sekvenser (ikke-smitsomt RNA i MS2-bakteriofag)
Negativt humant plasma, ikke-reaktivt med test for antistoffer mod HCV, antistoffer mod HIV-1/2, HIV p24-antigen og HBsAg; HIV-1 RNA, HCV RNA og HBV DNA kan ikke detekteres ved hjælp af PCR-metoder
0,1 % ProClin® 300, konserveringsmiddel

HCV L(+)C, v2.0 6 x 0,85 ml

(HCV lav positiv kontrol)

< 0,001 % Armored HCV RNA-konstruktion, der indeholder HCV-sekvenser (ikke-smitsomt RNA i MS2-bakteriofag)
Negativt humant plasma, ikke-reaktivt med test for antistoffer mod HCV, antistoffer mod HIV-1/2, HIV p24-antigen og HBsAg; HIV-1 RNA, HCV RNA og HBV DNA kan ikke detekteres ved hjælp af PCR-metoder
0,1 % ProClin® 300, konserveringsmiddel

CTM (–) C 6 x 1,0 ml

[COBAS® TaqMan® negativ kontrol (humant plasma)]

Negativt humant plasma, ikke-reaktivt med test for antistoffer mod HCV, antistoffer mod HIV-1/2, HIV p24-antigen og HBsAg; HIV-1 RNA, HCV RNA og HBV DNA kan ikke detekteres ved hjælp af PCR-metoder
0,1 % ProClin® 300, konserveringsmiddel

HCV H(+)C, v2.0 Clip 1 x 6 clips
(HCV høj positiv kontrol, stregkodeclip)

HCV L(+)C, v2.0 Clip 1 x 6 clips
(HCV lav positiv kontrol, stregkodeclip)

HCV (–) C, v2.0 Clip 1 x 6 clips
(HCV negativ kontrol, stregkodeclip)

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Wash Reagent **PG WR** 1 x 5,1 l
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®-vaskereagens
(P/N: 03587797 190)

PG WR
(COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®-vaskereagens)
Natriumcitratdihydrat
< 0,1 % N-methylisothiazolon-HCl

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER VED PROCEDURERNE

Som ved alle testprocedurer er det vigtigt med god laboratorieteknik for en korrekt performance af analysen. På grund af testens høje sensitivitet skal man være omhyggelig med at undgå, at reagenser og amplifikationsblandinger kontamineres.

A. TIL *IN VITRO*-DIAGNOSTIK.

B. Denne test er beregnet til brug med humant serum eller plasma, der er indsamlet i det antikoagulerende middel EDTA.

C. Brug ikke mundpipette.

D. Der må ikke spises, drikkes eller ryges i laboratoriets arbejdsområder. Anvend engangsbeskyttelseshandsker, særligt arbejdstøj og beskyttelsesbriller ved håndtering af prøver og reagenser. Vask hænderne grundigt efter at have håndteret prøver og testreagenser.

E. Undgå mikrobiel og ribonukleasekontaminering af reagenser, når der fjernes afmålte mængder fra kontrolflaskerne.

F. Det anbefales at bruge sterile engangspipetter og RNase-frie pipettespidser.

G. Kontroller fra forskellige lotnumre eller fra forskellige flasker fra det samme lotnummer må ikke blandes.

H. Reagenskassetter eller kontroller fra forskellige kit må ikke blandes.

I. COBAS® AmpliPrep-kassetterne må ikke åbnes, og der må ikke byttes, blandes, fjernes eller indsættes flasker.

J. Reagenser, affald og prøver skal bortskaffes i overensstemmelse med nationale, regionale og lokale bestemmelser.

K. Brug ikke et kit efter udløbsdatoen.

L. Der kan rekvireres sikkerhedsdatablade (SDS) ved henvendelse til dit lokale Roche-kontor.

M. Prøver og kontroller skal håndteres som smittefarligt materiale i overensstemmelse med forskrifterne for sikkerhed i laboratoriet, f.eks. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*[19] og CLSI-dokument M29-A3[20]. Rengør og desinficer alle arbejdsflader grundigt med en nyfremstillet 0,5 % opløsning af natriumhypoklorit i deioniseret eller destilleret vand.

N. **CTM (–) C, HCV L(+)C, v2.0** og **HCV H(+)C, v2.0** indeholder humant plasma, der stammer fra humant blod. Kildematerialet er ved test fundet ikke-reaktivt for tilstedeværelsen af hepatitis B-overfladeantigen (HBsAg), antistoffer mod HIV-1/2 og HCV samt HIV p24-antigen. Test af negativt humant plasma ved PCR-metoder påviste ikke forekomst af HIV-1 RNA, HCV RNA eller HBV DNA. Ingen kendte testmetoder kan helt udelukke, at produkter, der stammer fra humant blod, kan overføre smitstoffer. Derfor skal alt materiale, der stammer fra mennesker, herunder **CTM (–) C, HCV L(+)C, v2.0** og **HCV H(+)C, v2.0**, betragtes som potentielt smittefarligt.

O. **MGP, EB, QS, Mn^{2+}** og **MMX** indeholder natriumazid. Natriumazid kan reagere med bly- og kobber-installationer og danne højeksplosive metalazider. Når natriumazidholdige opløsninger hældes ud i laboratorievasken, skal afløbet skylles med store mængder vand for at undgå ophobning af azider.

P. Anvend beskyttelsesbriller, særligt arbejdstøj og engangsbeskyttelseshandsker ved håndtering af alle reagenser. Undgå kontakt med huden, øjnene og slimhinderne. Ved kontakt skylles straks med store mængder vand. Der kan opstå ætsninger, hvis området ikke behandles. Hvis disse reagenser spildes, skal de fortyndes med vand, før de tørres op.

Q. **HCV QT v2.0 CS2** og flydende affald, herunder brugt COBAS® AmpliPrep-SPU'er (Sample Processing Units) fra COBAS® AmpliPrep Instrument, som indeholder guanidinthiocyanat, må ikke komme i kontakt med natriumhypokloritopløsning (blegemiddel). Denne blanding kan danne en meget giftig gas.

KRAV TIL OPBEVARING OG HÅNDTERING

A. Inspicer hver reagenskassette visuelt før brug for at sikre, at der ikke er tegn på utætheder. Materialet må ikke anvendes til test, hvis der er tegn på utætheder.

B. Opbevar **HCV QT v2.0 CS1, HCV QT v2.0 CS2, HCV QT v2.0 CS3** og **HCV QT v2.0 CS4** ved 2-8 °C. I ubrugt tilstand kan disse reagenser holde sig indtil den angivne udløbsdato. Efter åbning kan disse reagenser holde sig i 70 dage ved 2-8 °C eller indtil udløbsdatoen afhængigt af, hvad der indtræder først. **HCV QT v2.0 CS1, HCV QT v2.0 CS2, HCV QT v2.0 CS3** og **HCV QT v2.0 CS4** kan bruges i højst 96 timer i alt på COBAS® AmpliPrep Instrument. Reagenser skal opbevares ved 2-8 °C mellem instrumentcyklusser.

C. Opbevar **HCV H(+)C, v2.0, HCV L(+)C, v2.0**, og **CTM (–) C** ved 2-8 °C. Kontrollerne kan holde sig til den angivne udløbsdato. Efter åbning skal ubrugt materiale kasseres.

D. Opbevar stregkodeclips [**HCV H(+)C, v2.0 Clip, HCV L(+)C, v2.0 Clip** og **HCV (–) C, v2.0 Clip**] ved 2-30 °C.

E. Opbevar **PG WR** ved 2-30 °C. I ubrugt tilstand kan **PG WR** holde sig indtil den angivne udløbsdato. I åben tilstand kan dette reagens holde sig i 28 dage ved 2-30 °C eller indtil udløbsdatoen afhængigt af, hvad der indtræder først.

MEDFØLGENDE MATERIALER

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative Test, v2.0 **HCVQTV2**

HCV QT v2.0 CS1
(HCV-reagenskassette med magnetiske glaspartikler)

HCV QT v2.0 CS2
(HCV-lysisreagenskassette)

HCV QT v2.0 CS3
(HCV-multireagenskassette)

HCV QT v2.0 CS4
(HCV-testspecifik reagenskassette)

HCV H(+)C, v2.0
(HCV høj positiv kontrol)

HCV L(+)C, v2.0
(HCV lav positiv kontrol)

CTM (–) C
[COBAS® TaqMan® negativ kontrol (humant plasma)]

HCV H(+)C, v2.0 Clip
(HCV høj positiv kontrol, stregkodeclip)

HCV L(+)C, v2.0 Clip
(HCV lav positiv kontrol, stregkodeclip)

HCV (–) C, v2.0 Clip
(HCV negativ kontrol, stregkodeclip)

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Wash Reagent **PG WR**
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®-vaskereagens

PG WR
(COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®-vaskereagens)

NØDVENDIGE, MEN IKKE MEDFØLGENDE MATERIALER

Instrumenter og software

- COBAS® AmpliPrep Instrument
- COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer
- Dockingstation (valgfri)
- **cobas p** 630 instrument (valgfri)
- AMPLILINK Software, version 3.3- eller version 3.4-serien
- Kontrolenhed til AMPLILINK Software med printer
- Vejledninger til instrument og software:
  - Instrumentmanual til COBAS® AmpliPrep Instrument til brug med AMPLILINK Software, version 3.3- og 3.4-serien
  - Instrumentmanual til COBAS® TaqMan® Analyzer til brug med AMPLILINK Software, version 3.3- og 3.4-serien
  - Instrumentmanual til COBAS® TaqMan® 48 Analyzer til brug med AMPLILINK Software, version 3.3- og 3.4-serien
  - Applikationsmanual til AMPLILINK Software, version 3.3-serien til brug med COBAS® AmpliPrep Instrument, COBAS® TaqMan® Analyzer, COBAS® TaqMan® 48 Analyzer, COBAS® AMPLICOR Analyzer og **cobas p** 630 instrument

    eller

  - Applikationsmanual til AMPLILINK Software, version 3.4-serien
  - Valgfrit: Brugermanual til **cobas p** 630 instrument, softwareversion 2.2
- Testdefinitionsfil (TDF). Se navnet på og versionen af testdefinitionsfilen på det produktoplysnings-kort, der fulgte med kittet.

Andre materialer

- Prøverack (SK24-rack)
- Reagensrack
- SPU-rack
- K-carrier
- K-carrier-transportør
- K-carrier-rack

- Pipetter med aerosolbarriere- eller RNase-frie "positive displacement"-spidser (kapacitet 1.000 µl). Pipetter må højst afvige 3 % fra den angivne volumen. Der skal anvendes aerosolbarriere- eller RNase-frie "positive displacement"-spidser for at undgå krydskontaminering af prøver og amplikoner.
- Engangsbeskyttelseshandsker, uden talkum
- Vortex-mixer

Forbrugsartikler

- SPU'er (Sample Processing Units)
- S-tubes (Sample input tubes) med stregkodeclips
- Racks med K-tips
- K-tube, æske med 12 x 96

INDSAMLING, TRANSPORT OG OPBEVARING AF PRØVER

BEMÆRK: Alle prøver og kontroller skal håndteres som potentielt smittefarlige.

Prøveindsamling og -opbevaring

Den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, er beregnet til brug med serum- eller EDTA-plasmaprøver. Blod skal indsamles i SST® (Serum Separation Tubes), BD Vacutainer® PPT™ (Plasma Preparation Tubes) til molekulære diagnosticeringstestmetoder eller i sterile rør med EDTA (lavendelblå top) som antikoagulerende middel. Følg producentens anvisninger vedrørende håndtering af indsamlingsrør. Nyligt udtagne prøver (fuldblod) kan opbevares ved 2-25 °C i op til 24 timer inden centrifugering. Efter centrifugering overføres serum eller EDTA-plasma til et sterilt polypropylenrør. Det anbefales at opbevare prøverne i afmålte mængder på ca. 1.000 µl i sterile polypropylenrør med skruelåg på 2,0 ml (f.eks. mikrorør med skruelåg fra Sarstedt på 2 ml). Serum- eller EDTA-plasmaprøver må opbevares:

- Ved 2-8 °C i op til 72 timer
- Ved -20 °C til -80 °C i op til 6 uger

Serum- og EDTA-plasmaprøver kan nedfryses og optøs op til fem gange uden tab af HCV RNA.

Transport af prøver

Transport af fuldblod, serum eller EDTA-plasma skal overholde nationale, regionale og lokale bestemmelser for transport af ætiologiske stoffer[21]. Fuldblod skal transporteres ved 2-25 °C og centrifugeres inden for 24 timer efter prøvetagningen. EDTA-plasma eller serum kan transporteres ved 2-8 °C eller nedfrosset ved -20 °C til -80 °C.

BRUGSANVISNING

Der findes detaljerede brugsanvisninger, beskrivelse af mulige konfigurationer, vejledning i udskrivning af resultater og fortolkning af markeringer samt fejlmeddelelser i vejledningerne til AMPLILINK Software, version 3.3- eller version 3.4-serien, som beskrevet i afsnittet "Instrumenter og software".

Batch-størrelse og arbejdsgang

Hvert kit indeholder nok reagenser til 72 test, der kan udføres i batches på fra 12 til 24 test. Der skal inkluderes mindst én af hver af kontrollerne [**CTM (–) C, HCV L(+)C, v2.0**, og **HCV H(+)C, v2.0**] i hver batch (se afsnittet "*Kvalitetskontrol*"). Kørslen på COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer skal startes, inden der er gået 120 minutter efter færdiggørelsen af prøve- og kontrolforberedelsen. Behandlede prøver og kontroller MÅ IKKE NEDFRYSES eller OPBEVARES ved 2-8 °C.

Prøve- og kontrolforberedelse

Hvis der benyttes frosne prøver, skal prøverne placeres ved stuetemperatur, indtil de er fuldstændig optøede, og vortex-mixes i 3-5 sekunder før brug. Hvis kontrollerne opbevares ved 2-8 °C, skal de tages ud og tempereres til den omgivende temperatur og vortex-mixes i 3-5 sekunder før brug.

Opsætning af COBAS® AmpliPrep Instrument

Del A. Vedligeholdelse og priming

A1. COBAS® AmpliPrep Instrument er klar til brug i standbytilstand.

A2. Tænd for kontrolenheden til AMPLILINK Software (ON). Forbered kontrolenheden på følgende måde:

1. Log på Microsoft Windows-operativsystemet.
2. Dobbeltklik på ikonet for AMPLILINK Software.
3. Log på AMPLILINK Software ved at indtaste bruger-id og adgangskode.

A3. Kontroller beholdningen af **PG WR** på skærmbilledet **Status**, og fyld op, hvis det er nødvendigt.

A4. Udfør de vedligeholdelsesprocedurer, der er angivet på fanen **Due**. COBAS® AmpliPrep Instrument primer automatisk systemet.

Del B. Indsættelse af reagenskassetter

BEMÆRK: ***Alle reagenskassetter skal fjernes fra opbevaringen ved 2-8 °C, straks indsættes i COBAS® AmpliPrep Instrument og tempereres til den omgivende temperatur på instrumentet i mindst 30 minutter, før den første prøve skal behandles. Reagenserne må ikke tempereres til den omgivende temperatur uden for instrumentet, da der kan dannes kondens på stregkodeetiketterne. Hvis der dannes kondens på stregkode-etiketterne, må disse ikke tørres af.***

B1. Placer **HCV QT v2.0 CS1** på et reagensrack. Placer **HCV QT v2.0 CS2, HCV QT v2.0 CS3** og **HCV QT v2.0 CS4** op et separat reagensrack.

B2. Indsæt det reagensrack, der indeholder **HCV QT v2.0 CS1**, i rackposition A på COBAS® AmpliPrep Instrument.

B3. Indsæt det reagensrack, der indeholder **HCV QT v2.0 CS2, HCV QT v2.0 CS3** og **HCV QT v2.0 CS4**, i rackposition **B, C, D** eller **E** på COBAS® AmpliPrep Instrument (der henvises til den relevante instrumentvejledning for yderligere og detaljerede oplysninger).

Del C. Indsættelse af forbrugsartikler

BEMÆRK: ***Bestem det antal COBAS® AmpliPrep-reagenskassetter, SPU'er (Sample Processing Units), S-tubes (Input Sample tubes), K-tips og K-tubes, der skal bruges. Der skal bruges én SPU, én input-S-tube, én K-tip og én K-tube til hver prøve eller kontrol.***

Det er muligt at anvende flere forskellige konfigurationer på COBAS® AmpliPrep Instrument med COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer. Afhængigt af den valgte konfiguration indsættes det relevante antal reagenskassetteracks, prøveracks med input-S-tubes, SPU-racks, K-tip-racks, K-tube-racks og K-carriers på K-carrier-racks i de respektive rackpositioner i COBAS® AmpliPrep Instrument.

C1. Placer SPU'erne i SPU-racket/-rackene, og indsæt racket/rackene i rackpositionen **J, K** eller **L** på COBAS® AmpliPrep Instrument.

C2. Afhængigt af den valgte konfiguration indsættes det/de fulde K-tube-rack/racks i rackpositionen **M, N, O** eller **P** på COBAS® AmpliPrep Instrument.

C3. Indsæt det/de fulde K-tip-rack/racks i rackpositionen **M, N, O** eller **P** på COBAS® AmpliPrep Instrument.

C4. Afhængigt af den valgte konfiguration indsættes K-carriers på K-tube-rack/racks i rackpositionen **M, N, O** eller **P** på COBAS® AmpliPrep Instrument.

Del D. Bestilling og indlæsning af prøver

D1. Forbered prøveracks på følgende måde: Sæt en clip med stregkodemærkat på alle de prøverack-positioner, hvor der skal placeres en prøve (S-tube). Sæt en af de clips med stregkodemærkat, der er specifikke for kontrollerne [**CTM (–) C, HCV L(+)C, v2.0**, og **HCV H(+)C, v2.0**], på hver prøverackposition, hvor der skal placeres kontroller (S-tubes). Clipsene med stregkodemærkater til kontrollerne skal have det samme kontrollotnummer som lotnummeret på kontrolflaskerne i kittet. Sørg for at tilknytte den rigtige kontrol til positionen med den tilhørende kontrolstregkodeclip. Placer en input-S-tube på hver position, der indeholder en clip med stregkodemærkat.

D2. Opret ved hjælp af AMPLILINK Software prøveordrer for hver prøve og kontrol på fanen **Sample** i vinduet **Orders**. Vælg den relevante testfil, og afslut ved at gemme.

D3. Tilknyt prøve- og kontrolordrer til prøverackpositioner på fanen **Sample Rack** i vinduet **Orders**. Prøveracknummeret skal være til det rack, der blev klargjort i trin D1.

D4. Udskriv rapporten Sample Rack Order, og brug den som arbejdsark.

D5. Forbered prøve- og kontrolracks i det angivne område for tilføjelse af prøver og kontroller på følgende måde: Bland hver prøve og kontrol [**CTM (–) C, HCV L(+)C, v2.0**, og **HCV H(+)C, v2.0**] i 3 til 5 sekunder på vortex-mixer. Undgå at kontaminere handskerne ved håndtering af prøver og kontroller.

D6. Overfør 650 µl af hver prøve og kontrol [**CTM (–) C, HCV L(+)C, v2.0**, og **HCV H(+)C, v2.0**] til den relevante stregkodemærkede input-S-tube ved hjælp af en mikropipette med aerosolbarriere eller DNase-fri "positive displacement"-spids. ***Undgå at overføre partikler og/eller fibrinclots fra den oprindelige prøve til input-S-tuben.*** Prøver og kontroller skal overføres til de rørpositioner, der er tildelt og registreret på arbejdsarket under trin D4. Clipsene med stregkodemærkater til kontrollerne skal have det samme kontrollotnummer som lotnummeret på kontrolflaskerne i kittet. Sørg for at tilknytte den rigtige kontrol til positionen med den relevante kontrolstregkodeclip. ***Undgå at kontaminere den øverste del af S-tubes med prøver eller kontroller.***

D7. Se brugermanualen til **cobas p** 630 instrument ved brug af **cobas p** 630 instrument til prøveforberedelse.

D8. Afhængigt af den anvendte konfiguration indsættes prøverack/-racks fyldt med input-S-tubes på rackpositionen **F, G** eller **H** på COBAS® AmpliPrep Instrument.

D9. Afhængigt af den anvendte konfiguration indsættes prøverack/-racks med S-tubes og K-tubes (en til hver input S-tube, indsat i den højre position overfor input-S-tubes) i rackpositionen **F, G** eller **H** på COBAS® AmpliPrep Instrument.

Del E. Start af kørslen på COBAS® AmpliPrep Instrument

E1. Start COBAS® AmpliPrep Instrument ved hjælp af AMPLILINK Software.

Del F. Afslutning af kørslen på COBAS® AmpliPrep Instrument og overførsel til COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer (kun til manuel overførsel)

F1. Kontroller for markeringer eller fejlmeddelelser.

F2. Fjern de behandlede prøver og kontroller fra COBAS® AmpliPrep Instrument i prøverackene (for COBAS® TaqMan® Analyzer uden dockingstation) eller K-carrier-rackene (for COBAS® TaqMan® 48 Analyzer), afhængigt af den valgte konfiguration.

F3. Fjern affald fra COBAS® AmpliPrep Instrument.

BEMÆRK: ***De behandlede prøver og kontroller må ikke udsættes for lys efter fuldførelsen af prøve- og kontrolforberedelsen.***

Amplifikation og detektion

Opsætning af COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer

Kørslen på COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer skal startes, inden der er gået 120 minutter efter færdiggørelsen af prøve- og kontrolforberedelsen. Behandlede prøver og kontroller MÅ IKKE NEDFRYSES eller OPBEVARES ved 2-8 °C.

Del G. Indsættelse af behandlede prøver

G1. Udfør de relevante trin for at overføre K-tubes til COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer afhængigt af den valgte konfiguration:

Del H. Start af kørsel på COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer

H1. Start COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer afhængigt af den valgte konfiguration.

Del I. Afslutning af kørslen på COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer

I1. Udskriv resultatrapporten, når kørslen på COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer er fuldført. Kontroller, om der er markeringer eller fejlmeddelelser i resultatrapporten. Prøver med markeringer og kommentarer skal fortolkes som beskrevet i afsnittet "Resultater". Gem dataene, når resultaterne er godkendt.

I2. Fjern de brugte K-tubes fra COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer.

KVALITETSKONTROL

Der skal inkluderes én COBAS® TaqMan® negativ kontrol, én HCV lav positiv kontrol og én HCV høj positiv kontrol i hver testbatch. Batchen er valid, hvis der ikke vises markeringer for nogen af kontrollerne [**HCV L(+)C, v2.0, HCV H(+)C, v2.0**, og **CTM (–) C**].

Der er ikke nogen krav til kontrollernes position på prøveracket.

Kontroller batchudskriften for markeringer og kommentarer for at sikre, at batchen er valid.

Negativ kontrol

CTM (–) C skal give resultatet "Target Not Detected". Hvis **CTM (–) C** markeres som invalid, er hele batchen invalid. Gentag hele testproceduren (prøve- og kontrolforberedelse, amplifikation og detektion). Hvis **CTM (–) C** konstant er invalid i flere batches, skal Roche kontaktes for at få teknisk hjælp.

Positive kontroller

Det tildelte interval for **HCV L(+)C, v2.0**, og **HCV H(+)C, v2.0**, er specifikt for hvert reagens og angives på reagenskassettestregkoderne til den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0.

HCV RNA IU/ml-værdierne for **HCV L(+)C, v2.0**, og **HCV H(+)C, v2.0**, skal ligge inden for de tildelte intervaller. Hvis én eller flere af de positive kontroller markeres som invalide, er hele batchen invalid. Gentag hele testproceduren (prøve- og kontrolforberedelse, amplifikation og detektion). Hvis HCV RNA-titeren for én af eller begge de positive kontroller konstant er uden for de tildelte intervaller i flere batches, skal Roche kontaktes for at få teknisk hjælp.

RESULTATER

COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer bestemmer automatisk HCV RNA-koncentrationen for prøverne og kontrollerne. HCV RNA-koncentrationen angives i internationale enheder (IU)/ml.

AMPLILINK Software:

- Bestemmer Ct for HCV RNA'et og HCV QS RNA'et.
- Bestemmer HCV RNA-koncentrationen på baggrund af Ct-værdierne for HCV RNA'et og HCV QS RNA'et og de lotspecifikke kalibreringskoefficienter, der er angivet på kassettestregkoderne.
- Angiver, at den beregnede IU/ml-værdi for **HCV L(+)C, v2.0**, og **HCV H(+)C, v2.0**, ligger inden for de tildelte intervaller.

Validering af batch:

Kontroller resultatvinduet i AMPLILINK Software eller udskriften for markeringer og kommentarer for at sikre, at batchen er valid.

For kontrolordrer foretages en kontrol for at bestemme, om IU/ml-værdien for kontrollen er inden for det angivne interval. Hvis IU/ml-værdien for kontrollen er uden for intervallet, generes en markering (FLAG) for at angive, at kontrollen ikke lykkedes.

Batchen er valid, hvis der ikke vises markeringer for nogen af kontrollerne [**HCV L(+)C, v2.0, HCV H(+)C, v2.0**, og **CTM (–) C**].

Batchen er ikke valid, hvis nogle af følgende markeringer for HCV-kontrollerne vises:

Negativ kontrol:

Markering	Resultat	Fortolkning
NC_INVALID	Invalid	Et invalidt resultat, eller det beregnede titerresultatet for den negative kontrol er ikke negativt, dvs. resultatet "Target Not Detected" genereres ikke.

HCV lav positiv kontrol:

Markering	Resultat	Fortolkning
LPCINVALID	Invalid	Et invalidt resultat, eller det beregnede titerresultat for den lave positive kontrol er ikke inden for det tildelte interval.

HCV høj positiv kontrol:

Markering	Resultat	Fortolkning
HPCINVALID	Invalid	Et invalidt resultat, eller det beregnede titerresultat for den høje positive kontrol er ikke inden for det tildelte interval.

Hvis batchen er invalid, skal hele batchen gentages, herunder prøve- og kontrolforberedelse, revers transkription, amplifikation og detektion.

Fortolkning af resultater:

Hvis batchen er valid, skal det for hver enkelt prøve kontrolleres, om der er markeringer eller kommentarer på resultatudskriften.

⇒ En valid batch kan inkludere både valide og invalide prøveresultater afhængigt af, om der er genereret markeringer og/eller kommentarer for de individuelle prøver.

Prøveresultaterne fortolkes på følgende måde:

Resultat	Fortolkning
Target Not Detected	Ct-værdien for HCV er over grænsen for analysen, eller der er ikke opnået en Ct-værdi for HCV. Disse resultater skal rapporteres som "HCV RNA ikke påvist".
< 1.50E+01 IU/mL	De beregnede IU/ml er under den lave kvantificeringsgrænse (LLOQ) for analysen. Resultaterne skal rapporteres som "HCV RNA påvist, færre end 15 IU/ml HCV RNA".
≥ 1.50E+01 IU/mL og ≤ 1.00E+08 IU/mL	Beregnede resultater, der er større end eller lig med 15 IU/ml og mindre end eller lig med 1,00E+08 IU/ml, er inden for det lineære interval for analysen. Disse resultater skal rapporteres som "XX IU/ml HCV RNA påvist".
> 1.00E+08 IU/mL	De beregnede resultater er over det lineære interval for analysen. Resultaterne skal rapporteres som "større end 1,00E+08 IU/ml HCV RNA". Hvis der ønskes kvantitative resultater, skal den oprindelige prøve fortyndes med HCV-negativt humant serum eller EDTA-plasma, afhængigt af matrixen for den oprindelige prøve, og testen gentages. Multiplicer det rapporterede resultat med fortyndingsfaktoren.

Hvis visningselementet for prøveresultatet er "Failed", "Invalid" eller "Aborted", henvises der til applikationsmanualen til AMPLILINK Software, version 3.3- eller version 3.4-serien, der er angivet i afsnittet "Nødvendige, men ikke medfølgende materialer".

BEMÆRK: ***Prøver, der er over analyseintervallet, kan også give et invalidt resultat med markeringen "QS_INVALID". Hvis der ønskes kvantitative resultater, skal den oprindelige prøve fortyndes med HCV-negativt humant serum eller EDTA-plasma, afhængigt af matrixen for den oprindelige prøve, og testen gentages. Multiplicer det rapporterede resultat med fortyndingsfaktoren.***

BEGRÆNSNINGER VED PROCEDURERNE

1. Denne test er kun valideret til brug med humant serum eller plasma, der er indsamlet i det antikoagulerende middel EDTA. Test af andre prøvetyper kan medføre unøjagtige resultater.

2. Mutationer i de bedst konserverede regioner af virusgenomer, som er dækket af testens primere og/eller prober, kan i sjældne tilfælde resultere i underkvantificering af eller manglende evne til at detektere virussen.

3. Kvantificering af HCV RNA er afhængig af det antal viruspartikler, der findes i prøven, og kan påvirkes af prøvetagningsmetoder, patientfaktorer (f.eks. alder, forekomst af symptomer) og/eller infektionsstadiet.

4. Pålidelige resultater er afhængige af korrekte procedurer for prøvetagning, transport, opbevaring og behandling.

5. Tilstedeværelsen af enzymet AmpErase i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Master Mix reducerer risikoen for amplikon-kontaminering. Kontaminering fra HCV-positive kontroller og kliniske prøver kan dog kun undgås med god laboratoriepraksis og nøje overholdelse af de procedurer, der er angivet i denne indlægsseddel.

6. Dette produkt må kun anvendes af personale, der er oplært i betjeningen af **cobas p** 630 instrument (valgfri), COBAS® AmpliPrep Instrument og COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer. Brugeren skal have indgående kendskab til de programmer, der køres på instrumentet, og skal følge god laboratoriepraksis.

7. Dette produkt må kun anvendes med **cobas p** 630 instrument (valgfri), COBAS® AmpliPrep Instrument og COBAS® TaqMan® Analyzer eller COBAS® TaqMan® 48 Analyzer.

8. På grund af naturlige forskelle mellem teknologier anbefales det, at brugeren udfører metode-korrelationsundersøgelser i laboratoriet for at fastlægge teknologiske forskelle, før der skiftes fra en teknologi til en anden.

INTERFERERENDE STOFFER

Høje koncentrationer af triglycerider (3.300 mg/dl), konjugeret bilirubin (25 mg/dl) og ukonjugeret bilirubin (20 mg/dl), albumin (6.000 mg/dl), hæmoglobin (200 mg/dl) og humant DNA (40 mg/dl) i prøver samt tilstedeværelsen af autoimmune sygdomme såsom systemisk lupus erythematosus (SLE), rheumatoid arthritis (RA) og antinukleært antistof (ANA) interfererer ikke med kvantificeringen af HCV RNA i den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0.

Følgende lægemiddelstoffer, der blev testet ved topplasmakoncentrationen (C_{max}) og ved 3 gange C_{max}, interfererede ikke med kvantificeringen af HCV RNA i den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0:

Nukleotid revers transkriptasehæmmere og DNA-polymerasehæmmere Tenofovir Adefovir dipivoxil	**Ikke-nukleosid revers transkriptasehæmmere** Efavirenz Nevirapin
HIV-proteasehæmmere Atazanavir Saquinavir Ritonavir Lopinavir/Ritonavir Nelfinavir Darunavir Tipranavir Fosamprenavir	**Nukleosid revers transkriptasehæmmere** Lamivudin Zidovudin Stavudin Abacavir Didanosin Emtricitabin Entecavir Telbivudin
HIV-fusionshæmmer Enfuvirtid	**HIV-entryhæmmer** Maraviroc
Stoffer til behandling af herpesvira Ganciclovir Valganciclovir Acyclovir	**Immunmodulatorer** Peginterferon alfa-2b Ribavirin Peginterferon alfa-2a
HIV-integrasehæmmer Raltegravir	

EVALUERING AF IKKE-KLINISK PERFORMANCE

A. Detektionsgrænse

Detektionsgrænsen for den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, blev bestemt ved at analysere serielle fortyndinger af den internationale WHO-standard for hepatitis C-virus RNA for nukleinsyreamplifikationsteknologiske analyser, genotype 1a, fra NIBSC i HCV-negativt humant EDTA-plasma eller serum. Der blev analyseret tre uafhængige fortyndingsserier for hver matrix. Der blev i alt testet 252 bestemmelser pr. koncentration for hver matrixtype. Undersøgelsen blev foretaget med tre reagenslot af den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0.

Resultaterne for EDTA-plasma og serum vises i tabel 1 og 2 og viser, at den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, detekterede HCV RNA ved koncentrationer på 15 IU/ml eller mere med en hit rate på ≥ 95 %. Forskellen mellem serum og EDTA-plasma var ikke signifikant statistisk set.

Tabel 1
Detektionsgrænse i EDTA-plasma bestemt med den internationale WHO-standard for hepatitis C-virus RNA for nukleinsyreamplifikationsteknologiske analyser

Tilført titer (HCV RNA IU/ml)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %
50	251	251	100
25	251	250	100
15	251	246	98
10	252	236	94
5	252	180	71
2,5	251	121	48
0	250	0	0
Detektionsgrænse ved PROBIT ved 95 % hit rate	**11 IU/ml 95 % konfidensinterval: 10 – 13 IU/ml**		
Detektionsgrænse ved hit rate	**15 IU/ml**		

Tabel 2
Detektionsgrænse i serum bestemt med den internationale WHO-standard for hepatitis C-virus RNA for nukleinsyreamplifikationsteknologiske analyser

Tilført titer (HCV RNA IU/ml)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %
50	188	188	100
25	189	188	99
15	189	185	98
10	189	172	91
5	189	140	74
2,5	189	92	49
0	189	0	0
Detektionsgrænse ved PROBIT ved 95 % hit rate	**12 IU/ml 95 % konfidensinterval: 10 – 14 IU/ml**		
Detektionsgrænse ved hit rate	**15 IU/ml**		

B. Præcision

Præcisionen for den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, blev bestemt ved at analysere serielle fortyndinger af kliniske HCV-prøver (genotype 1a) eller af Armored HCV RNA (aRNA) i HCV-negativt humant EDTA-plasma eller i serum.

Der blev testet seks fortyndingskoncentrationer i 3 bestemmelser pr. koncentration i 12 kørsler på 4 dage. Hver af prøverne blev kørt igennem hele proceduren for den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, herunder prøveforberedelse, amplifikation og detektion. Undersøgelsen blev foretaget med tre reagenslot af den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, og resultaterne er vist i tabel 3.

Den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, viser god præcision for tre reagenslot på tværs af et koncentrationsinterval på 3,0E+02 IU/ml til 1,0E+08 IU/ml.

Tabel 3
Præcision i den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0 (EDTA-plasma- og serumprøver)*

Nominel koncentration [IU/ml]	Præcision som samlet SD [log_{10}]					
	EDTA-plasma			Serum		
	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 1	Lot 2	Lot 3
3,0E+02	0,22	0,07	0,09	0,07	0,05	0,09
3,0E+03	0,15	0,07	0,07	0,06	0,06	0,06
3,0E+04	0,06	0,05	0,07	0,05	0,07	0,08
3,0E+05	0,08	0,07	0,08	0,05	0,05	0,04
3,0E+06	0,14	0,04	0,07	0,11	0,06	0,07
1,0E+08	0,07	0,05	0,11	0,07	0,06	0,08

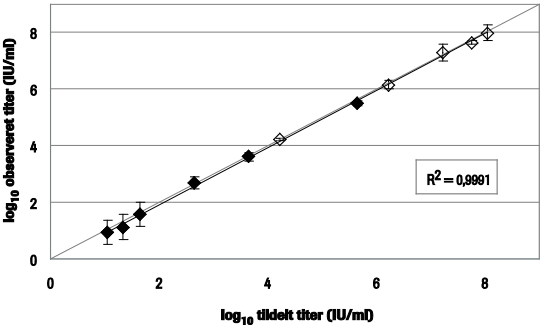
* Titerdata anses for at være log-normalfordelt og analyseres efter log_{10}-transformationen. Kolonnerne 2-7 viser den samlede standardafvigelse (SD) for den log-transformerede titer for hver af de tre reagenslot.

C. Lineært interval

Der blev anvendt to linearitetspaneler til at evaluere det lineære interval for den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0. Disse paneler bestod af fortyndinger af en HCV RNA-positiv klinisk prøve for det nedre og midterste dynamiske interval (op til 3,0E+05 IU/ml) og aRNA for den høje ende af det dynamiske interval (op til 2,0E+08 IU/ml) i enten EDTA-plasma eller i serum. Undersøgelsen blev udført med to reagenslot af den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, i overensstemmelse med de metoder, der er angivet i CLSI EP6-A[22]. Alle 11 panelmedlemmer for EDTA-plasma og alle 14 panelmedlemmer for serum blev testet med op til 16 bestemmelser pr. koncentration, matrix og reagenslot.

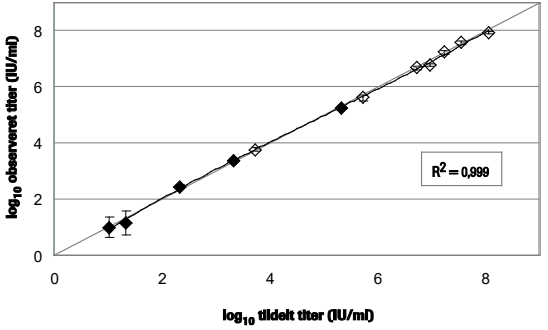
Den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, er lineær fra 15 HCV RNA IU/ml til mindst 1,0E+08 HCV RNA IU/ml med en acceptabel absolut afvigelse fra linearitetens på +/- 0,2 log_{10} (se figur 1 og 2 for at se repræsentative resultater). På tværs af det lineære interval er testens nøjagtighed inden for +/- 0,2 log_{10}.

Figur 1
Bestemmelse af lineært interval
for den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, i EDTA-plasmaprøver



Regressionskurven viser gennemsnitsresultaterne for kliniske prøver (udfyldt rombe) og aRNA-prøver (ikke-udfyldt rombe) indtegnet i forhold til den tildelte log_{10}-titer. Regressionslinjen (fed; fra 11 til 1,1E+08 IU/ml) vises sammen med enhedslinjen (grå) for at gøre testens lineære fremtræden visuel. Standardafvigelsen for log_{10}-titer vises som fejlsøjler; R^2 vises.

Figur 2
Bestemmelse af lineært interval
for den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, i serumprøver



Regressionskurven viser gennemsnitsresultaterne for kliniske prøver (udfyldt rombe) og aRNA-prøver (ikke-udfyldt rombe) indtegnet i forhold til den tildelte log_{10}-titer. Regressionslinjen (sort; fra 11 til 1,2E+08 IU/ml) vises sammen med enhedslinjen (grå) for at gøre testens lineære fremtræden visuel. Standardafvigelsen for log_{10}-titere vises som fejlsøjler; R^2 vises.

D. Inklusivitet

Performance af den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, på HCV-genotyper blev evalueret ved (i) bekræftelse af detektionsgrænsen for genotype 1 til 6 og (ii) bekræftelse af det lineære interval for genotype 1 til 6.

Bekræftelse af detektionsgrænsen for genotype 1 til 6

Kliniske HCV RNA-prøver for 8 forskellige genotyper/undertyper (1a, 1b, 2a, 2b, 3, 4, 5 og 6) blev fortyndet til tre forskellige koncentrationer i EDTA-plasma eller serum, og der blev udført en hit rate-fastsættelse for hver koncentration med op til 70 bestemmelser. Undersøgelsen blev foretaget med ét reagenslot af den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0.

Resultaterne for EDTA-plasma og serum vises i tabel 4 og 5 og bekræfter, at den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, detekterede HCV RNA for 8 forskellige genotyper/undertyper ved koncentrationer på 15 IU/ml eller mere med en hit rate på ≥ 95 %. Forskellen mellem serum og EDTA-plasma var ikke signifikant statistisk set.

Tabel 4
Bekræftelse af detektionsgrænsen for HCV RNA-genotype i EDTA-plasma

Genotype	5 IU/ml			15 IU/ml			45 IU/ml		
	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %
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	47	75	62	62	100	62	62	100
6	63	55	87	63	62	98	63	63	100

Tabel 5
Bekræftelse af detektionsgrænsen for HCV RNA-genotype i serum

Genotype	5 IU/ml			15 IU/ml			45 IU/ml		
	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %
1a	63	45	71	62	62	100	63	63	100
1b	62	48	77	63	63	100	63	63	100
2a	63	47	75	61	60	98	63	63	100
2b	63	42	67	63	61	97	63	63	100
3	63	58	92	63	63	100	63	63	100
4	63	41	65	63	62	98	63	63	100
5	62	46	74	61	60	98	62	62	100
6	70	58	83	70	69	99	69	69	100

Bekræftelse af lineært interval for genotype 1 til 6

Kliniske HCV-prøver for 8 forskellige genotyper/undertyper (1a, 1b, 2a, 2b, 3, 4, 5 og 6) blev testet i op til 22 koncentrationer. Disse paneler bestod af fortyndinger af HCV RNA-positive kliniske genotypeprøver for det nedre og midterste dynamiske interval og gentypespecifikke aRNA for den høje ende af det dynamiske interval (genotyper 1a, 1b, 3 og 4 op til den øvre grænse for kvantificering) eller på tværs af hele det dynamiske interval (genotyper 2a, 2b, 5 og 6) i EDTA-plasma. Undersøgelsen blev udført med ét reagenslot af den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0. Alle 22 panelmedlemmer blev testet i op til 15 bestemmelser.

Det lineære interval for den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, blev bekræftet med HCV-genotype 1 til 6 fra 13 HCV RNA IU/ml til mindst 1,4E+08 HCV RNA IU/ml med en acceptabel absolut afvigelse fra linearitetens på +/- 0,2 $\log_{10}$.

E. Diagnostisk sensitivitet

Den diagnostiske sensitivitet i den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, blev fastsat ved at analysere individuelle HCV RNA-positive EDTA-plasma- eller serumprøver (488 resultater i alt) med to reagenslot af den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0. Alle prøver var positive for HCV RNA. I dette panel er den diagnostiske sensitivitet for den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, 100 % (ensidet nedre 95 %-konfidensgrænse: ≥ 99,4 %).

F. Specificitet

Specificiteten af den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, blev fastsat ved at analysere HCV RNA- og sero-negative EDTA-plasma- eller serumprøver fra bloddonorer. Individuelle EDTA-plasma- og serumprøver (600 resultater i alt) blev testet med to reagenslot af den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0. Alle prøver var negative for HCV RNA. I dette panel er specificiteten for den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, 100 % (ensidet nedre 95 %-konfidensgrænse: ≥ 99,5 %).

G. Analytisk specificitet

Den analytiske specificitet af den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, blev evalueret ved at fortynde høje titerstammer af forskellige patogener (se tabel 6) med HCV RNA-positive og HCV RNA-negative kliniske EDTA-plasmaprøver. Ingen af ikke-HCV-patogenerne interfererede med testens performance eller viste falsk positive resultater i den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0.

Tabel 6
Analytisk specificitet i prøver

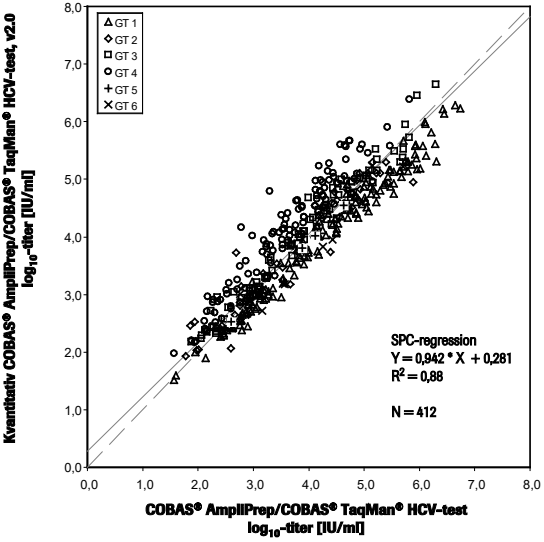
Ikke-HCV flavivira West Nile-virus St. Louis encephalitis-virus Murray Valley encephalitis-virus Dengue-virus, type 1, 2, 3 og 4 Gul feber-virus Zika-virus FSME-virus (stamme HYPR)	**Vira** Adenovirus, type 5 Cytomegalovirus Epstein Barr-virus Hepatitis B-virus Hepatitis A-virus HIV-1 Human T-celle lymfotrofisk virus, type 1 og 2 Human herpesvirus, type 6 Herpes simplexvirus, type 1 og 2 Influenza A Human papillomavirus Varicella-zoster-virus
Bakterier *Propionibacterium acnes* *Staphylococcus aureus*	
Gær *Candida albicans*	

H. Performance sammenlignet med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-testen

Performance af den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, og COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-testen blev sammenlignet ved analyse af serum- og EDTA-plasmaprøver fra HCV-smittede patienter (fortyndet og ufortyndet). I alt var 412 EDTA-plasma- og serumprøver på tværs af alle genotyper, analyseret to gange, valide og inden for kvantificeringsintervallet for begge test. Der blev foretaget Deming-regression og Bland Altman-analyse. Resultaterne af Deming-regressionen er vist i figur 3.

Figur 3
Korrelation mellem den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, og COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-testen

(GT = genotype)



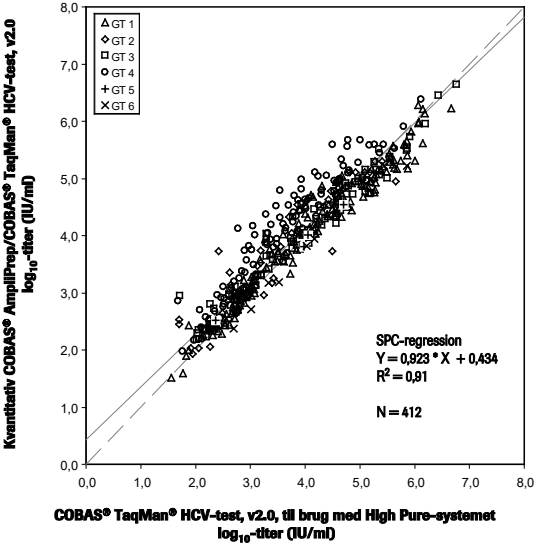
Deming-regressionsnanalysen blev foretaget, og den R-kvadrerede værdi var 0,88 for alle prøver og 0,94, hvis prøverne for genotype 4 blev udelukket af analysen. Efter Bland-Altman-analyse viste korrelationen en gennemsnitlig $\log_{10}$-titerforskel på henholdsvis 0,1 (alle prøver analyseret) eller -0,1 (prøver for genotype 4 udelukket).

I. Performance sammenlignet med COBAS® TaqMan® HCV-testen, v2.0, til brug med High Pure-systemet

Performance af den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, og COBAS® TaqMan® HCV-testen, v2.0, til brug med High Pure-systemet blev sammenlignet ved analyse af serum- og EDTA-plasmaprøver fra HCV-smittede patienter. I alt var 412 EDTA-plasma- og serumprøver på tværs af alle genotyper, analyseret to gange, valide og inden for kvantificeringsintervallet for begge test. Der blev foretaget Deming-regression og Bland Altman-analyse. Resultaterne af Deming-regressionen er vist i figur 4.

Figur 4
Korrelation mellem den kvantitative COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV-test, v2.0, og COBAS® TaqMan® HCV-testen, v2.0, til brug med High Pure-systemet

(GT = genotype)



Deming-regressionsanalysen blev foretaget, og den R-kvadrerede værdi var 0,91. Efter Bland-Altman-analyse viste korrelationen en gennemsnitlig log_{10}-titerforskel på 0,1.

REFERENCER

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. Mc Hutchison JG, Gordon SC, Schiff ER et al. 1998. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. N Engl J Med **339**:1485-1492.

7. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V et al. 1998. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. *N Engl J Med* **339**:1493-1499.

8. Manns MP, McHutchinson JG, Gordon SC et al. 2001. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomized trial. *Lancet* **358**:958-965.

9. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR et al. 2002. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* **347**:975-982.

10. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR et al. 2004. Peginterferon-[alpha] 2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* **140**:346-355.

11. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL et al. 2009. Diagnosis management and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology* **49**:1335-1374.

12. NIH Consensus and State-of-the-Science Statements. Management of Hepatitis C. 2002. **19**:1-46.

13. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Consensus Statement. 1999. *Hepatology* **30**:956-961.

14. Jensen DM, Morgan TR, Marcellin P et al. 2006. Early identification of HCV genotype 1 patients responding to 24 weeks peginterferon alpha-2a (40 kd)/ribavirin therapy. *Hepatology* **43**:954-960.

15. Poordad F, McCone J Jr., Bacon BR et al. 2011. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* **364**:1195-1206.

16. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G et al. 2011. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. N Engl J Med **364**:2405-2416.

17. 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.

18. 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.

19. U.S. Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th Edition, HHS Publication No. (CDC) 21-1112; December 2009.

20. 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.

21. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 49th Edition. 2008.

22. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI Document EP6-A. CLSI: Wayne, PA 2002.

23. Saldanha, J., Heath, A., Aberham, C., Albrech, J., Gentili, G., Gessner, M. and Pisani, G.2005. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. Vox Sanguinis **88**:202-204.

24. Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P.S., and Griffith, R. 1992. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. Bio-Technology **10**:413-417.

25. Heid, C.A., Stevens, J., Livak, J.K., and Williams, P.M. 1996. Real time quantitative PCR. Genome Research **6**:986-994.

Oplysninger om dokumentrevision	
Doc. Rev. 3.0 (Mfg-US) 02/2019	Det bemyndigede organs nummer under CE-mærket er opdateret. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.
Doc. Rev. 4.0 (Mfg-US) 09/2019	Afsnittet **KRAV TIL OPBEVARING OG HÅNDTERING** er opdateret til at vejlede brugeren i at inspicere produktet visuelt for tegn på lækage før brug og ikke bruge produktet, hvis der er tegn på lækage. Roches webadresse www.roche.com er tilføjet. Siden med harmoniserede symboler er opdateret. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.

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

D

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
Jaguaré, Building 10
05321-010 São Paulo, SP Brazil

Varemærker og patenter

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

©2019 Roche Molecular Systems, Inc.

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

07941692001-04

EC REP

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany

CE
2797

Følgende symboler er nu i anvendelse på etiketter til Roche PCR diagnostiske produkter.

SW	Hjælpesoftware	IVD	Medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik
EC REP	Autoriseret repræsentant i EF	LLR	Nedre grænse for tildelt interval
BARCODE	Barkodedataark		Producent
LOT	Lotnummer		Opbevares mørkt
	Biologisk fare	Σ	Indeholder tilstrækkeligt til <*n*> tests
REF	Katalognummer		Temperaturbegrænsning
	Se brugsanvisning	TDF	Testdefinitionsfil
Cont.	Indhold i pakning	ULR	Øvre grænse for tildelt interval
D	Distribueret af		Sidste anvendelsesdato
	Kun til evaluering af IVD-performance	GTIN	Global Trade Item Number
Rx Only	Kun USA: Ifølge amerikansk lovgivning må denne enhed kun sælges af eller efter anmodning fra en læge.		Fremstillingsdato
CE	Dette produkt overholder kravene i det europæiske direktiv 98/79/EF om medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik.		