

# **cobas**<sup>®</sup> **MPX**

---

## **Test multiplex degli acidi nucleici di HIV, HCV e HBV per l'uso sui cobas<sup>®</sup> 6800/8800 Systems**

Per uso diagnostico *in vitro*

<b>cobas<sup>®</sup> MPX – 96</b>	P/N: 06997708190
<b>cobas<sup>®</sup> MPX – 480</b>	P/N: 06997716190
<b>cobas<sup>®</sup> MPX Control Kit</b>	P/N: 06997724190
<b>cobas<sup>®</sup> NHP Negative Control Kit</b>	P/N: 07002220190
<b>cobas omni MGP Reagent</b>	P/N: 06997546190
<b>cobas omni Specimen Diluent</b>	P/N: 06997511190
<b>cobas omni Lysis Reagent</b>	P/N: 06997538190
<b>cobas omni Wash Reagent</b>	P/N: 06997503190

# Indice generale

<b>Uso previsto .....</b>	<b>4</b>
<b>Riassunto e spiegazione del test.....</b>	<b>4</b>
<b>Reagenti e materiali .....</b>	<b>7</b>
Reagenti e controlli cobas® MPX.....	7
Reagenti cobas omni per la preparazione dei campioni.....	11
Requisiti per la conservazione e la manipolazione dei reagenti.....	12
Materiali aggiuntivi necessari .....	13
Strumentazione e software necessari .....	13
<b>Precauzioni e requisiti per l'uso.....</b>	<b>14</b>
Avvertimenti e precauzioni.....	14
Manipolazione dei reagenti.....	14
Buone pratiche di laboratorio.....	15
<b>Raccolta, trasporto, conservazione e creazione di pool di campioni.....</b>	<b>15</b>
Campioni di sangue da donatori viventi.....	15
Campioni di sangue da donatori non viventi.....	18
<b>Istruzioni per l'uso.....</b>	<b>19</b>
Pipettamento automatico dei campioni e creazione di pool (opzionale) .....	19
Note sulla procedura.....	19
Esecuzione del test cobas® MPX.....	19
<b>Risultati .....</b>	<b>20</b>
Controllo di qualità e validità dei risultati .....	20
Interpretazione dei risultati .....	21
Test di ripetizione su singolo campione.....	21
Limiti della procedura .....	21
<b>Valutazione delle prestazioni non cliniche.....</b>	<b>22</b>
Caratteristiche delle prestazioni .....	22
Campioni di donatori viventi.....	22
Limite di sensibilità (LoD).....	22
Riproducibilità .....	26

Verifica del genotipo .....	29
Pannelli di sieroconversione .....	34
Specificità analitica .....	37
Specificità analitica e sostanze interferenti.....	38
Correlazione .....	39
Tasso globale d'errore del sistema .....	40
Contaminazione crociata.....	40
Campioni cadaverici.....	41
Sensibilità.....	41
Specificità.....	42
Riproducibilità .....	43
<b>Valutazione delle prestazioni cliniche.....</b>	<b>46</b>
Riproducibilità.....	46
Specificità clinica .....	49
Reattività nella popolazione di donatori di sangue.....	49
Reattività nella popolazione di donatori di plasma.....	50
Studi tra le popolazioni ad alto rischio .....	51
Sensibilità clinica.....	53
Studi tra le popolazioni NAT-positiva.....	53
Sensibilità clinica per la popolazione sieropositiva all'HIV-1 gruppo O e all'HIV-2.....	55
Popolazione sieropositiva all'HIV-1 gruppo O.....	55
Popolazione sieropositiva all'HIV-2.....	55
Conferma dei risultati di sierologia.....	56
<b>Informazioni supplementari.....</b>	<b>57</b>
Caratteristiche del test .....	57
Simboli.....	58
Assistenza tecnica.....	59
Produttore e distributori .....	59
Marchi e brevetti.....	59
Copyright.....	59
Bibliografia .....	60
Revisione del documento .....	63

## Uso previsto

Il test **cobas**® MPX, da utilizzare sui sistemi **cobas**® 6800 e **cobas**® 8800, è un esame qualitativo *in vitro* destinato all'identificazione diretta dell'RNA del virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1 (HIV-1) gruppo M, dell'RNA del virus HIV-1 gruppo O, dell'RNA del virus dell'immunodeficienza umana di tipo 2 (HIV-2), dell'RNA del virus dell'epatite C (HCV) e del DNA del virus dell'epatite B (HBV) in plasma e siero umano.

Il test è destinato all'uso per lo screening dell'RNA di HIV-1 gruppo M, dell'RNA di HIV-1 gruppo O, dell'RNA di HIV-2, dell'RNA di HCV e del DNA di HBV in campioni di plasma e siero prelevati da singoli donatori umani, inclusi donatori di sangue intero ed emocomponenti e altri donatori viventi. Questo test è inoltre impiegato per lo screening delle donazioni di organi e tessuti, con prelievo dei campioni in presenza di battito cardiaco del donatore, oltre che per lo screening dei campioni di donatori non viventi, ovvero in assenza di battito cardiaco. Per lo screening di tutti i donatori di plasma e siero, è possibile analizzare i campioni individualmente. Per lo screening delle donazioni di sangue intero ed emocomponenti, è possibile analizzare i campioni di plasma e siero individualmente o analizzare il plasma in pool costituiti da aliquote di singoli campioni. Per lo screening delle donazioni di organi e tessuti (in assenza di battito cardiaco), è possibile analizzare i campioni soltanto individualmente.

Nel caso di un campione individuale, vengono eseguite simultaneamente la rilevazione e la discriminazione tra HIV, HCV e HBV.

Il test **cobas**® MPX può essere considerato un esame supplementare per confermare l'infezione da HIV nei campioni che hanno generato ripetutamente risultati reattivi ad un test con certificazione CE-IVD per la rilevazione degli anticorpi anti-HIV e che hanno generato risultati reattivi al test **cobas**® MPX.

Il test **cobas**® MPX può essere considerato un esame supplementare per confermare l'infezione da HCV nei campioni che hanno generato ripetutamente risultati reattivi ad un test con certificazione CE-IVD per la rilevazione degli anticorpi anti-HCV e che hanno generato risultati reattivi al test **cobas**® MPX.

Il test **cobas**® MPX può essere considerato un esame supplementare per confermare l'infezione da HBV nei campioni che hanno generato ripetutamente risultati reattivi ad un test con certificazione CE-IVD per la rilevazione dell'antigene di superficie dell'epatite B e che hanno generato risultati reattivi al test **cobas**® MPX.

Questo test non è inteso come ausilio per la diagnosi di infezione da HIV, HCV o HBV.

## Riassunto e spiegazione del test

### **Premessa: screening del sangue per rilevare infezioni virali trasmesse tramite trasfusione**

Per quanto riguarda le trasfusioni di sangue e di emocomponenti, la fonte di preoccupazione principale è la potenziale trasmissione di infezioni virali, in particolare causate dai virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1 (HIV-1) e di tipo 2 (HIV-2), dell'epatite C (HCV) e dell'epatite B (HBV). Questi agenti infettivi vengono trasmessi principalmente attraverso il contatto con sangue, emocomponenti o plasma contaminati o l'esposizione ad alcuni tessuti o fluidi corporei, tramite contatto sessuale o da madre infetta a neonato.

L'HIV-1 è prevalente globalmente, con una prevalenza totale stimata dell'1,1% (0,56% in Nord America e 0,25% in Europa Occidentale).<sup>1</sup> A distanza di 3-6 settimane dal contagio iniziale, i soggetti infetti da virus HIV-1 manifestano sintomi parainfluenzali, inizialmente acuti, associati a livelli elevati di viremia nel sangue periferico. I principali gruppi genetici del virus HIV-1 finora identificati sono tre: il gruppo M (Main, principale), il gruppo N (né M, né O) e il gruppo O (Outlier, erratico). Il gruppo M è fortemente prevalente e si divide ulteriormente in 9 sottotipi, oltre che in molteplici forme ricombinanti circolanti (circulating recombinant form, CRF).<sup>2-4</sup>

L'HIV-2 è stato isolato per la prima volta nel 1986 in pazienti dell'Africa Occidentale. Le modalità di trasmissione dell'HIV-1 e dell'HIV-2 sono le stesse e, generalmente, sono associate a infezioni opportunistiche similari e alla sindrome da immunodeficienza acquisita (Acquired Immunodeficiency Syndrome, AIDS).<sup>5,6</sup> La prevalenza dell'HIV-2 in alcune regioni dell'Africa ha ormai superato l'1%, mentre l'HIV-2 rappresenta una fonte di preoccupazione crescente in alcune regioni dell'Europa e dell'India.<sup>7-11</sup>

L'HCV è considerato il principale agente eziologico responsabile del 90-95% dei casi di epatite post-trasfusionale di tipo non A e non B<sup>12-14</sup> La prevalenza osservata dell'HCV è compresa tra lo 0,5 e il 2,0% in Europa Occidentale<sup>15</sup> e tra il 6 e il 40% in Egitto.<sup>16</sup>

Più di 2 miliardi di esseri umani attualmente viventi sono stati infettati dal virus HBV in una fase della loro vita. Tra questi, circa 350 milioni cronicizzano diventando portatori del virus.<sup>17-19</sup> Sia l'HCV che l'HBV possono provocare patologie epatiche croniche e, nel 78% dei casi a livello globale, sono la causa più comune di cirrosi epatiche e tumori del fegato.<sup>20</sup>

### **Perché utilizzare i test degli acidi nucleici**

I test sierologici di screening hanno ridotto significativamente, anche se non eradicato del tutto, il rischio di trasmissione delle infezioni virali attraverso i prodotti delle emotrasfusioni. I primi test sulle donazioni di sangue intero e plasma finalizzati all'identificazione del virus HBV risalgono all'inizio degli anni '70, con l'introduzione dei saggi HBsAg, e agli anni '80, con l'introduzione dei test anti-HBc. Oltre allo screening dell'HBV, le donazioni di sangue e di plasma sono sottoposte regolarmente a test immunoenzimatici (Enzyme ImmunoAssay, EIA) per l'identificazione dell'HIV e dell'HCV.<sup>21,22</sup> Esiste un rischio residuo di trasmissione dalle donazioni di sangue durante il periodo finestra della sierconversione, che è stato calcolato in circa 19 giorni, 65 giorni e 36 giorni rispettivamente per l'HIV-1, l'HCV e l'HBV.<sup>23</sup> I test degli acidi nucleici virali (RNA di HIV-1, RNA di HCV e DNA di HBV), basati sulla tecnologia di amplificazione dell'acido nucleico (Nucleic Acid Amplification Technology, NAT), possono ridurre questo rischio in modo sostanziale.<sup>24,25</sup> Grazie all'introduzione dei test NAT, il rischio residuo di infezione trasmessa per via trasfusionale negli USA è attualmente di 1:1,5 milioni per l'HIV-1, di 1:1,2 milioni per l'HCV e di 1:280.000–1:355.000 per l'HBV.<sup>26,27</sup> In Germania, dove i test NAT sono in uso fin dal 1999, stime analoghe indicano un rischio residuo di infezione trasmessa per via trasfusionale di 1:4,3 milioni per l'HIV-1, di 1:10,9 milioni per l'HCV e di 1:360.000 per l'HBV.<sup>24</sup> Nel caso dell'HBV, inoltre, i test NAT consentiranno di escludere i donatori con infezione occulta da HBV (nei quali il DNA di HBV è rilevabile ma l'antigene di superficie HBsAg è assente<sup>28</sup>) e i donatori vaccinati interessati da un'infezione subclinica breakthrough.<sup>29-31</sup>

### **Spiegazione del test**

Il test **cobas**® MPX è un esame multiplex qualitativo che viene eseguito sul **cobas**® 6800 System e sul **cobas**® 8800 System. Il test **cobas**® MPX consente la rilevazione e la discriminazione simultanee dell'RNA di HIV, dell'RNA di HCV, del DNA di HBV e del controllo interno in un unico test, da eseguire su una donazione individuale infetta, o su un pool di plasma costituito da più donazioni individuali. Il test non consente di discriminare tra HIV-1 gruppo M, HIV-1 gruppo O e HIV-2.

## Principi della procedura

Il test **cobas**® MPX si basa sulla tecnologia real-time PCR su una preparazione di campioni completamente automatizzata (estrazione e purificazione degli acidi nucleici) e sulla successiva amplificazione e rilevazione mediante PCR. I sistemi **cobas**® 6800/8800 sono costituiti dal modulo di inserimento dei campioni, dal modulo di trasferimento, dal modulo di preparazione e dal modulo analitico. La gestione automatizzata dei dati è affidata al software **cobas**® 6800/8800, che classifica i risultati di tutti i test come non reattivi, reattivi o non validi. I risultati possono essere visualizzati direttamente sullo schermo del sistema, stampati in un report oppure inviati a un sistema LIMS (Laboratory Information Management System) o a un altro tipo di sistema per la gestione dei risultati.

È possibile analizzare i campioni singolarmente oppure, facoltativamente, creare un pool costituito da più campioni e analizzarlo. Nel caso in cui sia necessario creare i pool, è possibile utilizzare facoltativamente lo strumento **cobas p 680** oppure il software **cobas**® Synergy con Hamilton MICROLAB® STAR IVD (**cobas**® Synergy Core) in un passaggio pre-analitico.

L'acido nucleico viene estratto simultaneamente dal campione e dalle molecole di Armored RNA del controllo interno (IC) aggiunto (che agisce da controllo del processo di preparazione e amplificazione/rilevazione del campione). Inoltre il test utilizza quattro controlli esterni, di cui tre positivi e uno negativo. L'acido nucleico virale viene liberato aggiungendo nel campione la proteinasi e il reagente di lisi. L'acido nucleico liberato si lega quindi alla superficie di silice delle biglie di vetro magnetiche aggiunte. Le sostanze che non formano legami e le impurità (ad esempio le proteine denaturate, i detriti cellulari e i potenziali inibitori della PCR, come l'emoglobina) vengono rimosse con il reagente di lavaggio nei passaggi successivi e l'acido nucleico purificato viene eluito dalle biglie di vetro magnetiche con il tampone di eluizione a temperature elevate.

Per ottenere l'amplificazione selettiva dell'acido nucleico target dal campione del donatore vengono utilizzati dei primer forward e reverse, che sono specifici del virus e sono selezionati da regioni altamente conservate dell'acido nucleico virale. Un enzima DNA polimerasi termostabile viene utilizzato sia per la trascrizione inversa che per l'amplificazione. La soluzione Master Mix contiene trifosfato di deossiuridina (dUTP) anziché trifosfato di deossitimidina (dTTP), che è incorporato nel DNA appena sintetizzato (amplicone).<sup>32-34</sup> Tutti gli ampliconi contaminanti che sono stati prodotti da sessioni di PCR precedenti vengono eliminati dall'enzima AmpErase [uracil-N-glicosilasi], che è contenuto nella Master Mix per PCR, durante il primo passaggio del ciclo termico. Gli ampliconi che si sono appena formati non vengono invece eliminati perché l'enzima AmpErase si inattiva dopo l'esposizione a temperature superiori a 55°C.

La soluzione **cobas**® MPX Master Mix contiene sonde di rivelazione specifiche per gli acidi nucleici dei virus HIV-1 (gruppi M e O), HIV-2, HCV, HBV e del controllo interno (IC). Ognuna delle sonde di rivelazione specifiche per HIV, HCV, HBV e IC è marcata con uno dei quattro fluorocromi univoci, che agiscono da rivelatori (reporter). Ogni sonda include anche un quinto fluorocromo, che agisce da soppressore (quencher). Le misurazioni dei quattro fluorocromi reporter vengono effettuate a lunghezze d'onda fisse, consentendo così l'identificazione e la discriminazione dei target di HIV, HCV e HBV amplificati e del controllo interno (IC).<sup>35,36</sup> Quando non è legato alla sequenza target, il segnale fluorescente delle sonde intatte viene soppresso dal fluorocromo quencher. Nella fase di amplificazione mediante PCR, le sonde ibridizzano con lo stampo specifico di DNA a filamento unico e vengono scisse dall'attività nucleasica in direzione 5'→3' della DNA polimerasi, con la conseguente separazione dei fluorocromi reporter e quencher e la produzione di un segnale fluorescente. Con ogni ciclo di PCR viene generata una quantità crescente di sonde scisse e, parallelamente, si assiste all'aumento del segnale cumulativo del fluorocromo reporter. Poiché le misurazioni dei quattro fluorocromi reporter avvengono a lunghezze d'onda fisse, è possibile consentire la rilevazione e la discriminazione simultanea dei target amplificati di HIV, HCV e HBV e del controllo interno (IC).

## Reagenti e materiali

### Reagenti e controlli cobas® MPX

Tutti i reagenti e i controlli non ancora aperti devono essere conservati rispettando le condizioni indicate dalla Tabella 1 alla Tabella 4.

**Tabella 1** Test cobas® MPX

Componenti del kit	Ingredienti del reagente	Quantità per kit	
		96 test	480 test
<b>Test cobas® MPX</b> Conservare a 2-8°C Cassetta da 96 test (P/N 06997708190) Cassetta da 480 test (P/N 06997716190)			
<b>Soluzione proteinasi (PASE)</b>	Tampone Tris, < 0,05% EDTA, cloruro di calcio, acetato di calcio, 8% proteinasi (p/v)  EUH210: Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta. EUH208: Contiene subtilisina. Può provocare una reazione allergica.	13 ml	38 ml
<b>Controllo Interno (IC)</b>	Tampone Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% costruito di Armored RNA del controllo interno (RNA non infettivo, incapsulato in MS2 batteriofaga), < 0,002% Poly rA RNA (sintetico), < 0,1% sodio azide	13 ml	38 ml
<b>Tampone di eluizione (EB)</b>	Tampone Tris, 0,2% metil-4 idrossibenzoato	13 ml	38 ml
<b>Master Mix Reagente 1 (MMX-R1)</b>	Acetato di manganese, idrossido di potassio, < 0,1% sodio azide	5,5 ml	14,5 ml
<b>MPX Master Mix Reagente 2 (MPX MMX-R2)</b>	Tampone tricina, acetato di potassio, glicerolo, 18% dimetil sulfoxide, Tween 20, EDTA, < 0,06% dATP, dGTP, dCTP, < 0,14% dUTP, < 0,01% primer upstream e downstream di HIV-1 gruppo M, HIV-1 gruppo O, HIV-2, HCV, HBV e per controllo interno, < 0,01% sonde fluorescenti di HIV, HCV e HBV, < 0,01% sonda fluorescente IC, < 0,01% aptamero oligonucleotidico, < 0,01% DNA polimerasi Z05D, < 0,01% enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasi) (batterico), < 0,1% sodio azide	6 ml	17,5 ml

Tabella 2 cobas® MPX Control Kit

## cobas® MPX Control Kit

Conservare a 2-8°C  
(P/N 06997724190)






Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
<b>Controllo multiplo positivo MPX (MPX M (+) C)</b>	<p>&lt; 0,001% RNA sintetico (armored) di HIV-1 gruppo M incapsulato in proteina di rivestimento batteriofaga MS2, &lt; 0,001% RNA sintetico (armored) di HCV incapsulato in proteina di rivestimento batteriofaga MS2, &lt; 0,001% DNA sintetico (plasmide) di HBV incapsulato in proteina di rivestimento batteriofaga Lambda, plasma umano normale, non reattivo ai test brevettati per gli anticorpi anti-HCV, anti-HIV-1/2, HBsAg, anti-HBc; RNA di HIV-1, RNA di HIV-2, RNA di HCV e DNA di HBV non rilevabili con i metodi PCR</p> <p>0,1% conservante ProClin® 300**</p>	4 ml (4 × 1 ml)	  <p><b>AVVERTIMENTO</b></p> <p>H317: Può provocare una reazione allergica cutanea.</p> <p>P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/ la nebbia/i vapori/gli aerosol.</p> <p>P272: Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro.</p> <p>P280: Indossare guanti protettivi.</p> <p>P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.</p> <p>P362 + P364: Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.</p> <p>P501: Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione dei rifiuti autorizzato.</p> <p>55965-84-9 Massa di reazione di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [N. CE 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-one [N. CE 220-239-6] (3:1).</p>
<b>Controllo positivo MPX HIV-1 O (MPX O (+) C)</b>	<p>&lt; 0,001% RNA sintetico (armored) di HIV-1 gruppo O incapsulato in proteina di rivestimento batteriofaga MS2, plasma umano normale, non reattivo ai test brevettati per gli anticorpi anti-HCV, anti-HIV-1/2, HBsAg, anti-HBc, RNA di HIV-1, RNA di HIV-2, RNA di HCV e DNA di HBV non rilevabili con i metodi PCR</p> <p>0,1% conservante ProClin® 300**</p>	4 ml (4 × 1 ml)	  <p><b>AVVERTIMENTO</b></p> <p>H317: Può provocare una reazione allergica cutanea.</p> <p>P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/ la nebbia/i vapori/gli aerosol.</p> <p>P272: Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro.</p> <p>P280: Indossare guanti protettivi.</p> <p>P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.</p> <p>P362 + P364: Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.</p> <p>P501: Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione dei rifiuti autorizzato.</p> <p>55965-84-9 Massa di reazione di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [N. CE 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-one [N. CE 220-239-6] (3:1).</p>

Tabella 2 cobas® MPX Control Kit

**cobas® MPX Control Kit**

Conservare a 2-8°C  
(P/N 06997724190)


Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
<b>Controllo positivo MPX HIV-2 (MPX 2 (+) C)</b>	< 0,001% RNA sintetico (armored) di HIV-2 incapsulato in proteina di rivestimento batteriofaga MS2, plasma umano normale, non reattivo ai test brevettati per gli anticorpi anti-HCV, anti-HIV-1/2, HBsAg, anti-HBc, RNA di HIV-1, RNA di HIV-2, RNA di HCV e DNA di HBV non rilevabili con i metodi PCR 0,1% conservante ProClin® 300**	4 ml (4 × 1 ml)	 <p><b>AVVERTIMENTO</b></p> <p>H317: Può provocare una reazione allergica cutanea.</p> <p>P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/ la nebbia/i vapori/gli aerosol.</p> <p>P272: Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro.</p> <p>P280: Indossare guanti protettivi.</p> <p>P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.</p> <p>P362 + P364: Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.</p> <p>P501: Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione dei rifiuti autorizzato.</p> <p>55965-84-9 Massa di reazione di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [N. CE 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-one [N. CE 220-239-6] (3:1).</p>

\* L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

\*\* Sostanza pericolosa.

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

Conservare a 2-8°C  
(P/N 07002220190)

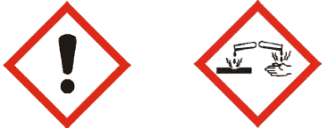
Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
<b>Controllo negativo di plasma umano normale (NHP-NC)</b>	Plasma umano normale, non reattivo ai test brevettati per gli anticorpi anti-HCV, anti-HIV-1/2, anti-HBc e antigene HBsAg; RNA di HIV-1, RNA di HIV-2, RNA di HCV e DNA di HBV non rilevabili con i metodi PCR. < 0,1% Conservante ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	 <p><b>AVVERTIMENTO</b></p> <p>H317: Può provocare una reazione allergica cutanea.</p> <p>P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.</p> <p>P272: Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro.</p> <p>P280: Indossare guanti protettivi.</p> <p>P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.</p> <p>P362 + P364: Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.</p> <p>P501: Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione dei rifiuti autorizzato.</p> <p>55965-84-9 miscela di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [N. CE 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-one [N. CE 220-239-6] (3:1)</p>

\* L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

\*\* Sostanza pericolosa.

## Reagenti cobas omni per la preparazione dei campioni

**Tabella 4** Reagenti **cobas omni** per la preparazione dei campioni\*

Reagenti	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento**
<b>cobas omni MGP Reagent (MGP)</b> Conservare a 2-8°C (P/N: 06997546190)	Biglie di vetro magnetiche, tampone Tris, 0,1% metil-4 idrossibenzoato, < 0,1% sodio azide	480 test	Non applicabile
<b>cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL)</b> Conservare a 2-8°C (P/N: 06997511190)	Tampone Tris, 0,1% metil-4 idrossibenzoato, < 0,1% sodio azide	4 × 875 ml	Non applicabile
<b>cobas omni Lysis Reagent (LYS)</b> Conservare a 2-8°C (P/N: 06997538190)	42,56% (p/p) tiocianato di guanidina***, 5% (p/v) polidocanolo***, 2% (p/v) ditiotreitolo, citrato di sodio diidrato	4 × 875 ml	 <p><b>PERICOLO</b></p> <p>H302 + H332: Nocivo se ingerito o inalato.  H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.  H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.  EUH032: A contatto con acidi libera gas molto tossici.  P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.  P273: Non disperdere nell'ambiente.  P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso.  P303 + P361 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle.  P304 + P340 + P310: IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.  P305 + P351 + P338 + P310: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico.  593-84-0 Guanidina tiocianato  9002-92-0 Polidocanolo  3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercapto-2,3-butandiolo</p>
<b>cobas omni Wash Reagent (WASH)</b> Conservare a 15-30°C (P/N: 06997503190)	Citrato di sodio diidrato, 0,1% metil-4 idrossibenzoato	4,2 l	Non applicabile

\* Questi reagenti non sono inclusi nel kit del test **cobas**® MPX. Consultare l'elenco dei materiali aggiuntivi necessari (Tabella 7).

\*\* L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

\*\*\* Sostanza pericolosa.

## Requisiti per la conservazione e la manipolazione dei reagenti

I reagenti devono essere conservati e manipolati rispettando le condizioni indicate dalla Tabella 5 alla Tabella 6.

I reagenti che non sono ancora stati caricati sui cobas® 6800/8800 Systems devono essere conservati alla temperatura indicata nella Tabella 5.

**Tabella 5** Conservazione dei reagenti (non ancora caricati sul sistema)

Reagente	Temperatura di conservazione
cobas® MPX –96	2-8°C
cobas® MPX –480	2-8°C
cobas® MPX Control Kit	2-8°C
cobas® NHP Negative Control Kit	2-8°C
cobas omni Lysis Reagent	2-8°C
cobas omni MGP Reagent	2-8°C
cobas omni Specimen Diluent	2-8°C
cobas omni Wash Reagent	15-30°C

Dopo il caricamento sui cobas® 6800/8800 Systems, i reagenti sono conservati alla temperatura appropriata e la data di scadenza viene monitorata dal sistema. Il sistema consente l'utilizzo dei reagenti soltanto se sono rispettate tutte le condizioni descritte nella Tabella 6. Il sistema impedisce automaticamente l'uso dei reagenti scaduti. La Tabella 6 fornisce all'utente informazioni utili sulle condizioni di manipolazione dei reagenti previste per i cobas® 6800/8800 Systems.

**Tabella 6** Scadenza dei reagenti sui cobas® 6800/8800 Systems

Reagente	Data di scadenza del kit	Stabilità del kit aperto	Numero di sedute per cui il kit può essere usato	Stabilità a bordo (tempo cumulativo a bordo fuori dal frigorifero)
cobas® MPX –96	Data non superata	30 giorni dal primo utilizzo	Max 10 sedute	Max 8 ore
cobas® MPX –480	Data non superata	30 giorni dal primo utilizzo	Max 20 sedute	Max 20 ore
cobas® MPX Control Kit	Data non superata	Non applicabile	Non applicabile	Max 8 ore
cobas® NHP Negative Control Kit	Data non superata	Non applicabile	Non applicabile	Max 10 ore
cobas omni Lysis Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni MGP Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni Specimen Diluent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni Wash Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile

\* Il calcolo inizia dalla prima volta che il reagente viene caricato sui cobas® 6800/8800 Systems.

## Materiali aggiuntivi necessari

**Tabella 7** Materiali e consumabili da utilizzare sui **cobas®** 6800/8800 Systems

Materiali	P/N
<b>cobas omni</b> Processing Plate	05534917001
<b>cobas omni</b> Amplification Plate	05534941001
<b>cobas omni</b> Pipette Tips	05534925001
<b>cobas omni</b> Liquid Waste Container	07094388001
<b>cobas omni</b> Lysis Reagent	06997538190
<b>cobas omni</b> MGP Reagent	06997546190
<b>cobas omni</b> Specimen Diluent	06997511190
<b>cobas omni</b> Wash Reagent	06997503190
Sacchetto per rifiuti solidi	07435967001
Contenitore per rifiuti solidi	07094361001

## Strumentazione e software necessari

Il software **cobas®** 6800/8800 e il pacchetto di analisi **cobas®** MPX verranno installati sullo strumento (o sugli strumenti). Il server IG (Instrument Gateway) verrà fornito con il sistema. Se necessario, verrà installato il software **cobas®** Synergy.

**Tabella 8** Strumentazione

<b>cobas®</b> 6800/8800 Systems	P/N
<b>cobas®</b> 6800 System (opzione mobile)	05524245001 e 06379672001
<b>cobas®</b> 6800 System (fisso)	05524245001 e 06379664001
<b>cobas®</b> 8800 System	05412722001
Modulo di inserimento dei campioni	06301037001
Opzioni per pipettamento e creazione di pool	P/N
<b>cobas p</b> 680 instrument	06570577001
Chiave di protezione dongle (opzionale) del software <b>cobas®</b> Synergy	07788339001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001

Per ulteriori informazioni sui tubi primari e secondari accettati dagli strumenti, consultare il Manuale Operatore dei **cobas®** 6800/8800 Systems e il Manuale Operatore del **cobas p** 680 instrument oppure l'Assistenza Utente del **cobas®** Synergy Software.

Nota: contattare il rappresentante Roche locale per richiedere un listino dettagliato dei rack per campioni, dei rack per puntali otturati e dei vassoi portarack accettati dagli strumenti.

# Precauzioni e requisiti per l'uso

## Avvertimenti e precauzioni

Come richiesto per qualsiasi procedura di analisi, per lo svolgimento di questo test è necessario attenersi alle buone pratiche di laboratorio. Data l'elevata sensibilità di questo test, fare attenzione ad evitare la contaminazione dei reagenti e delle miscele di amplificazione.

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Tutti i campioni e i controlli devono essere manipolati come materiale a rischio biologico, seguendo le buone pratiche di laboratorio descritte in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e nel documento M29-A4 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).<sup>37,38</sup> Questa procedura deve essere eseguita esclusivamente da personale esperto nella manipolazione di materiale a rischio biologico e nell'uso del test **cobas®** MPX, dei sistemi **cobas®** 6800/8800 e, facoltativamente, dello strumento **cobas p** 680 o di Hamilton MICROLAB® STAR IVD con **cobas®** Synergy Core.
- Tutti i materiali di origine umana devono essere considerati a rischio biologico e quindi manipolati adottando precauzioni universalmente valide. In caso di fuoriuscita accidentale, disinfettare immediatamente l'area con una soluzione fresca a base di ipoclorito di sodio allo 0,5% in acqua distillata o deionizzata (diluire la candeggina domestica 1:10) oppure seguire le procedure previste dal proprio laboratorio.
- I kit **cobas®** MPX Control Kit e **cobas®** NHP Negative Control Kit contengono plasma derivato da sangue umano. Il materiale di provenienza è stato analizzato con test degli anticorpi brevettati ed è risultato non reattivo agli anticorpi anti-HCV, anti-HIV-1/2, HBsAg e anti-HBc. I test basati sui metodi PCR eseguiti sul plasma umano normale hanno inoltre confermato l'assenza di RNA dei virus HIV-1 (gruppi M e O), HIV-2 e HCV e DNA del virus HBV. Allo stato attuale, tuttavia, nessun metodo di analisi garantisce con assoluta certezza che i prodotti derivati da sangue umano non trasmettano agenti infettivi.
- Non congelare il sangue intero.
- È consigliato l'uso di pipette sterili monouso e puntali di pipettamento privi di nucleasi. Per garantire prestazioni ottimali del test, utilizzare soltanto i consumabili forniti o consigliati.
- Per un corretto svolgimento del test, attenersi scrupolosamente alle procedure e alle linee guida approvate. Qualunque deviazione dalle procedure e dalle linee guida approvate potrebbe compromettere le prestazioni del test.
- Potrebbero essere generati risultati falsi positivi senza un'adeguata prevenzione dell'effetto carryover durante la manipolazione e la preparazione dei campioni.

## Manipolazione dei reagenti

- Manipolare tutti i reagenti, i controlli e i campioni seguendo le buone pratiche di laboratorio, al fine di prevenire il carryover dei campioni e dei controlli.
- Prima dell'uso ispezionare visivamente ogni cassetta dei reagenti, del diluente, del reagente di lisi e del reagente di lavaggio per confermare l'assenza di perdite. In caso di perdite accertate, non utilizzare il materiale per il test.
- Il reagente di lisi **cobas omni** contiene guanidina tiocianato, una sostanza chimica potenzialmente pericolosa. Evitare che i reagenti entrino in contatto con la pelle, gli occhi o le mucose. In caso di contatto, lavare immediatamente con abbondante acqua per prevenire possibili ustioni.

- I kit **cobas**® MPX Test, **cobas omni** MGP Reagent e **cobas omni** Specimen Diluent contengono sodio azide come conservante. Evitare che i reagenti entrino in contatto con la pelle, gli occhi o le mucose. In caso di contatto, lavare immediatamente con abbondante acqua per prevenire possibili ustioni. In caso di fuoriuscita dei reagenti, diluire il liquido con acqua prima di asciugare.
- Evitare che il reagente di lisi **cobas omni**, contenente guanidina tiocianato, entri in contatto con la soluzione di ipoclorito di sodio (candeggina). L'eventuale miscela potrebbe produrre gas altamente tossici.
- Le schede di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) possono essere richieste al rappresentante Roche locale.
- Smaltire tutti i materiali entrati in contatto con i campioni e i reagenti nel rispetto dei regolamenti previsti a livello locale, nazionale e internazionale.

## Buone pratiche di laboratorio

- Non pipettare con la bocca.
- Non mangiare, bere o fumare nelle aree di lavoro designate.
- Indossare guanti, camici da laboratorio e protezioni per gli occhi durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti del kit. Per evitare contaminazioni è necessario sostituire i guanti durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti contenuti nei kit di test **cobas**® MPX e reagenti **cobas omni**. Evitare di contaminare i guanti durante la manipolazione dei campioni e dei controlli.
- Lavare accuratamente le mani dopo avere manipolato i reagenti dei kit e dopo aver rimosso i guanti.
- Pulire e disinfettare accuratamente tutte le superfici di lavoro del laboratorio con una soluzione fresca a base di ipoclorito di sodio allo 0,5% e acqua deionizzata o distillata (candeggina per uso domestico diluita 1:10). Successivamente pulire la superficie con etanolo al 70%.
- In caso di fuoriuscita di liquidi sui **cobas**® 6800/8800 Systems, seguire le istruzioni contenute nel Manuale Operatore dei **cobas**® 6800/8800 Systems per pulire accuratamente e decontaminare la superficie degli strumenti.

## Raccolta, trasporto, conservazione e creazione di pool di campioni

**Nota: manipolare tutti i campioni e i controlli come se fossero in grado di trasmettere agenti infettivi.**

Conservare tutti i campioni dei donatori alle temperature indicate.

La stabilità dei campioni risente delle temperature elevate.

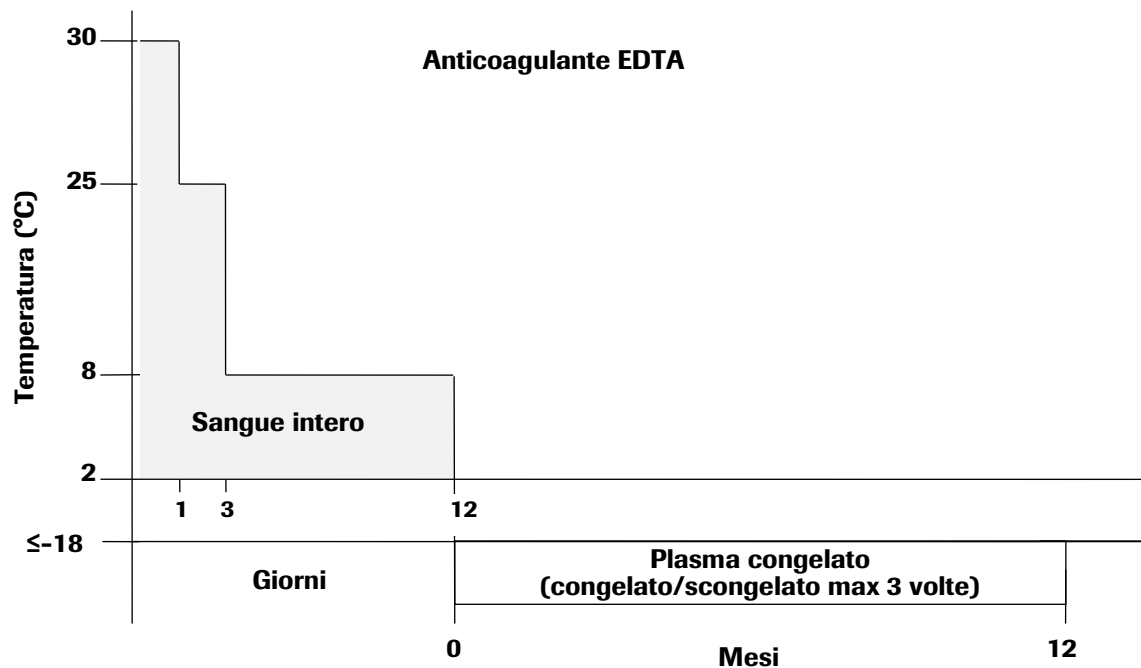
- Si raccomanda di analizzare i campioni di siero entro 8 ore dalla centrifugazione a 1600 x g per 20 minuti, oppure entro 24 ore dalla centrifugazione ad alta velocità (ad esempio, 2600 x g per 20 minuti).

## Campioni di sangue da donatori viventi

- Con il test **cobas**® MPX è possibile utilizzare il plasma raccolto in EDTA, CPD, CPDA1, CP2D e sodio citrato al 4% e il siero raccolto in provette da siero con attivatore della coagulazione. Per la manipolazione e la centrifugazione, attenersi alle istruzioni fornite dal produttore della provetta/sacca di raccolta del campione.
- Il sangue trattato con l'anticoagulante EDTA può essere conservato per un massimo di 12 giorni nelle condizioni descritte di seguito:
  - I campioni devono essere centrifugati entro e non oltre 72 ore dal prelievo.
  - A più di 8°C, i campioni possono essere conservati per 72 ore ad una temperatura massima di 25°C (e per 24 ore ad una temperatura massima di 30°C nell'arco delle 72 ore).

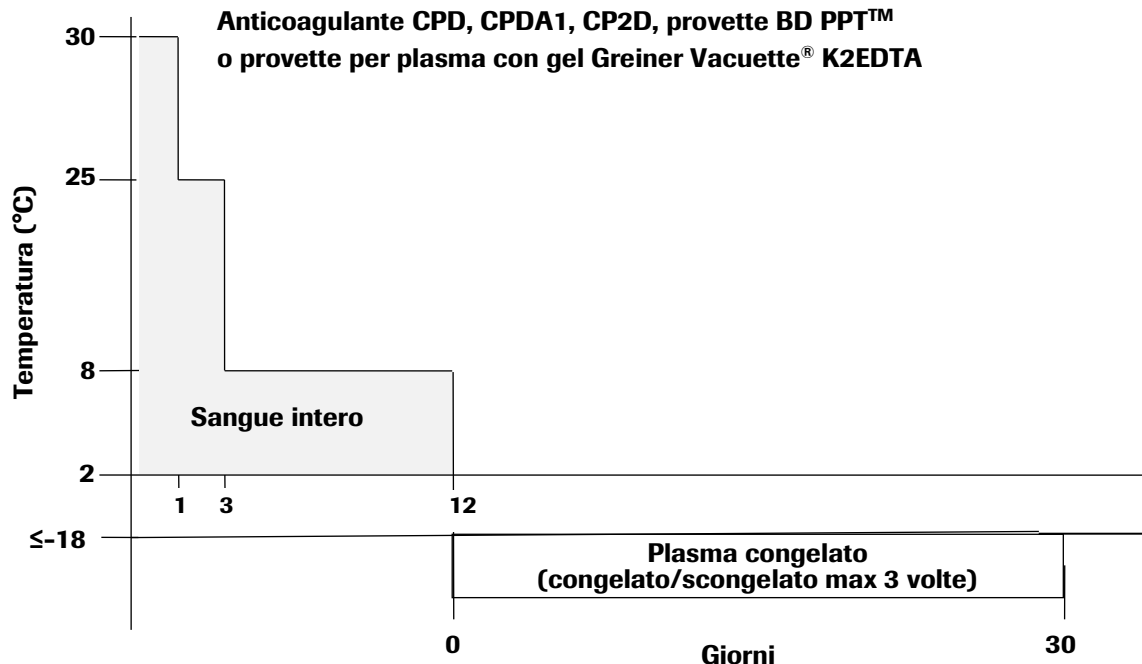
A parte nei casi sopra descritti, i campioni devono essere conservati a 2-8°C. Il plasma separato dalle cellule può inoltre essere conservato per 12 mesi a ≤-18°C con tre cicli di congelamento/scongelo. Fare riferimento alla Figura 1.

**Figura 1** Condizioni di conservazione dei campioni da donatori viventi in anticoagulante EDTA



- Il sangue raccolto con gli anticoagulanti CPD, CPDA1 o CP2D, con le provette BD PPT™ (Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes) o le provette per plasma con gel Greiner Vacuette® K2EDTA può essere conservato per un massimo di 12 giorni alle seguenti condizioni:
  - I campioni devono essere centrifugati entro e non oltre 72 ore dal prelievo.
  - A più di 8°C, i campioni possono essere conservati per 72 ore ad una temperatura massima di 25°C (e per 24 ore ad una temperatura massima di 30°C nell'arco delle 72 ore).

A parte nei casi sopra descritti, i campioni devono essere conservati a 2-8°C. Il plasma separato dalle cellule può inoltre essere conservato per 30 giorni a ≤-18°C con tre cicli di congelamento/scongelo. Vedere la Figura 2.

**Figura 2** Condizioni per la conservazione dei campioni da donatori viventi

- È possibile conservare il sangue raccolto in provette da siero per un massimo di 7 giorni a 2-8°C, nelle condizioni descritte di seguito:

- I campioni devono essere centrifugati entro e non oltre 72 ore dal prelievo.
- A più di 8°C, i campioni possono essere conservati per 72 ore ad una temperatura massima di 25°C (e per 24 ore ad una temperatura massima di 30°C nell'arco delle 72 ore).

A parte nei casi sopra descritti, i campioni devono essere conservati a 2-8°C. Il siero separato dalle cellule può inoltre essere conservato per un massimo di 30 giorni a ≤-18°C, con tre cicli di congelamento/scongelamento.

- Il plasma trattato con l'anticoagulante citrato di sodio al 4% può essere conservato per un massimo di 30 giorni a 2-8 °C nelle condizioni descritte di seguito:

- A più di 8°C, i campioni possono essere conservati per 72 ore ad una temperatura massima di 25 °C (e per 24 ore ad una temperatura massima di 30 °C nell'arco delle 72 ore).

Il plasma trattato con l'anticoagulante citrato di sodio al 4% può inoltre essere conservato fino a 12 mesi a ≤-18 °C, con un massimo di due cicli di congelamento/scongelamento, o

- Il plasma trattato con l'anticoagulante citrato di sodio al 4% può essere conservato per un massimo di 18 giorni a 2-8 °C nelle condizioni descritte di seguito:

- A più di 8°C, i campioni possono essere conservati per 72 ore ad una temperatura massima di 25 °C (e per 24 ore ad una temperatura massima di 30 °C nell'arco delle 72 ore).

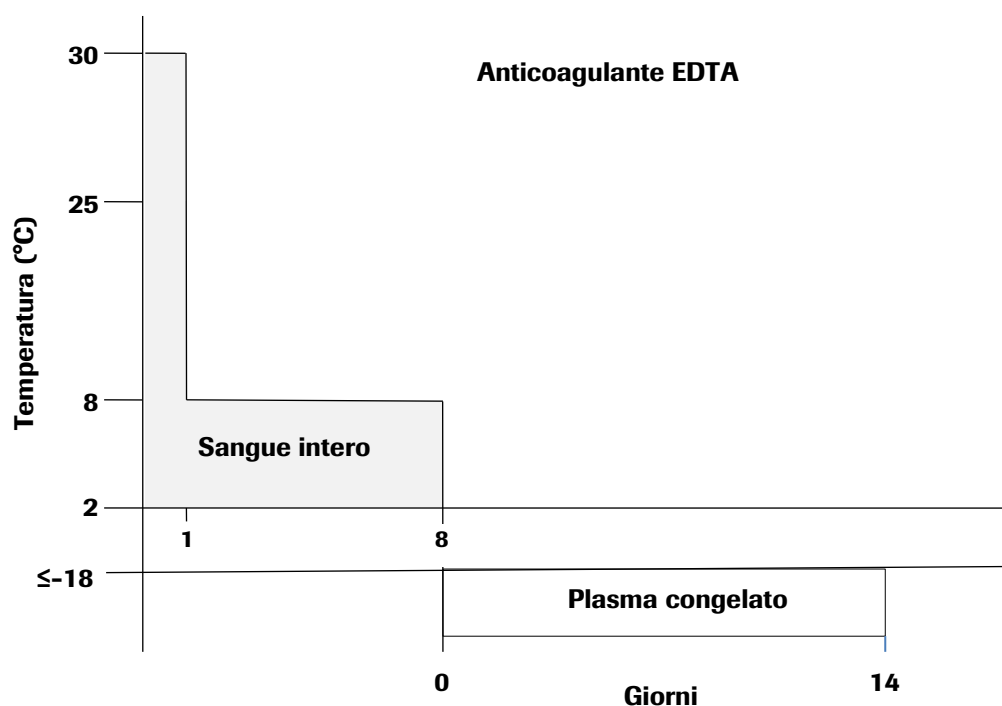
Il plasma trattato con l'anticoagulante citrato di sodio al 4% può inoltre essere conservato fino a 12 mesi a ≤-18 °C, con un massimo di tre cicli di congelamento/scongelamento.

## Campioni di sangue da donatori non viventi

- Con il test **cobas**® MPX è possibile utilizzare campioni di sangue cadaverico raccolti in provette con l'anticoagulante EDTA e/o in provette da siero. Per la manipolazione e la centrifugazione, attenersi alle istruzioni fornite dal produttore della provetta/sacca di raccolta del campione.
- Il sangue cadaverico trattato con l'anticoagulante EDTA può essere conservato per un massimo di 8 giorni a 2-8°C, nelle condizioni descritte di seguito:
  - I campioni devono essere centrifugati entro e non oltre 72 ore dal prelievo.
  - A più di 8°C, i campioni possono essere conservati ad una temperatura massima di 30°C per 24 ore nell'arco di 72 ore.

A parte nei casi sopra descritti, i campioni cadaverici di plasma EDTA separato dalle cellule possono essere conservati per un massimo di 14 giorni a  $\leq -18^{\circ}\text{C}$ . Vedere la Figura 3.

**Figura 3** Condizioni di conservazione dei campioni da donatori non viventi



- È possibile conservare i campioni di sangue cadaverico raccolto in provette da siero per un massimo di 5 giorni a 2-8°C, nelle condizioni descritte di seguito:
  - I campioni devono essere centrifugati entro e non oltre 72 ore dal prelievo.
  - A più di 8°C, i campioni possono essere conservati per 24 ore ad una temperatura massima di 30°C nell'arco di 72 ore.
- Per l'eventuale spedizione, i campioni di donatori viventi e/o non viventi devono essere imballati ed etichettati nel modo previsto dai regolamenti nazionali e/o internazionali per il trasporto di campioni e agenti eziologici.

# Istruzioni per l'uso

## Pipettamento automatico dei campioni e creazione di pool (opzionale)

È possibile utilizzare il **cobas p 680** instrument o **cobas® Synergy Core** come componente opzionale dei **cobas® 6800/8800 Systems** per il pipettamento automatico e la creazione di un pool con le aliquote di più campioni primari.

Per ulteriori informazioni, consultare il Manuale Operatore del **cobas p 680** instrument o l'Assistenza Utente del **cobas® Synergy Software**.

## Note sulla procedura

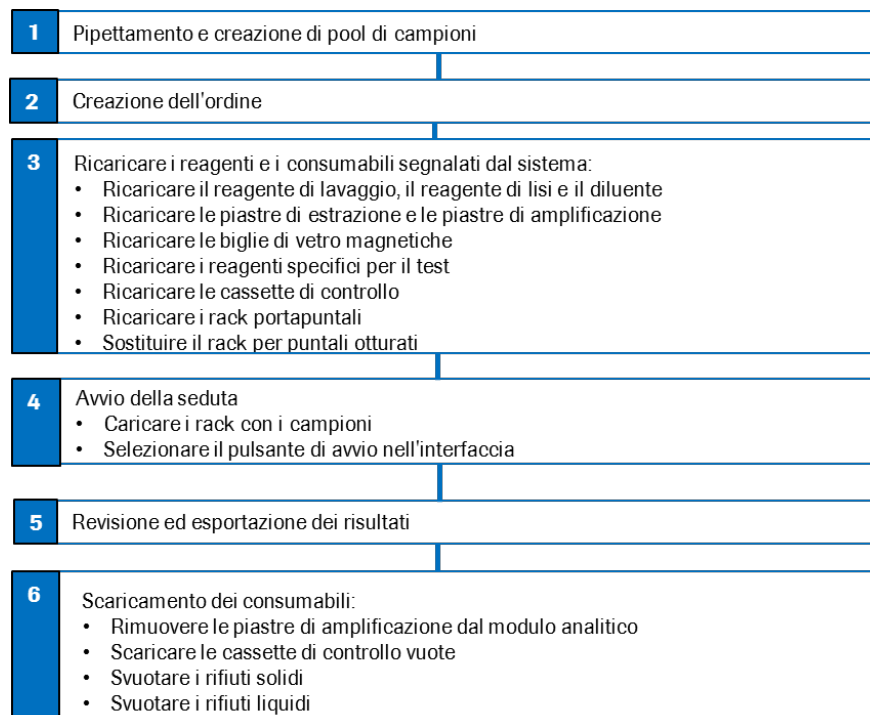
- Non utilizzare i reagenti **cobas® MPX Test**, **cobas® MPX Control Kit**, **cobas® NHP Negative Control Kit** **cobas omni** oltre la data di scadenza.
- Non riutilizzare i consumabili. Sono esclusivamente monouso.
- Per informazioni sulla corretta manutenzione degli strumenti, consultare il Manuale Operatore dei **cobas® 6800/8800 Systems**.

## Esecuzione del test cobas® MPX

La procedura di analisi è descritta dettagliatamente nel Manuale Operatore dei **cobas® 6800/8800 Systems**. Per informazioni dettagliate sulle procedure opzionali per la creazione dei pool, consultare il Manuale Operatore del **cobas p 680** instrument o l'Assistenza Utente del **cobas® Synergy Software**.

Nella Figura 4 è illustrata una sintesi della procedura.

**Figura 4** Procedura del test **cobas® MPX**



## Risultati

I cobas® 6800/8800 Systems identificano e discriminano automaticamente l'RNA di HIV, l'RNA di HCV e il DNA di HBV simultaneamente per campioni e controlli.

### Controllo di qualità e validità dei risultati

- Insieme ad ogni batch vengono analizzati un controllo negativo [(-) C] e tre controlli positivi [MPX M (+) C, MPX O (+) C e MPX 2 (+) C].
- Nel software cobas® 6800/8800 e/o nel report verificare se sono presenti flag e risultati ad essi associati per confermare la validità del batch.
- Il batch è valido se non sono presenti flag per nessuno dei quattro controlli.

I risultati vengono automaticamente considerati non validi dal software cobas® 6800/8800 in caso di fallimento del controllo negativo e dei controlli positivi.

### Flag dei controlli

**Tabella 9** Flag per i controlli positivi e negativi

Controllo negativo	Flag	Risultato	Interpretazione
(-) C	Q02	Invalid	L'intero batch è considerato non valido se il risultato del controllo (-) C non è valido.
Controllo positivo	Flag	Risultato	Interpretazione
MPX M (+) C	Q02	Invalid	L'intero batch è considerato non valido se il risultato del controllo MPX M (+) C non è valido.
MPX O (+) C	Q02	Invalid	L'intero batch è considerato non valido se il risultato del controllo MPX O (+) C non è valido.
MPX 2 (+) C	Q02	Invalid	L'intero batch è considerato non valido se il risultato del controllo MPX 2 (+) C non è valido.

Se il batch non è valido, è necessario ripetere il test sull'intero batch, compresi campioni e controlli.

## Interpretazione dei risultati

Se un batch è valido, verificare nel software **cobas**® 6800/8800 e/o nel report se sono presenti flag per ogni singolo campione. I risultati dovranno essere interpretati applicando i seguenti criteri:

- Un batch valido può includere risultati sia validi che non validi per i campioni dei donatori, a seconda di quali sono i flag associati ai singoli campioni.
- I risultati dei campioni sono validi soltanto se sono validi i controlli positivi e il controllo negativo del batch corrispondente.

Per ogni campione vengono misurati simultaneamente quattro parametri: HIV, HCV, HBV e controllo interno. I risultati finali del test **cobas**® MPX per i campioni sono visualizzati nel software. Oltre ai risultati generali, nel software **cobas**® 6800/8800 vengono visualizzati anche i risultati dei singoli target, che dovranno essere interpretati applicando i seguenti criteri:

**Tabella 10** Risultati per i singoli target e relativa interpretazione

Risultati dei target	Interpretazione
Non reattivo all'HIV	Nessun segnale rilevato per il target HIV; segnale IC rilevato.
Reattivo all'HIV	Rilevato il segnale per il target HIV; segnale IC rilevato o non rilevato.
Non reattivo all'HCV	Nessun segnale per il target HCV; segnale IC rilevato.
Reattivo all'HCV	Rilevato il segnale per il target HCV; segnale IC rilevato o non rilevato.
Non reattivo all'HBV	Nessun segnale rilevato per il target HBV; segnale IC rilevato.
Reattivo all'HBV	Rilevato il segnale per il target HBV; segnale IC rilevato o non rilevato.
Non valido	Segnali del target e IC non rilevati.

## Test di ripetizione su singolo campione

Le provette campione che generano il risultato finale Invalid per un target devono essere analizzate di nuovo, anche se hanno generato risultati validi per gli altri target.

## Limiti della procedura

- Il test **cobas**® MPX è stato valutato soltanto in combinazione con i prodotti **cobas**® MPX Control Kit, **cobas**® NHP Negative Control Kit, **cobas** **omni** MGP Reagent, **cobas** **omni** Lysis Reagent, **cobas** **omni** Specimen Diluent e **cobas** **omni** Wash Reagent per l'uso sui **cobas**® 6800/8800 Systems.
- L'affidabilità dei risultati è influenzata dal metodo di raccolta, conservazione e manipolazione dei campioni.
- Con questo test non è consentito utilizzare plasma con eparina, poiché l'eparina svolge un'azione inibitoria sulla PCR.
- L'identificazione dell'RNA di HIV-1 gruppo M, dell'RNA di HIV-1 gruppo O, dell'RNA di HIV-2, dell'RNA di HCV e del DNA di HBV dipende dal numero di particelle virali presenti nel campione e può essere influenzata dal metodo di raccolta, conservazione e manipolazione dei campioni, da fattori legati al paziente (ad esempio, età e presenza di sintomi) e/o dallo stadio dell'infezione e dalle dimensioni del pool.
- Anche se rare, le mutazioni nelle regioni altamente conservate di un genoma virale coperte dal test **cobas**® MPX possono alterare i legami dei primer e/o delle sonde e impedire l'identificazione del virus.
- A causa delle differenze intrinseche tra le tecnologie, è consigliabile che gli utenti, prima di passare da una tecnologia a un'altra, svolgano studi sulla correlazione tra i metodi nei propri laboratori allo scopo di qualificare tali differenze. Si consiglia agli utenti di elaborare norme/procedure specifiche.

# Valutazione delle prestazioni non cliniche

## Caratteristiche delle prestazioni

### Campioni di donatori viventi

#### Limite di sensibilità (LoD)

##### Standard internazionali OMS/Standard primari Roche

I limiti di sensibilità (limits of detection, LoD) del test cobas® MPX per l'RNA di HIV-1 gruppo M, l'RNA di HIV-1 gruppo O, l'RNA di HIV-2, l'RNA di HCV e il DNA di HBV sono stati calcolati utilizzando i seguenti standard:

- 3° standard internazionale dell'OMS per l'RNA di HIV-1 gruppo M (codice NIBSC10/152)
- Standard internazionale dell'OMS per l'RNA di HIV-2 (codice NIBSC 08/150)<sup>39</sup>
- Standard primari Roche per l'RNA di HIV-1 gruppo O
- 2° standard internazionale dell'OMS per l'RNA di HCV (codice NIBSC 96/798)
- 3° standard internazionale dell'OMS per il DNA di HBV (codice NIBSC 10/264)

Non sono attualmente disponibili standard internazionali per l'RNA dell'HIV-1 gruppo O. Lo standard Roche per l'RNA di HIV-1 gruppo O è tracciabile al lotto 01 del pannello di riferimento 1 dell'RNA del sottotipo HIV-1 CBER. Gli standard primari Roche per l'RNA di HIV-1 gruppo O derivano da stock virali di colture disponibili in commercio, P/N 2420 (n. cat. 500493, SeraCare Life Sciences).

Per quanto riguarda gli standard internazionali dell'OMS per l'HIV-1 gruppo M, l'HCV e l'HBV, l'HIV-2 e gli standard primari Roche per l'HIV-1 gruppo O, sono state preparate 3 serie di diluizioni indipendenti di ciascuno dei membri degli standard virali per l'HIV-1 gruppo M, l'HCV, l'HBV (co-formulati) e l'HIV-1 gruppo O e l'HIV-2 (formulati individualmente), utilizzando plasma umano normale in EDTA, negativo ai virus HIV, HBV e HCV. Ogni serie di diluizioni è stata analizzata con 3 diversi lotti di kit del test cobas® MPX circa 63 volte per lotto, per un totale di circa 189 test per ogni concentrazione. Per quanto riguarda lo standard internazionale per l'HIV-2, sono stati eseguiti 33 test per lotto da 3 diluizioni indipendenti utilizzando 3 lotti di reagenti, per un totale di 99 test per concentrazione. Per ogni virus sono state utilizzate l'analisi PROBIT al 95% (Tabella 11) e l'analisi PROBIT al 50% (Tabella 12) sui dati combinati tra le serie di diluizioni e i lotti di reagenti per stimare il limite di sensibilità (LoD) e calcolare il limite minimo e massimo degli intervalli di confidenza al 95%. Le percentuali di reattività osservate negli studi sul limite di sensibilità dedicati ad ogni virus sono sintetizzate dalla Tabella 13 alla Tabella 17.

**Tabella 11** Risultati dell'analisi PROBIT al 95% sui dati LoD raccolti con gli standard virali in siero e plasma con EDTA

<b>Matrici</b>	<b>Analita</b>	<b>Unità di misura</b>	<b>LoD</b>	<b>Limite inferiore di confidenza al 95%</b>	<b>Limite superiore di confidenza al 95%</b>
Plasma in EDTA	HIV-1 gruppo M	UI/ml	25,7	21,1	32,8
	HIV-1 gruppo O	copie/ml	8,2	7,0	10,0
	HIV-2	UI/ml	4,0	3,3	5,2
	HCV	UI/ml	7,0	5,9	8,6
	HBV	UI/ml	1,4	1,2	1,7
Siero	HIV-1 gruppo M	UI/ml	23,7	20,0	29,1
	HIV-1 gruppo O	copie/ml	12,2	10,3	14,9
	HIV-2	UI/ml	4,4	3,5	5,8
	HCV	UI/ml	8,1	6,8	10,1
	HBV	UI/ml	1,3	1,1	1,5

**Tabella 12** Risultati dell'analisi PROBIT al 50% sui dati LoD raccolti con gli standard virali in siero e plasma con EDTA

<b>Matrici</b>	<b>Analita</b>	<b>Unità di misura</b>	<b>LoD</b>	<b>Limite inferiore di confidenza al 95%</b>	<b>Limite superiore di confidenza al 95%</b>
Plasma EDTA	HIV-1 gruppo M	UI/ml	3,8	3,4	4,3
	HIV-1 gruppo O	copie/ml	1,7	1,5	1,9
	HIV-2	UI/ml	0,9	0,8	1,1
	HCV	UI/ml	1,3	1,1	1,4
	HBV	UI/ml	0,3	0,3	0,3
Siero	HIV-1 gruppo M	UI/ml	4,6	4,1	5,1
	HIV-1 gruppo O	copie/ml	2,5	2,2	2,7
	HIV-2	UI/ml	0,9	0,8	1,1
	HCV	UI/ml	1,4	1,3	1,6
	HBV	UI/ml	0,3	0,3	0,3

**Tabella 13** Riepilogo delle percentuali di reattività all'HIV-1 gruppo M in plasma in EDTA e siero

<b>Matrici</b>	<b>Concentrazione RNA HIV-1 gruppo M (UI/ml)</b>	<b>N. reattivi</b>	<b>N. ripetizioni valide</b>	<b>% reattivi</b>	<b>Limite inferiore di confidenza al 95% (monolaterale)</b>
Plasma in EDTA	30	186	188	98,9%	96,7%
	15	170	189	89,9%	85,6%
	7,5	124	189	65,6%	59,5%
	4,5	96	189	50,8%	44,6%
	1,5	50	189	26,5%	21,2%
Siero	30	186	189	98,4%	95,9%
	15	170	189	89,9%	85,6%
	7,5	123	189	65,1%	59,0%
	4,5	85	189	45,0%	38,8%
	1,5	31	189	16,4%	12,1%

**Tabella 14** Riepilogo delle percentuali di reattività all'HIV-1 gruppo O in plasma in EDTA e siero

<b>Matrici</b>	<b>Concentrazione RNA HIV-1 gruppo M (copie/ml)</b>	<b>N. reattivi</b>	<b>N. ripetizioni valide</b>	<b>% reattivi</b>	<b>Limite inferiore di confidenza al 95% (monolaterale)</b>
Plasma in EDTA	18	187	187	100,0%	98,4%
	9	181	187	96,8%	93,8%
	4,5	162	189	85,7%	80,8%
	2,7	117	189	61,9%	55,7%
	0,9	57	189	30,2%	24,7%
Siero	18	186	187	99,5%	97,5%
	9	173	188	92,0%	88,0%
	4,5	142	189	75,1%	69,4%
	2,7	79	189	41,8%	35,8%
	0,9	39	189	20,6%	15,9%

**Tabella 15** Riepilogo delle percentuali di reattività all'HIV-2 in plasma in EDTA e siero

<b>Matrici</b>	<b>Concentrazione RNA HIV-2 (UI/ml)</b>	<b>N. reattivi</b>	<b>N. ripetizioni valide</b>	<b>% reattivi</b>	<b>Limite inferiore di confidenza al 95% (monolaterale)</b>
Plasma in EDTA	10	98	98	100,0%	97,0%
	5	98	99	99,0%	95,3%
	2,5	80	98	81,6%	74,0%
	1,5	71	99	71,7%	63,3%
	0,5	26	99	26,3%	19,1%
Siero	10	98	98	100,0%	97,0%
	5	98	99	99,0%	95,3%
	2,5	81	99	81,8%	74,2%
	1,5	63	98	64,3%	55,6%
	0,5	28	98	28,6%	21,1%

**Tabella 16** Riepilogo delle percentuali di reattività all'HCV in plasma in EDTA e siero

<b>Matrici</b>	<b>Concentrazione RNA HCV (UI/ml)</b>	<b>N. reattivi</b>	<b>N. ripetizioni valide</b>	<b>% reattivi</b>	<b>Limite inferiore di confidenza al 95% (monolaterale)</b>
Plasma in EDTA	12	187	188	99,5%	97,5%
	6	178	189	94,2%	90,6%
	3	148	189	78,3%	72,8%
	1,8	112	189	59,3%	53,0%
	0,6	50	189	26,5%	21,2%
Siero	12	186	189	98,4%	95,9%
	6	173	189	91,5%	87,4%
	3	139	189	73,5%	67,7%
	1,8	112	189	59,3%	53,0%
	0,6	41	189	21,7%	16,9%

**Tabella 17** Riepilogo delle percentuali di reattività all'HBV in plasma in EDTA e siero

Matrici	Concentrazione DNA HBV (UI/ml)	N. reattivi	N. ripetizioni valide	% reattivi	Limite inferiore di confidenza al 95% (monolaterale)
Plasma in EDTA	3,40	188	188	100,0%	98,4%
	1,70	184	189	97,4%	94,5%
	0,85	165	189	87,3%	82,6%
	0,51	126	189	66,7%	60,6%
	0,17	58	189	30,7%	25,2%
Siero	3,40	189	189	100,0%	98,4%
	1,70	184	189	97,4%	94,5%
	0,85	166	189	87,8%	83,2%
	0,51	140	189	74,1%	68,3%
	0,17	52	189	27,5%	22,2%

## Riproducibilità

La riproducibilità del test **cobas**® MPX sui **cobas**® 6800/8800 Systems è stata calcolata utilizzando i seguenti standard:

- Standard secondari Roche per HIV-1 gruppo M, HCV e HBV
- Standard primari Roche per HIV-1 gruppo O e HIV-2

Lo studio consisteva nell'analizzare 3 pannelli costituiti dai membri di HIV-1 gruppo M, HCV e HBV (co-formulati) e di HIV-1 gruppo O e HIV-2 (formulati individualmente), a concentrazioni pari a circa 0,5x, 1x e 2x il valore LoD del test **cobas**® MPX per ogni virus. Sono stati eseguiti i test per le seguenti componenti di variabilità:

- variabilità tra giorni (su 3 giorni)
- variabilità tra lotti (con 3 diversi lotti di reagenti del test **cobas**® MPX)
- variabilità tra strumenti (con 3 diversi **cobas**® 8800 Systems)

Con ognuno dei 3 pannelli sono stati effettuati circa 21 test, per un totale di 63 test con ogni lotto di reagenti. Tutti i dati validi sulla riproducibilità sono stati valutati calcolando la percentuale di risultati reattivi ai test per ogni livello di concentrazione e tenendo conto di tutte le componenti variabili.

I limiti degli intervalli di confidenza al 95% bilaterali per ogni percentuale di reattività sono stati calcolati per ognuno dei tre livelli di HIV-1 gruppo M, HIV-1 gruppo O, HIV-2, HCV e HBV che sono stati analizzati su 3 giorni, con 3 lotti di reagenti e 3 diversi **cobas**® 8800 Systems. Il test **cobas**® MPX è riproducibile su più giorni, lotti di reagenti e strumenti. I risultati riguardanti la variabilità tra lotti di reagenti sono sintetizzati nella Tabella 18.

**Tabella 18** Riepilogo della riproducibilità tra lotti di reagenti per il test cobas® MPX

<b>Analita</b>	<b>Concentrazione</b>	<b>Lotto di reagenti</b>	<b>% reattivi (test reattivi/validi)</b>	<b>Limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95%</b>	<b>Limite superiore dell'intervallo di confidenza al 95%</b>
HIV-1 gruppo M	2 x LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 x LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	0,5 x LoD	1	85,7% (54/63)	74,6%	93,3%
		2	95,2% (60/63)	86,7%	99,0%
		3	92,1% (58/63)	82,4%	97,4%
HIV-1 gruppo O	2 x LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 x LoD	1	92,1% (58/63)	82,4%	97,4%
		2	93,7% (59/63)	84,5%	98,2%
		3	93,7% (59/63)	84,5%	98,2%
	0,5 x LoD	1	74,6% (47/63)	62,1%	84,7%
		2	76,2% (48/63)	63,8%	86,0%
		3	74,6% (47/63)	62,1%	84,7%

<b>Analita</b>	<b>Concentrazione</b>	<b>Lotto di reagenti</b>	<b>% reattivi (test reattivi/validi)</b>	<b>Limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95%</b>	<b>Limite superiore dell'intervallo di confidenza al 95%</b>
HIV-2	2 x LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
	1 x LoD	1	82,5% (52/63)	70,9%	90,9%
		2	93,7% (59/63)	84,5%	98,2%
		3	87,3% (55/63)	76,5%	94,4%
	0,5 x LoD	1	74,6% (47/63)	62,1%	84,7%
		2	71,4% (45/63)	58,7%	82,1%
		3	73,0% (46/63)	60,3%	83,4%
HCV	2 x LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 x LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
	0,5 x LoD	1	77,8% (49/63)	65,5%	87,3%
		2	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
		3	93,7% (59/63)	84,5%	98,2%
HBV	2 x LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 x LoD	1	90,5% (57/63)	80,4%	96,4%
		2	90,5% (57/63)	80,4%	96,4%
		3	93,7% (59/63)	84,5%	98,2%
	0,5 x LoD	1	84,1% (53/63)	72,7%	92,1%
		2	76,2% (48/63)	63,8%	86,0%
		3	77,8% (49/63)	65,5%	87,3%

## Verifica del genotipo

Allo scopo di definire le prestazioni del test **cobas**® MPX con riferimento all'identificazione dei sottotipi per l'HIV-1 gruppo M (A-H, J, K, BF, BG) e forme ricombinanti circolanti (CRF01\_AE e CRF02\_AG), dell'HIV-1 gruppo O, dell'HIV-1 gruppo N e con riferimento all'identificazione dei sottotipi per l'HIV-2 (A e B), dei genotipi per l'HCV (1-6) e per l'HBV (A-H e mutante pre-core), sono stati analizzati campioni clinici univoci e/o colture per ognuno dei sottotipi e genotipi elencati dalla Tabella 19 alla Tabella 23.

### HIV-1 gruppo M

In totale 115 campioni clinici univoci di HIV-1 gruppo M con sottotipo HIV-1 noto sono stati analizzati con il test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 per quantificare le concentrazioni di HIV-1. Tutti i 115 campioni sono stati prima diluiti con plasma umano in EDTA normale, negativo ai virus (HIV, HCV e HBV) fino a 5 volte il valore LoD del test **cobas**® MPX. Di questi, 102 campioni sono stati analizzati anche in forma non diluita. Tutti i 115 campioni clinici con sottotipi noti sono stati identificati sia in forma non diluita sia in forma diluita 5 x LoD (Tabella 19).

**Tabella 19** Campioni clinici di HIV-1 gruppo M

Sottotipo	% reattivi (n. reattivi/n. campioni analizzati) non diluiti	% reattivi (n. reattivi/n. campioni analizzati) diluiti a 5 x LoD
A	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
CRF01_AE	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
CRF02_AG	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
B	100,0% (11/11)	100,0% (11/11)
C	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
D	100,0% (11/11)	100,0% (11/11)
F	100,0% (10/10)	100,0% (10/10)
G	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
H	100,0% (10/10)	100,0% (10/10)
BF	non analizzato*	100% (3/3)
BG	non analizzato*	100% (4/4)
J	non analizzato*	100% (2/2)
K	non analizzato*	100% (4/4)

\*Volume insufficiente per eseguire il test senza diluizione

## HIV-1 gruppo O e HIV-1 gruppo N

In totale sono stati analizzati 7 isolati da coltura di HIV-1 gruppo O e 2 isolati da coltura di HIV-1 gruppo N dopo la preparazione di diluizioni logaritmiche con plasma umano in EDTA normale, negativo ai virus (HIV, HCV e HBV). Per quanto riguarda gli isolati di HIV-1 gruppo O, in totale sono stati eseguiti 28 test sui 7 isolati, con 4 ripetizioni per ogni diluizione. Per quanto riguarda gli isolati di HIV-1 gruppo N, sono stati analizzati due isolati. Complessivamente sono stati eseguiti 4 test per ogni isolato dalla diluizione 1:1.00E+02 a 1:1.00E+03 e 1 test per il secondo isolato con diluizione 1:1.00E+04. Gli isolati da coltura di HIV-1 gruppo O sono stati identificati fino al livello di diluizione 1:1.00E+07 e gli isolati da coltura del gruppo N sono stati identificati fino al livello di diluizione 1:1.00E+04 (Tabella 20).

**Tabella 20** Isolati da coltura di HIV-1 gruppo O e HIV-1 gruppo N

Diluizione del campione	% reattivi (n. reattivi/n. ripetizioni valide analizzate)	
	HIV-1 gruppo O	HIV-1 gruppo N
1:1.00E+02	100,0% (28/28)	100,0% (4/4)
1:1.00E+03	100,0% (28/28)	100,0% (4/4)
1:1.00E+04	89,3% (25/28)	20% (1/5)
1:1.00E+05	71,4% (20/28)	0,0% (0/4)
1:1.00E+06	71,4% (20/28)	0,0% (0/4)
1:1.00E+07	71,4% (20/28)	0,0% (0/4)

**HIV-2**

In totale 5 isolati da coltura di HIV-2 sottotipo A (4) e B (1) sono stati analizzati dopo la preparazione di diluizioni logaritmiche con plasma umano in EDTA normale, negativo ai virus (HIV, HCV e HBV). Per quanto riguarda il sottotipo A, sono stati eseguiti in totale 16 test per 4 isolati per ogni diluizione. Per quanto riguarda 1 isolato del sottotipo B, sono stati eseguiti in totale 4 test per ogni diluizione. In totale 11 campioni clinici di HIV-2 sottotipo A (5) e B (6) sono stati analizzati anche dopo la preparazione di diluizioni logaritmiche con plasma umano in EDTA normale, negativo ai virus. Per il sottotipo A, sono stati eseguiti in totale 20 test per 5 campioni clinici; per il sottotipo B, sono stati eseguiti in totale 24 test per 6 campioni clinici, con 4 ripetizioni per ogni diluizione. Tutti gli isolati da coltura sono stati identificati dal test cobas® MPX. I campioni clinici sono stati identificati dal test cobas® MPX fino a livelli di diluizione 1:1.00E+03 per i sottotipi A e B. I risultati totali sono sintetizzati nella Tabella 21.

**Tabella 21** Isolati da coltura e campioni clinici di HIV-2

Diluizione del campione	% reattivi (n. reattivi/n. ripetizioni valide analizzate)			
	Isolato da coltura		Campione clinico	
	Sottotipo A	Sottotipo B	Sottotipo A	Sottotipo B
1:1.00E+02	100,0% (16/16)	100,0% (4/4)	100,0% (20/20)	100,0% (24/24)
1:1.00E+03	100,0% (16/16)	100,0% (4/4)	65,0% (13/20)	50,0% (12/24)
1:1.00E+04	100,0% (15/15)	100,0% (4/4)	25,0% (5/20)	0,0% (0/24)
1:1.00E+05	100,0% (16/16)	100,0% (4/4)	5,0% (1/20)	0,0% (0/24)
1:1.00E+06	100,0% (16/16)	100,0% (4/4)	0,0% (0/20)	0,0% (0/24)
1:1.00E+07	81,2% (13/16)	0% (0/4)	0,0% (0/20)	0,0% (0/24)

**HCV**

In totale 96 campioni clinici univoci di HCV con genotipo HCV noto sono stati analizzati con il test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV v2.0 per quantificare le concentrazioni di HCV. Tutti i 96 campioni clinici di HCV con genotipi noti sono stati prima diluiti con plasma umano in EDTA normale, negativo ai virus (HIV, HCV e HBV) fino a 5 volte il valore LoD del test **cobas**® MPX. Di questi, 95 campioni sono stati analizzati anche in forma non diluita. Tutti i campioni sono stati analizzati una sola volta. Tutti i 96 campioni clinici positivi all'HCV sono stati identificati sia in forma non diluita che in forma diluita, come sintetizzato nella Tabella 22.

**Tabella 22** Campioni clinici di HCV

<b>Genotipo</b>	<b>% reattivi (n. reattivi/n. campioni analizzati) non diluiti</b>	<b>% reattivi (n. reattivi/n. campioni analizzati) diluiti a 5 x LoD</b>
1a	100,0% (9/9)	100,0% (9/9)
1b	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
1	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
2b	100,0% (1/1)	100,0% (1/1)
2	100,0% (13/13)	100,0% (13/13)
3a	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
3	100,0% (1/1)	100,0% (1/1)
4	100,0% (13/13)	100,0% (13/13)
5a	100,0% (10/10)	100,0% (10/10)
5	100,0% (2/2)	100,0% (2/2)
6	100,0% (10/10)	100,0% (11/11)

**HBV**

In totale 94 campioni clinici univoci di HBV con genotipo HBV noto e mutanti pre-core sono stati analizzati con il test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV per quantificare le concentrazioni di HBV. Tutti i 94 campioni clinici di HBV con genotipi noti sono stati analizzati sia in forma non diluita, sia dopo essere stati diluiti con plasma umano in EDTA normale, negativo ai virus (HIV, HCV e HBV) fino a 5 volte il valore LoD del test **cobas®** MPX. Tutti i campioni sono stati analizzati una sola volta. Tutti i 94 campioni clinici positivi all'HBV sono stati identificati sia in forma non diluita che in forma diluita, come sintetizzato nella Tabella 23.

**Tabella 23** Campioni clinici di HBV

<b>Genotipo</b>	<b>% reattivi (n. reattivi/n. campioni analizzati) non diluiti</b>	<b>% reattivi (n. reattivi/n. campioni analizzati) diluiti a 5 x LoD</b>
A	100,0% (15/15)	100,0% (15/15)
B	100,0% (12/12)	100,0% (11/11)
C	100,0% (10/10)	100,0% (9/9)
D	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
E	100,0% (12/12)	100,0% (11/11)
F	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
G	non analizzato*	100% (1/1)
H	100,0% (8/8)	100,0% (8/8)
Mutante pre-core	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)

\*Volume insufficiente per eseguire il test senza diluizione

## Pannelli di sieroconversione

Le prestazioni del test **cobas**® MPX sono state valutate utilizzando pannelli di sieroconversione disponibili in commercio per l'HIV-1 gruppo M, l'HCV e l'HBV. I risultati ottenuti con il test **cobas**® MPX sono stati confrontati con i risultati ottenuti per gli stessi pannelli utilizzando il test **cobas**® TaqScreen MPX, con certificazione FDA, sul sistema **cobas s 201**. È stato inoltre effettuato un confronto tra il test **cobas**® MPX e alcuni test sierologici con certificazione CE-IVD e FDA disponibili per i singoli target.

### Pannelli di sieroconversione per l'HIV-1 gruppo M

Sono stati utilizzati dieci pannelli di sieroconversione disponibili in commercio. Ogni membro del pannello è stato analizzato sia in forma non diluita, sia in forma diluita 1:6 e 1:96, in modo da simulare le analisi in pool con i test **cobas**® MPX e **cobas**® TaqScreen MPX. I risultati ottenuti dal test **cobas**® MPX sono stati confrontati con i risultati ottenuti dal test **cobas**® TaqScreen MPX e da alcuni test sierologici per l'HIV con certificazione CE-IVD e FDA che sono stati eseguiti senza diluizione. I risultati complessivi delle prestazioni sono sintetizzati nella Tabella 24.

**Tabella 24** Prestazioni del test **cobas**® MPX con i pannelli di sieroconversione dell'HIV

Pannelli di sieroconversione dell'HIV	N. di giorni di anticipo rispetto all'identificazione dell'anticorpo/antigene anti-HIV o dell'RNA di HIV								
	Abbott ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo: Non diluito			Abbott PRISM HIV Ag/Ab Combo: Non diluito			Test cobas® TaqScreen MPX: Non diluito, 1:6, 1:96		
	N. di giorni di anticipo con cobas® MPX								
	Non diluito	1:6	1:96	Non diluito	1:6	1:96	Non diluito	1:6	1:96
1	3	3	3	3	3	3	0	0	0
2	7	2	2	12	7	7	5	0	0
3	7	5	5	7	5	5	2	0	0
4	15	15	8	15	15	8	0	0	0
5	7	7	7	7	7	7	0	0	2
6	10	3	3	10	3	3	2	0	0
7	9	9	7	9	9	7	0	0	0
8	11	11	9	11	11	9	0	0	0
9	2	2	2	2	2	2	0	0	0
10	7	7	7	7	7	7	0	0	2
Minimo	2	2	2	2	2	2	0	0	0
Medio	7,8	6,4	5,3	8,3	6,9	5,8	0,9	0	0,4
Massimo	15	15	15	15	15	9	5	0	2

## Pannelli di sieroconversione per l'HCV

Sono stati utilizzati dieci pannelli di sieroconversione disponibili in commercio. Ogni membro del pannello è stato analizzato sia in forma non diluita, sia in forma diluita 1:6 e 1:96, in modo da simulare le analisi in pool con i test **cobas®** MPX e **cobas®** TaqScreen MPX. I risultati ottenuti dal test **cobas®** MPX sono stati confrontati con i risultati ottenuti dal test **cobas®** TaqScreen MPX e alcuni test sierologici per l'HCV con certificazione CE-IVD e FDA che sono stati eseguiti senza diluizione. I risultati complessivi delle prestazioni sono sintetizzati nella Tabella 25.

**Tabella 25** Prestazioni del test **cobas®** MPX con i pannelli di sieroconversione dell'HCV

Pannelli di sieroconversione per l'HCV	N. di giorni di anticipo rispetto all'identificazione dell'anticorpo/antigene anti-HCV o dell'RNA di HCV								
	ORTHO HCV Version 3.0 ELISA Test System: Non diluito			Abbott PRISM HCV: Non diluito			Test cobas® TaqScreen MPX: Non diluito, 1:6, 1:96		
	N. di giorni di anticipo con cobas® MPX								
	Non diluito	1:6	1:96	Non diluito	1:6	1:96	Non diluito	1:6	1:96
1	13	13	13	13	13	13	0	0	0
2	23	23	23	23	23	23	0	0	0
3	33	33	33	33	33	33	-6	0	0
4	32	32	32	32	32	32	0	0	0
5	38	38	38	38	38	38	-24**	0	0
6	34	34	34	34	34	34	0	0	0
7*	11	11	11	11	11	11	0	0	0
8	65	65	65	65	65	65	0	0	0
9*	13	13	13	16	16	16	0	0	0
10*	21	21	21	21	21	21	0	0	0
Minimo	13	13	13	13	13	13	-24	0	0
Media con esclusioni*	34	34	34	34	34	34	-3	0	0
Massimo	65	65	65	65	65	65	0	0	0

\* I pannelli che erano risultati costantemente reattivi al test **cobas®** MPX, a partire dal primo prelievo, sono stati esclusi dal calcolo riepilogativo per determinare il numero minimo, medio e massimo di giorni di anticipo rispetto all'identificazione dell'anticorpo anti-HCV.

\*\* Intervallo di 24 giorni tra prelievi consecutivi.

## Pannelli di sieroconversione per l'HBV

Sono stati utilizzati dieci pannelli di sieroconversione disponibili in commercio. Ogni membro del pannello è stato analizzato sia in forma non diluita, sia in forma diluita 1:6 e 1:96, in modo da simulare le analisi in pool con i test **cobas®** MPX e **cobas®** TaqScreen MPX. I risultati ottenuti dal test **cobas®** MPX sono stati confrontati con i risultati ottenuti dal test **cobas®** TaqScreen MPX e da alcuni test sierologici per l'HBV con certificazione CE-IVD e FDA che sono stati eseguiti senza diluizione. I risultati complessivi delle prestazioni sono sintetizzati nella Tabella 26.

**Tabella 26** Prestazioni del test **cobas®** MPX con i pannelli di sieroconversione dell'HBV

Pannelli di sieroconversione per l'HBV	N. di giorni di anticipo rispetto all'identificazione dell'HBsAg o del DNA dell'HBV								
	ORTHO HBSAg ELISA Test System 3: Non diluito			Abbott PRISM HBsAg: Non diluito			Test cobas® TaqScreen MPX: Non diluito, 1:6, 1:96		
	N. di giorni di anticipo con cobas® MPX								
	Non diluito	1:6	1:96	Non diluito	1:6	1:96	Non diluito	1:6	1:96
1	36	19	7	29	12	0	17	0	0
2	19	11	7	8	0	-4*	0	-3	0
3	24	24	0	24	24	0	-7	7	0
4	17	17	0	0	0	-17*	0	0	0
5	30	30	9	28	28	7	0	0	7
6	28	28	17	18	18	7	-8	4	10
7	16	13	5	11	8	0	9	0	5
8	30	28	14	0	-2*	-16*	2	12	0
9	24	24	13	17	17	6	0	2	6
10	38	42	27	29	33	18	-4	15	3
Minimo	16	11	0	0	-2	-17	-8	-3	0
Medio	26,2	23,6	9,9	16,4	13,8	0,1	0,9	3,7	3,1
Massimo	38	42	27	29	33	18	17	15	10

\* Nei membri diluiti del pannello erano presenti basse concentrazioni di DNA di HBV, che il test **cobas®** MPX ha rilevato più tardi rispetto ai test sierologici; 0,6 UI/ml nel Pannello 2 a 1:96, 2,0 UI/ml nel Pannello 4 a 1:96 (più un risultato sierologico campione/controllo inusualmente anticipato ma basso), nessuna rilevazione nel Pannello 8 a 1:6 e 0,5 UI/ml nel Pannello 8 a 1:96, nel prelievo che mostra la conversione NAT nel test **cobas®** MPX, utilizzando la quantificazione NAT alternativa.

## Specificità analitica

La specificità analitica del test **cobas**® MPX è stata valutata con riferimento alla reattività crociata con 25 microrganismi ad una concentrazione di 10<sup>6</sup> particelle, copie o PFU/ml, inclusi 18 isolati virali, 6 ceppi batterici e 1 isolato di lievito (Tabella 27).

I microrganismi sono stati aggiunti a plasma umano normale in EDTA, negativo ai virus HIV, HCV e HBV. I test sono stati eseguiti con e senza l'aggiunta dei virus HIV-1 gruppo M, HCV, HBV (co-formulati) e HIV-1 gruppo O e HIV-2, ad una concentrazione approssimativa di 3 x LoD del test **cobas**® MPX per ogni virus. I microrganismi analizzati non hanno causato reazioni crociate con il test **cobas**® MPX.

**Tabella 27** Microrganismi analizzati ai fini della specificità analitica

<b>Virus</b>	<b>Flavivirus</b>	<b>Batteri</b>	<b>Lieviti</b>
Adenovirus 5	West Nile Virus	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovirus	Dengue Virus type 1	<i>Propionibacterium acnes</i>	
Epstein-Barr Virus	Usutu Virus	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Herpes Simplex Virus type 1		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
Herpes Simplex Virus type 2		<i>Streptococcus viridans</i>	
Hepatitis A Virus		<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
Hepatitis E Virus			
Hepatitis G Virus			
Human T-cell lymphotropic Virus type I			
Human T-cell lymphotropic Virus type II			
Human Herpes Virus 6			
Influenza Virus A			
Parvovirus B19			
Chikungunya Virus			
Varicella Zoster Virus			

I campioni di plasma provenienti da vari stati patologici (Tabella 28) sono stati analizzati con e senza l'aggiunta dei virus HIV-1 gruppo M, HCV, HBV (co-formulati) e HIV-1 gruppo O e HIV-2, ad una concentrazione approssimativa di 3 x LoD del test **cobas**® MPX per ogni virus. Questi stati patologici non hanno causato reazioni crociate o interferenze con il test **cobas**® MPX.

**Tabella 28** Campioni degli stati patologici analizzati ai fini della specificità analitica

<b>Stato patologico</b>		
Adenovirus type 5	Herpes Simplex Virus type1	Human T-cell lymphotropic Virus type I
Cytomegalovirus	Herpes Simplex Virus type 2	Human T-cell lymphotropic Virus type II
Dengue Virus	Hepatitis A Virus	Parvovirus B19
Epstein-Barr Virus	Hepatitis E Virus	West Nile Virus

## Specificità analitica e sostanze interferenti

### Sostanze interferenti di tipo endogeno

Campioni di plasma contenenti livelli patologicamente elevati di trigliceridi (fino a 33,2 g/l), emoglobina (fino a 2 g/l), bilirubina non coniugata (fino a 0,236 g/l), albumina (fino a 60 g/l) e DNA umano (fino a 0,002 g/l) sono stati analizzati con e senza l'aggiunta dei virus HIV-1 gruppo M, HCV, HBV (co-formulati), HIV-1 gruppo O e HIV-2 ad una concentrazione 3 x LoD del test **cobas**® MPX. Queste sostanze endogene non hanno interferito con la sensibilità e la specificità del test **cobas**® MPX.

### Sostanze interferenti di tipo esogeno

Campioni di plasma umano in EDTA normale e negativo ai virus HIV, HCV e HBV, contenenti concentrazioni eccezionalmente elevate di principi attivi (Tabella 29), sono stati analizzati con e senza l'aggiunta dei virus HIV-1 gruppo M, HCV, HBV (co-formulati), HIV-1 gruppo O e HIV-2 ad una concentrazione 3 x LoD del test **cobas**® MPX per ogni virus. Queste sostanze esogene non hanno interferito con la sensibilità e la specificità del test **cobas**® MPX.

**Tabella 29** Campioni clinici analizzati con vari principi attivi

Nome del principio attivo	Concentrazione
Acetaminofene (paracetamolo)	1324 µmol/l
Acido acetilsalicilico (aspirina)	3620 µmol/l
Acido ascorbico (vitamina C)	342 µmol/l
Atorvastatina	600 µg Eq/l
Fluoxetina	11,2 µmol/l
Ibuprofene	2425 µmol/l
Loratadina	0,78 µmol/l
Nadololo	3,88 µmol/l
Naprossene	2170 µmol/l
Paroxetina	3,04 µmol/l
Fenilefrina Cloridrato	491 µmol/l
Sertralina	1,96 µmol/l

## Correlazione

### Valutazione delle prestazioni del test cobas® MPX rispetto al test cobas® TaqScreen MPX v2.0

Le prestazioni del test cobas® MPX e del test cobas® TaqScreen MPX v2.0 sono state messe a confronto utilizzando 100 campioni individuali di plasma, sieropositivi all'HIV-1 gruppo M, altri 100 sieropositivi all'HCV e altri 100 sieropositivi all'HBV. I test sono stati eseguiti sui campioni non diluiti e diluiti 1:6. Per quanto riguarda l'HIV-2, sono stati analizzati 48 campioni sieropositivi in forma non diluita e 99 campioni diluiti 1:6; per quanto riguarda l'HIV-1 gruppo O, sono stati analizzati 13 campioni sieropositivi diluiti 1:6. Sono stati inoltre analizzati 103 campioni di plasma sieronegativi non diluiti con entrambi i metodi.

I campioni sieronegativi hanno evidenziato una specificità del 100%, generando 103 risultati non reattivi su 103 totali con entrambi i metodi.

Per quanto riguarda i campioni positivi all'HIV-1 gruppo M, all'HIV-1 gruppo O, all'HIV-2, all'HCV e all'HBV, i due metodi hanno prodotto risultati concordanti in base al test di McNemar, a dimostrazione del fatto che le prestazioni del test cobas® MPX e del test cobas® TaqScreen MPX v2.0 sono equivalenti (Tabella 30 e Tabella 31).

**Tabella 30** Correlazione dei campioni sieropositivi (non diluiti)

Metodi		Risultati dei singoli target virali			
Test cobas® TaqScreen MPX v2.0	cobas® MPX	HIV-1 gruppo M	HBV	HCV	HIV-2
Non reattivi	Non reattivi	0	0	0	4
Reattivi	Non reattivi	0	0	0	4*
Non reattivi	Reattivi	0	0	0	7
Reattivi	Reattivi	100	100	100	33
Totale		100	100	100	48
Test di McNemar, valore p (bilaterale, $\alpha = 0,05$ )		1,0	1,0	1,0	0,55

\* Quattro campioni discordanti, che erano risultati non reattivi al test cobas® MPX in forma non diluita, avevano titoli inferiori al limite di quantificazione (<100 copie/ml) del test HIV-2 Quant PCR (Hopital Bichat-Claude Bernard) e hanno prodotto risultati non reattivi con entrambi i test in forma diluita 1:6.

**Tabella 31** Correlazione dei campioni sieropositivi (diluizione 1:6)

Metodi		Risultati dei singoli target virali				
Test cobas® TaqScreen MPX v2.0	cobas® MPX	HIV-1 M	HBV	HCV	HIV-2	HIV-1 O
Non reattivi	Non reattivi	0	0	0	39	0
Reattivi	Non reattivi	0	0	0	6*	0
Non reattivi	Reattivi	0	0	0	8	0
Reattivi	Reattivi	100	100	100	46	13
Totale		100	100	100	99	13
Test di McNemar, valore p (bilaterale, $\alpha = 0,05$ )		1,0	1,0	1,0	0,79	1,0

\* Sei campioni discordanti hanno generato risultati non reattivi al test **cobas**® MPX. Tre di questi sei campioni discordanti, che erano risultati non reattivi al test **cobas**® MPX in forma diluita 1:6, avevano titoli inferiori al limite di quantificazione (<100 copie/ml) del test HIV-2 Quant PCR (Hopital Bichat-Claude Bernard). Gli altri 3 campioni avevano anch'essi titoli bassi (27,7 UI/ml, al di sotto del livello di quantificazione per HIV-2 RNA LDT e 150 copie/ml per il test HIV-2 Quant PCR) e, in forma non diluita, hanno generato risultati reattivi con entrambi i test.

## Tasso globale d'errore del sistema

Il tasso globale d'errore del sistema per il test **cobas**® MPX è stato calcolato ripetendo 100 test su campioni di plasma in EDTA arricchiti con uno tra i virus HIV-1 gruppo M, HCV, HBV (co-formulati), HIV-1 gruppo O e HIV-2, per un totale di 300 test. I campioni sono stati analizzati ad una concentrazione del target approssimativamente 3 x LoD e in pool costituiti da 1 solo campione (non diluito). Per questo studio sono stati utilizzati il **cobas**® 8800 System e il **cobas p 680** instrument (pipettamento e creazione di pool).

Lo studio dimostra che tutte le ripetizioni dei test hanno prodotto risultati reattivi al target specifico, pertanto il tasso globale d'errore del sistema è pari allo 0%. L'intervallo di confidenza esatto al 95% bilaterale è pari allo 0% per il limite inferiore e all'1,22% per il limite superiore [0%:1,22%].

## Contaminazione crociata

Il tasso di contaminazione crociata per il test **cobas**® MPX è stato calcolato eseguendo 240 test su un campione di plasma umano normale in EDTA, negativo ai virus HIV, HCV e HBV ed eseguendo 220 test su un campione con alto titolo di HBV ad un concentrazione di 1.00E+08 UI/ml. Lo studio è stato eseguito con il **cobas**® 8800 System. Complessivamente sono state eseguite 5 sedute con campioni positivi e negativi in una configurazione a scacchiera.

Tutte le 240 repliche del campione negativo sono risultate non reattive, pertanto il tasso di contaminazione crociata è dello 0%. L'intervallo di confidenza esatto al 95% bilaterale è pari allo 0% per il limite inferiore e all'1,53% per il limite superiore [0%: 1,53%].

## Campioni cadaverici

### Sensibilità

Per valutare la sensibilità del test **cobas**® MPX rispetto all'RNA dell'HIV-1 gruppo M, l'RNA dell'HIV-1 gruppo O, l'RNA dell'HIV-2, l'RNA dell'HCV e il DNA dell'HBV sono stati analizzati in totale 60 campioni cadaverici singoli negativi ai virus, di cui 35 campioni singoli classificati come moderatamente emolizzati (colore da paglierino a rosa) e 25 campioni singoli classificati come altamente emolizzati (colore da rosso a marrone). Inoltre sono stati analizzati altri 60 campioni da donatori viventi negativi ai virus. Tutti i campioni ottenuti dai donatori viventi e non viventi sono stati suddivisi in modo esatto tra 3 lotti di reagenti e 5 gruppi di spiking di campioni clinici (per HIV-1 M, HCV e HBV) con 12 campioni per gruppo. Ogni campione di donatore vivente e non vivente è stato arricchito con una co-formulazione di tre campioni clinici unici (HIV-1 gruppo M, HCV e HBV) o con gli standard primari Roche (HIV-1 gruppo O e HIV-2 formulati individualmente) a circa 5 x LoD dei rispettivi tipi di campioni. Ogni campione cadaverico è stato diluito a 1:5,6 con **cobas omni** Specimen Diluent sullo strumento, quindi è stato analizzato con la procedura prevista per i test sui campioni cadaverici.

In tutti i campioni di donatori viventi e non viventi è stato riscontrato un tasso di reattività del 100% (intervallo di confidenza al 95%: 94,0 – 100%). La sensibilità clinica osservata nei campioni cadaverici è risultata equivalente alla sensibilità osservata nei campioni di donatori viventi, calcolata con il metodo esatto di Fisher e sintetizzata nella Tabella 32.

**Tabella 32** Sintesi del tasso di reattività nei campioni di plasma in EDTA da donatori viventi e non viventi

Analita	Campioni di donatori non viventi	Campioni di donatori viventi
	% reattivi (numero di campioni reattivi/ numero di campioni analizzati)	% reattivi (numero di campioni reattivi/ numero di campioni analizzati)
HIV-1 gruppo M	100% (60/60)	100% (60/60)
HIV-1 gruppo O	100% (60/60)	100% (60/60)
HIV-2	100% (60/60)	100% (60/60)
HCV	100% (60/60)	100% (60/60)
HBV	100% (60/60)	100% (60/60)
Metodo esatto di Fisher, valore p ( $\alpha = 0,05$ )	Nessuna differenza significativa nei tassi di reattività ( $p = 1,000$ )	

## Specificità

Per definire la specificità del test **cobas**® MPX con i campioni cadaverici di plasma in EDTA e di siero, è stato effettuato un confronto rispetto alla specificità con i campioni dei donatori viventi. A tal fine, sono state analizzate singole repliche di 60 campioni cadaverici di plasma in EDTA, di cui 37 campioni individuali classificati come moderatamente emolizzati (colore da paglierino a rosa) e 23 campioni individuali classificati come altamente emolizzati (colore da rosso a marrone); 61 campioni cadaverici individuali di siero, di cui 42 campioni individuali classificati come moderatamente emolizzati e 19 campioni individuali classificati come altamente emolizzati; 60 campioni individuali di plasma da donatori viventi sieronegativi; 60 campioni individuali di siero. Lo studio è stato eseguito con 3 lotti di reagenti **cobas**® MPX indipendenti. Ogni campione cadaverico è stato diluito a 1:5,6 con **cobas** **omni** Specimen Diluent sullo strumento, quindi è stato analizzato con la procedura prevista per i test sui campioni cadaverici. Tutti i campioni di donatori viventi e non viventi di plasma in EDTA e di siero sono risultati non reattivi, per una specificità del 100%. La specificità osservata per i campioni cadaverici è risultata uguale alla specificità osservata per i campioni di donatori viventi, secondo il metodo esatto di Fisher ( $\alpha = 0,05$ ) sintetizzato nella Tabella 33.

**Tabella 33** Sintesi del tasso di specificità con i campioni di plasma in EDTA e di siero da donatori viventi e non viventi

Matrici	Tipo di campione	N. non reattivi	N. campioni analizzati	% non reattivi	Intervallo di confidenza al 95% bilaterale
Plasma in EDTA	Donatore non vivente	60	60	100%	94,0% - 100,0%
	Donatore vivente	60	60	100%	94,0% - 100,0%
Siero	Donatore non vivente	61	61	100%	94,1% - 100,0%
	Donatore vivente	60	60	100%	94,0% - 100,0%
Risultati complessivi con il metodo esatto di Fisher ( $\alpha = 0,05$ )		La specificità per i campioni di donatori viventi e non viventi è la stessa: Metodo esatto di Fisher, $p = 1,000$			

## Riproducibilità

La riproducibilità del test **cobas**® MPX sui **cobas**® 6800/8800 Systems è stata calcolata utilizzando 20 campioni cadaverici (da moderatamente ad altamente emolizzati) arricchiti con campioni clinici di HIV-1 M, HBV e HCV e con gli standard primari Roche per l'RNA dell'HIV-1 gruppo O e l'RNA dell'HIV-2, approssimativamente a 5 x LoD del test **cobas**® MPX. I risultati sono stati messi a confronto con la riproducibilità ottenuta con 20 campioni di donatori viventi, arricchiti con gli standard primari e secondari Roche fino a circa 5 x LoD del test **cobas**® MPX.

Sono stati eseguiti i test per le seguenti componenti variabili:

- variabilità tra giorni (su 6 giorni)
- variabilità tra lotti (con 3 diversi lotti di reagenti del test **cobas**® MPX)

È stata eseguita una replica con ciascuno dei 3 lotti di reagenti su un periodo di 6 giorni, per un totale di 18 repliche per ogni campione di donatore vivente e non vivente. Ogni campione cadaverico è stato diluito a 1:5,6 con **cobas** **omni** Specimen Diluent sullo strumento, quindi è stato analizzato con la procedura prevista per i test sui campioni cadaverici. Tutti i dati validi sulla riproducibilità sono stati valutati confrontando i tassi di reattività dei donatori viventi e dei campioni cadaverici (intervalli di confidenza al 95% bilaterali) tenendo conto di tutte le componenti variabili. È stato calcolato il valore p del metodo di Fisher esatto ai fini del test di significatività statistica della differenza tra le proporzioni dei risultati di reattività osservati con i campioni cadaverici e con i campioni di donatori viventi. Non sono state osservate differenze significative.

Il test **cobas**® MPX è riproducibile su più giorni e lotti di reagenti per i campioni di donatori viventi e non viventi. I risultati riguardanti la variabilità tra lotti di reagenti sono sintetizzati nella Tabella 34.

**Tabella 34** Riepilogo della riproducibilità tra lotti di reagenti del test **cobas®** MPX per i campioni di donatori viventi e non viventi

Analita	Lotto di reagenti	Tipo di campione	% reattivi (test reattivi/validi)	Limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95%	Limite superiore dell'intervallo di confidenza al 95%	Differenza significativa utilizzando il metodo esatto di Fisher ( $\alpha = 0,05$ )
HIV-1 gruppo M	1	Donatore non vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Valore p=1,0000
		Donatore vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	2	Donatore non vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Valore p=1,0000
		Donatore vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	3	Donatore non vivente	100,0% (118/118)	96,9%	100,0%	Valore p=1,0000
		Donatore vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
HIV-1 gruppo O	1	Donatore non vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Valore p=1,0000
		Donatore vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	2	Donatore non vivente	100,0% (117/117)	96,9%	100,0%	Valore p=1,0000
		Donatore vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	3	Donatore non vivente	99,2% (118/119)	95,4%	100,0%	Valore p=0,4979
		Donatore vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
HIV-2	1	Donatore non vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Valore p=1,0000
		Donatore vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	2	Donatore non vivente	98,3% (118/120)	94,1%	99,8%	Valore p=0,4979
		Donatore vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	3	Donatore non vivente	99,2% (118/119)	95,4%	100,0%	Valore p=0,4979
		Donatore vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	

<b>Analita</b>	<b>Lotto di reagenti</b>	<b>Tipo di campione</b>	<b>% reattivi (test reattivi/validi)</b>	<b>Limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95%</b>	<b>Limite superiore dell'intervallo di confidenza al 95%</b>	<b>Differenza significativa utilizzando il metodo esatto di Fisher (<math>\alpha = 0,05</math>)</b>
HCV	1	Donatore non vivente	98,3% (118/120)	94,1%	99,8%	Valore p=0,4979
		Donatore vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	2	Donatore non vivente	98,3% (118/120)	94,1%	99,8%	Valore p=0,4979
		Donatore vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	3	Donatore non vivente	97,5% (115/118)	92,7%	99,5%	Valore p=0,1203
		Donatore vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
HBV	1	Donatore non vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Valore p=1,0000
		Donatore vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	2	Donatore non vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Valore p=1,0000
		Donatore vivente	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	3	Donatore non vivente	100,0% (118/118)	96,9%	100,0%	Valore p=1,0000
		Donatore vivente	99,2% (119/120)	95,4%	100,0%	

# Valutazione delle prestazioni cliniche

## Riproducibilità

La riproducibilità del test cobas® MPX per l'uso sui sistemi cobas® 6800/8800 è stata determinata analizzando un pannello contenente HIV-1 gruppo M, gruppo O, HIV-2, HCV e/o HBV a tre diverse concentrazioni per ogni virus in vari lotti, siti/strumenti, giorni e batch.

Gli operatori in ognuno dei siti di test cobas® MPX hanno eseguito cinque giorni di test, usando tre lotti di reagenti cobas® MPX per ottenere due batch validi ogni giorno.

La Tabella 35 presenta la concordanza percentuale per sito/strumento, lotto, giorno e batch a partire dai risultati di test validi per i membri positivi del pannello. Lo studio dimostra che il test cobas® MPX per l'uso sui sistemi cobas® 6800/8800 offre prestazioni riproducibili con tutte le variabili esaminate (lotto, sito/strumento, giornata e batch) e per i cinque analiti testati.

**Tabella 35** Risultati del test riepilogati per sito/strumento, lotto, giorno e batch (membri del pannello positivi)

Target virale	Concentrazione virale	Laboratorio/strumento		Lotto		Giorno		Batch	
		ID	% risultati positivi	ID	% risultati positivi	ID	% risultati positivi	ID	% risultati positivi
HIV-1 gruppo M	~0,5 x LoD	1	81,7% (49/60)	1	81,7% (49/60)	1	91,7% (33/36)	1	84,3% (75/89)
		2	84,7% (50/59)	2	88,3% (53/60)	2	77,1% (27/35)	2	81,1% (73/90)
		3	81,7% (49/60)	3	78,0% (46/59)	3	83,3% (30/36)		
						4	83,3% (30/36)		
						5	77,8% (28/36)		
	~1 x LoD	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (60/60)	1	97,2% (35/36)	1	100,0% (90/90)
		2	100,0% (60/60)	2	100,0% (60/60)	2	97,2% (35/36)	2	97,8% (88/90)
		3	96,7% (58/60)	3	96,7% (58/60)	3	100,0% (36/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	100,0% (36/36)		
	~3 x LoD	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (36/36)	1	100,0% (90/90)
		2	100,0% (60/60)	2	100,0% (60/60)	2	100,0% (36/36)	2	100,0% (90/90)
		3	100,0% (60/60)	3	100,0% (60/60)	3	100,0% (36/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	100,0% (36/36)		

HIV-1 gruppo O	~0,5 x LoD	1	78,3% (47/60)	1	83,3% (50/60)	1	72,2% (26/36)	1	73,3% (66/90)
		2	76,7% (46/60)	2	78,3% (47/60)	2	77,8% (28/36)	2	86,7% (78/90)
		3	85,0% (51/60)	3	78,3% (47/60)	3	77,8% (28/36)		
						4	86,1% (31/36)		
						5	86,1% (31/36)		
	~1 x LoD	1	98,3% (59/60)	1	98,3% (59/60)	1	94,4% (34/36)	1	95,6% (86/90)
		2	100,0% (60/60)	2	96,7% (58/60)	2	100,0% (36/36)	2	98,9% (89/90)
		3	93,3% (56/60)	3	96,7% (58/60)	3	97,2% (35/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	94,4% (34/36)		
	~3 x LoD	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (36/36)	1	100,0% (90/90)
		2	100,0% (60/60)	2	100,0% (60/60)	2	100,0% (36/36)	2	100,0% (90/90)
		3	100,0% (60/60)	3	100,0% (60/60)	3	100,0% (36/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	100,0% (36/36)		
HIV-2	~0,5 x LoD	1	74,1% (43/58)	1	73,3% (44/60)	1	77,8% (28/36)	1	69,7% (62/89)
		2	76,7% (46/60)	2	79,7% (47/59)	2	69,4% (25/36)	2	79,8% (71/89)
		3	73,3% (44/60)	3	71,2% (42/59)	3	75,0% (27/36)		
						4	71,4% (25/35)		
						5	80,0% (28/35)		
	~1 x LoD	1	96,7% (58/60)	1	100,0% (60/60)	1	97,2% (35/36)	1	100,0% (90/90)
		2	98,3% (59/60)	2	96,7% (58/60)	2	100,0% (36/36)	2	96,7% (87/90)
		3	100,0% (60/60)	3	98,3% (59/60)	3	97,2% (35/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	97,2% (35/36)		
	~3 x LoD	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (36/36)	1	100,0% (90/90)
		2	100,0% (60/60)	2	100,0% (60/60)	2	100,0% (36/36)	2	100,0% (90/90)
		3	100,0% (60/60)	3	100,0% (60/60)	3	100,0% (36/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	100,0% (36/36)		

HCV	~0,5 x LoD	1	75,0% (45/60)	1	80,0% (48/60)	1	66,7% (24/36)	1	79,8% (71/89)
		2	70,7% (41/58)	2	76,7% (46/60)	2	77,8% (28/36)	2	74,2% (66/89)
		3	85,0% (51/60)	3	74,1% (43/58)	3	69,4% (25/36)		
						4	91,2% (31/34)		
						5	80,6% (29/36)		
	~1 x LoD	1	100,0% (60/60)	1	98,3% (59/60)	1	97,2% (35/36)	1	100,0% (90/90)
		2	96,7% (58/60)	2	98,3% (59/60)	2	100,0% (36/36)	2	97,8% (88/90)
		3	100,0% (60/60)	3	100,0% (60/60)	3	97,2% (35/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	100,0% (36/36)		
	~3 x LoD	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (36/36)	1	100,0% (90/90)
		2	100,0% (59/59)	2	100,0% (60/60)	2	100,0% (36/36)	2	100,0% (89/89)
		3	100,0% (60/60)	3	100,0% (59/59)	3	100,0% (36/36)		
						4	100,0% (35/35)		
						5	100,0% (36/36)		
HBV	~0,5 x LoD	1	80,0% (48/60)	1	80,0% (48/60)	1	80,6% (29/36)	1	72,2% (65/90)
		2	78,3% (47/60)	2	73,3% (44/60)	2	80,6% (29/36)	2	82,2% (74/90)
		3	73,3% (44/60)	3	78,3% (47/60)	3	75,0% (27/36)		
						4	77,8% (28/36)		
						5	72,2% (26/36)		
	~1 x LoD	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (36/36)	1	100,0% (90/90)
		2	100,0% (60/60)	2	100,0% (60/60)	2	100,0% (36/36)	2	100,0% (90/90)
		3	100,0% (60/60)	3	100,0% (60/60)	3	100,0% (36/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	100,0% (36/36)		
	~3 x LoD	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (36/36)	1	100,0% (90/90)
		2	100,0% (60/60)	2	100,0% (60/60)	2	100,0% (36/36)	2	100,0% (90/90)
		3	100,0% (60/60)	3	100,0% (60/60)	3	100,0% (36/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	100,0% (36/36)		

## Specificità clinica

### Reattività nella popolazione di donatori di sangue

I campioni sono stati raccolti da donatori di sangue volontari, arruolati presso quattro siti di test. Le analisi con il test **cobas**® MPX sono state eseguite in base a due algoritmi, uno per il test su donazioni singole, che richiede un singolo livello di test, e uno per test in pool da 6, che richiede un singolo livello di test per i pool primari con risultati non reattivi e due livelli di test per i pool primari con risultati reattivi (uno per i pool primari e uno per i test di risoluzione dei singoli donatori) (Tabella 36). La specificità del pool è stata del 99,91% (10.524/10.534; 99,83%-99,95%) (Tabella 37). Dieci pool reattivi contenevano tutte le donazioni con stato negativo. La specificità clinica per i test di donazioni singole è stata del 99,95% (IC 95%: da 99,88% a 99,98%). La percentuale di batch non validi per il test **cobas**® MPX è stata del 3,5% (18/509) per le donazioni iniziali in pool di sei e del 6,8% (16/219) per le donazioni singole. Lo studio ha identificato due casi di reattività ai test NAT positivi all'HCV.

**Tabella 36** Specificità clinica del test **cobas**® MPX: complessiva

Dimensioni pool	Frequenza (n/N)	Stima percentuale (IC Clopper Pearson esatto 95%)
Donazione singola (plasma)	5.523/5.528	99,91% (da 99,79% a 99,986%)
Donazione singola (siero)	5.669/5.670	99,98% (da 99,90% a 100,00%)
Donazione singola (plasma/siero)	11.192/11.198	99,95% (da 99,88% a 99,98%)
Pool di 6 (plasma)	62.982/62.982	100,00% (da 99,99% a 100,00%)

N = Numero totale di donazioni con stato negativo; n = Donazioni non reattive a **cobas**® MPX

**Tabella 37** Reattività dei pool di **cobas**® MPX da donatori di sangue volontari

Categoria	N. di pool	% pool analizzati
Pool analizzati	10563	100
Pool non reattivi	10524	99,63
Pool reattivi	39	0,37
Pool reattivi con stato del donatore positivo	29	0,27
Pool reattivi con stato del donatore negativo (falsi positivi)*	10	0,10

\* Dei 10 pool falsi reattivi, un pool era falso reattivo all'HIV, quattro pool erano falsi reattivi all'HCV, cinque pool erano falsi reattivi all'HBV.

## Reattività nella popolazione di donatori di plasma

Complessivamente sono state testate 108.306 donazioni valide da 24.514 donatori singoli in pool da 96 con cobas® MPX e un NAT multiplex omologato dalla FDA. 108.297 donazioni sono risultate negative ad anti-HIV, anti-HCV e HBsAg (Tabella 38). Lo stato della donazione è stato assegnato in base alla concordanza di due test virali specifici (es. due risultati NAT o NAT e sierologia) sulla donazione indice o dei risultati dei test di follow-up. In totale sono stati testati con cobas® MPX 1.106 pool validi, di cui 1.092 (98,7%) non reattivi e 14 (1,3%) reattivi. Dei 1.092 pool non reattivi, 1.090 pool contenevano solo donazioni con stato negativo e due pool contenevano almeno una donazione con stato positivo. Tra i 1.106 pool testati sono stati individuati due pool non reattivi con almeno una donazione con stato positivo e sette pool reattivi con almeno una donazione con stato positivo (Tabella 39).

**Tabella 38** Specificità clinica del test cobas® MPX a livello di donazione

Parametro	Numero totale di donazioni con stato negativo	Risultato di cobas® MPX		Stima percentuale (IC esatto 95%)
		Reactive	Non reattivi	
<b>Specificità clinica</b>	108297	6	108291	99,99 (99,99, 100,00)
<b>Specificità clinica per HIV</b>	108297	3	108294	100,00 (99,99, 100,00)
<b>Specificità clinica per HCV</b>	108297	1	108296	100,00 (100,00, 100,00)
<b>Specificità clinica per HBV</b>	108297	2	108295	100,00 (99,99, 100,00)

**Tabella 39** Reattività dei pool nelle donazioni di plasma di origine

Categoria	Numero di pool	% pool analizzati
Totale pool di 96 <sup>a</sup> analizzati:	1106	100
Pool non reattivi <sup>b</sup>	1092	98,7
Pool non reattivi con tutte donazioni negative	1090	98,6 (1.090 su 1.106)
Pool non reattivi con almeno una donazione positiva	2 <sup>c</sup>	0,2 (2 su 1.106)
Pool reattivi <sup>b</sup>	14	1,3
Pool reattivi con almeno una donazione positiva	7	0,6 (7 su 1.106)
Pool reattivi con donazioni con stato negativo (pool falsi reattivi)	7	0,6 (7 su 1.106)

<sup>a</sup> 479/1106 pool contenevano < 96 donazioni

<sup>b</sup> Lo stato della donazione è stato assegnato in base alla concordanza di due test virali specifici (es. due risultati NAT o NAT e sierologia) sulla donazione indice o dei risultati dei test di follow-up.

<sup>c</sup> Questi due pool non reattivi contenevano donazioni da un donatore positivo all'HBV. La donazione indice del donatore era positiva all'HBV su cobas® MPX ma negativa su cobas® TaqScreen MPX ed è stata confermata positiva all'HBV mediante NAT ad alta sensibilità alternativo. Questo donatore ha effettuato tre donazioni successive risultate non reattive su entrambi i saggi di screening NAT. Una di queste donazioni era contenuta in un pool positivo all'HCV.

Undici donatori univoci hanno contribuito con 12 donazioni reattive (sei all'HCV, sei all'HIV e tre all'HBV). Sette donatori hanno completato i test di follow-up: tre di questi donatori non hanno mostrato prova di infezione durante il follow-up; per quattro donatori è stata confermata l'infezione in fase di follow-up, e due di questi sono risultati sieroconvertiti (HCV) durante il follow-up (Tabella 40). Uno dei tre donatori HBV è risultato essere un caso reattivo all'HBV su NAT.

**Tabella 40** Modelli di reattività analitica osservati dai test iniziali su donazioni valide

Risultato di cobas® MPX	Stato donazione <sup>a</sup>	Numero di donazioni
HCV+	Positivo	5
HBV+	Negativo	2
HBV+	Positivo	4 <sup>b</sup>
HCV+	Negativo	1
HIV+	Negativo	3
Non reattivi	Negativo	108291
	Totale	108306

<sup>a</sup> Lo stato della donazione è stato assegnato in base al modello di reattività analitica ("concordanza" di due test virali specifici, es. due risultati NAT o NAT e sierologia, sulla donazione indice o dei risultati dei test di follow-up).

<sup>b</sup> Queste donazioni appartengono tutte allo stesso donatore la cui donazione indice era HBV+ e le cui tre donazioni successive sono state classificate con stato positivo nonostante il test **cobas**® MPX fosse non reattivo per HBV.

Nota: in questa tabella di riepilogo sono incluse solo le donazioni valide; + = Reattivo/Positivo

La specificità clinica del test **cobas**® MPX per i pool di plasma di origine è stata determinata analizzando 108.306 donazioni ritenute idonee raccolte da 24.514 singoli donatori. Le donazioni idonee hanno generato risultati validi in base ai test **cobas**® MPX, **cobas**® TaqScreen MPX e CAS (COBAS AmpliScreen) eseguiti in pool, nonché risultati sierologici validi (vari analiti) in base ai test eseguiti sulle singole donazioni. Su 108.306 donazioni idonee, 108.297 hanno ottenuto lo stato di donazione negativa. Tra queste, 108.291 sono risultate non reattive al test **cobas**® MPX, pertanto la specificità clinica è del 99,994% (IC 95%: da 99,988% a 99,997%). Sette pool di 96 falsi reattivi al test **cobas**® MPX sono stati sottoposti a test di risoluzione per contenere solo donazioni con stato negativo. Su 24.514 singoli donatori analizzati, 24.509 hanno contribuito solo con donazioni di stato negativo, di cui 24.503 erano non reattivi a **cobas**® MPX e sei hanno prodotti risultati falsi reattivi, pertanto la specificità (a livello di donatore) è del 99,976% (IC 95% = da 99,947% a 99,989%).

## Studi tra le popolazioni ad alto rischio

Fornitori terzi hanno raccolto campioni da soggetti ad alto rischio di infezione da HIV, HCV o HBV. I fattori di rischio inclusi sono stati, in via non esclusiva, periodo trascorso in carcere; precedente diagnosi di patologia sessualmente trasmessa; storia di partner sessuali multipli; uso di droghe iniettabili; diagnosi o trattamento per l'HIV; diagnosi o trattamento per l'epatite. Alcuni donatori di campioni hanno segnalato più fattori di rischio. I 510 campioni raccolti in totale tra la popolazione ad alto rischio sono stati distribuiti in maniera approssimativamente equa tra tre siti di test, che hanno eseguito i test **cobas**® MPX e **cobas**® TaqScreen MPX con incorporazione di CAS.

Tutti i campioni sono stati preparati come pannelli. La diluizione manuale dei campioni è stata eseguita utilizzando plasma umano in pool, precedentemente sottoposto a screening per HIV-1/2, HCV e HBV e risultato negativo. Presso i siti di test, i campioni non diluiti sono stati analizzati sia con **cobas**® MPX sia con **cobas**® TaqScreen con incorporazione di CAS (per la risoluzione target), in conformità con la procedura standard di trattamento dei campioni raccomandata nel foglietto illustrativo del test **cobas**® TaqScreen MPX. I campioni sono stati inoltre analizzati dopo la diluizione per simulare pool di sei sia con **cobas**® MPX sia con **cobas**® TaqScreen. CAS non è stato eseguito sui campioni diluiti.

I 510 campioni non diluiti hanno prodotto con test **cobas**® MPX e **cobas**® TaqScreen MPX risultati comprendenti 179 campioni reattivi (per uno o più target) con **cobas**® MPX (35,1%) e 181 campioni reattivi con **cobas**® TaqScreen MPX (35,5%). 488 (95,7%) campioni hanno prodotto risultati concordanti tra i test **cobas**® MPX e **cobas**® TaqScreen MPX, mentre 22 (4,3%) campioni hanno prodotti risultati discordanti tra i test **cobas**® MPX e **cobas**® TaqScreen MPX.

Dei 510 campioni ad alto rischio non diluiti, **cobas® MPX** ha identificato correttamente la presenza o l'assenza di target virale nel 97,0% (495/510) dei casi, in confronto ai risultati del test CAS o NAT alternativo (NGI, National Genetics Institute). Per il 3% dei campioni per cui **cobas® MPX** non ha identificato correttamente la presenza o l'assenza del target virale, **cobas® MPX** ha rilevato erroneamente un target virale in campioni che non contenevano tale target virale nell'1,8% (9/510) dei casi (risultato falso reattivo) e non è stato in grado di rilevare un target virale nei campioni che lo contenevano nell'1,2% (6/510) dei casi (risultato falso non reattivo). I risultati sono riassunti nella Tabella 41.

**Tabella 41** Identificazione corretta e non corretta di virus: campioni non diluiti

	<b>Risultato di cobas® MPX<sup>a</sup></b>	<b>%</b>	<b>Totale corretti</b>
<b>Veri reattivi</b>	<b>170</b>	<b>97,0%</b>	<b>495</b>
<b>Veri non reattivi</b>	<b>325</b>		
Falsi reattivi	9	1,8%	15
Falsi non reattivi	6	1,2%	
<b>Totale</b>	<b>510</b>	<b>100,0%</b>	<b>510</b>

<sup>a</sup> Stato finale (a confronto con i risultati di CAS o NAT alternativo [test NGI]).

Nota: Identificazione corretta = Risultati veri reattivi e veri non reattivi (mostrati in grassetto).

Dei 510 campioni diluiti testati, 153 sono risultati reattivi su **cobas® MPX** (30,0%), rispetto ai 151 campioni reattivi su **cobas® TaqScreen MPX** (29,6%). Dei 510 campioni diluiti, 484 (94,9%) campioni hanno prodotto risultati concordanti tra i test **cobas® MPX** e **cobas® TaqScreen MPX**, mentre 26 (5,1%) campioni hanno prodotti risultati discordanti tra i test **cobas® MPX** e **cobas® TaqScreen MPX**.

**cobas® MPX** ha identificato correttamente il target virale nel 96,7% (492/509) dei casi (509 campioni diluiti, escluso un campione per cui non sono stati ottenuti risultati con NGI). Per il 3,4% dei campioni per cui **cobas® MPX** non ha identificato correttamente il target virale, **cobas® MPX** ha rilevato erroneamente un target virale in campioni che non contenevano tale target virale nell'1,2% (6/509) dei casi (risultato falso reattivo) e non è stato in grado di rilevare un target virale nei campioni che lo contenevano nel 2,2% (11/509) dei casi (risultato falso non reattivo). I risultati sono riassunti nella Tabella 42.

**Tabella 42** Identificazione corretta e non corretta di virus: campioni diluiti

	<b>Risultato di cobas® MPX<sup>a</sup></b>	<b>%</b>	<b>Totale corretti</b>
<b>Veri reattivi</b>	<b>147</b>	<b>96,7</b>	<b>492</b>
<b>Veri non reattivi</b>	<b>345</b>		
Falsi reattivi	6	1,2	17
Falsi non reattivi	11	2,2	
<b>Totale</b>	<b>509<sup>b</sup></b>	<b>100</b>	<b>509<sup>b</sup></b>

<sup>a</sup> Stato finale (a confronto con i risultati di CAS o NAT alternativo [test NGI]), eseguito su aliquota non diluita.

<sup>b</sup> Escluso un campione per cui non sono stati ottenuti risultati con NGI.

Nota: Identificazione corretta = Risultati veri reattivi e veri non reattivi (mostrati in grassetto).

## Sensibilità clinica

### Studi tra le popolazioni NAT-positive

2.569 campioni NAT-positivi ad HIV, HCV e HBV sono stati testati in quattro siti di test con **cobas**® MPX e **cobas**® TaqScreen MPX con incorporazione di CAS. Sono stati utilizzati quattro lotti di reagenti **cobas**® MPX. I 2.569 noti come NAT-positivi comprendevano 1.015 campioni positivi all'HIV, 1.016 campioni positivi all'HCV e 538 campioni positivi all'HBV. Ciascuno di questi campioni è stato testato in forma non diluita e diluita (1:6) con **cobas**® MPX e **cobas**® TaqScreen MPX. Soltanto i campioni non diluiti sono stati analizzati con i test CAS approvati, in conformità con la procedura standard di trattamento dei campioni raccomandata nel foglietto illustrativo del test **cobas**® TaqScreen MPX. La Tabella 43 confronta la sensibilità dei risultati dei test **cobas**® MPX e **cobas**® TaqScreen per campioni positivi ad HIV, HCV e HBV noti.

La sensibilità clinica complessiva del test **cobas**® MPX è stata del 100,0% (2.549/2.549) per i campioni non diluiti positivi noti e del 100,0% (2.555/2.555) per i campioni diluiti (1:6) positivi noti. La sensibilità clinica complessiva del test **cobas**® TaqScreen MPX è stata del 99,9% (2.523/2.524) per i campioni non diluiti positivi noti e del 99,8% (2.559/2.563) per i campioni diluiti (1:6) positivi noti. La PPA (concordanza percentuale positiva) complessiva tra i test **cobas**® MPX and the **cobas**® TaqScreen MPX relativamente a tutti i campioni positivi noti, sia non diluiti che diluiti, è stata del 100,0% (Tabella 43).

**Tabella 43** Confronto della sensibilità dei risultati dei test **cobas**® MPX e **cobas**® TaqScreen per campioni positivi ad HIV, HCV e HBV noti

		Sensibilità nei campioni positivi noti <sup>a</sup>		Differenza (risultato di <b>cobas</b> ® MPX – <b>cobas</b> ® TaqScreen MPX)	
Diluizione	Virus target	Risultato di <b>cobas</b> ® MPX	Test <b>cobas</b> ® TaqScreen MPX	Stima	Intervallo di confidenza al 95%
Non diluiti	Generale	100,00% (2.549/2.549)	99,96% (2.523/2.524)	0,04%	(-0,04%, 0,12%)
	HIV	100,00% (1.006/1.006)	99,90% (1.007/1.008)	0,10%	(-0,10%, 0,29%)
	HCV	100,00% (1.015/1.015)	100,00% (1.014/1.014)	0,00%	Non applicabile
	HBV	100,00% (528/528)	100,00% (502/502)	0,00%	Non applicabile
1:6	Generale	100,00% (2.555/2.555)	99,84% (2.559/2.563)	0,16%	(0,00%, 0,31%)
	HIV	100,00% (1.006/1.006)	99,60% (1.005/1.009)	0,40%	(0,01%, 0,78%)
	HCV	100,00% (1.016/1.016)	100,00% (1.016/1.016)	0,00%	Non applicabile
	HBV	100,00% (533/533)	100,00% (538/538)	0,00%	Non applicabile

<sup>a</sup> Nell'analisi della sensibilità sono stati inclusi solo i campioni positivi noti con risultati del test validi.

### Popolazione NAT-positiva all'HIV

I 1.015 campioni non diluiti positivi all'HIV hanno prodotto 1.006 risultati di test validi con **cobas**® MPX e 1.008 risultati di test validi con **cobas**® TaqScreen MPX con incorporazione di CAS. I 1.015 campioni diluiti positivi all'HIV hanno prodotto 1.006 risultati di test validi con **cobas**® MPX e 1.009 risultati di test validi con **cobas**® TaqScreen MPX (CAS non eseguito sui campioni diluiti).

Il test **cobas**® MPX ha consentito di ottenere risultati reattivi per 1.006 di 1.006 (100,0%) campioni non diluiti positivi all'HIV e 1.006 di 1.006 (100,0%) campioni diluiti positivi all'HIV. Il test **cobas**® TaqScreen MPX con incorporazione di CAS ha consentito di ottenere risultati reattivi per 1.007 di 1.008 (99,90%) campioni non diluiti positivi all'HIV. Il test **cobas**® TaqScreen MPX (senza esecuzione di CAS) ha consentito di ottenere risultati reattivi per 1.005 di 1.009 (99,60%) campioni diluiti positivi all'HIV. La PPA tra il test **cobas**® MPX e il test **cobas**® TaqScreen MPX per i campioni positivi all'HIV non diluiti e diluiti è stata rispettivamente del 100,0% e del 100,0%.

### Popolazione NAT-positiva all'HCV

Il test **cobas**® MPX ha consentito di ottenere risultati reattivi per 1.015 di 1.015 (100,0%) campioni non diluiti positivi all'HCV e 1.016 di 1.016 (100,0%) campioni diluiti positivi all'HCV. Il test **cobas**® TaqScreen MPX con incorporazione di CAS ha consentito di ottenere risultati reattivi per 1.014 di 1.014 (100,0%) campioni non diluiti. Il test **cobas**® TaqScreen MPX (senza esecuzione di CAS) ha consentito di ottenere risultati reattivi per 1.016 di 1.016 (100,0%) campioni diluiti. La PPA tra il test **cobas**® MPX e il test **cobas**® TaqScreen MPX per i campioni positivi all'HCV non diluiti e diluiti è stata rispettivamente del 100,0% e del 100,0%.

### Popolazione NAT-positiva all'HBV

I 538 campioni non diluiti positivi all'HBV hanno prodotto 528 risultati di test validi con **cobas**® MPX e 502 risultati di test validi con **cobas**® TaqScreen MPX con incorporazione di CAS. I 538 campioni diluiti positivi all'HBV hanno prodotto 533 risultati di test validi con **cobas**® MPX e 538 risultati di test validi con **cobas**® TaqScreen MPX (CAS non eseguito sui campioni diluiti).

Il test **cobas**® MPX ha consentito di ottenere risultati reattivi per 528 di 528 (100,0%) campioni non diluiti positivi all'HBV e 533 di 533 (100,0%) campioni diluiti positivi all'HBV. Il test **cobas**® TaqScreen MPX con incorporazione di CAS ha consentito di ottenere risultati reattivi per 502 di 502 (100,0%) campioni non diluiti positivi all'HBV. Il test **cobas**® TaqScreen MPX (senza esecuzione di CAS) ha consentito di ottenere risultati reattivi per 538 di 538 (100,0%) campioni diluiti positivi all'HBV. La PPA tra il test **cobas**® MPX e il test **cobas**® TaqScreen MPX per i campioni positivi all'HBV non diluiti e diluiti è stata rispettivamente del 100,0% e del 100,0%.

## Sensibilità clinica per la popolazione sieropositiva all'HIV-1 gruppo O e all'HIV-2

### Popolazione sieropositiva all'HIV-1 gruppo O

In totale sono stati analizzati con il test **cobas**® MPX e con il test **cobas**® TaqScreen MPX 12 campioni sieropositivi all'HIV-1 gruppo O, diluiti 1:6. La diluizione 1:6 prima di eseguire i test si è resa necessaria per il volume ridotto dei campioni. Tutti i campioni HIV-1 gruppo O, il cui test **cobas**® MPX eseguito dopo una diluizione 1:6 ha prodotto risultati reattivi per HIV, sono riepilogati nella Tabella 44, per una sensibilità clinica in relazione ai test sierologici del 100,0%.

**Tabella 44** Confronto della reattività complessiva per i campioni sieropositivi all'HIV-1 gruppo O (diluizione 1:6)

Test <b>cobas</b> ® TaqScreen MPX (diluizione 1:6)	<b>cobas</b> ® MPX (diluizione 1:6)		Totale
	Reactive	Non reattivi	
Reactive	11	0	11
Non reattivi	1	0	1
<b>Totale</b>	12	0	12

### Popolazione sieropositiva all'HIV-2

In totale sono stati analizzati con i test **cobas**® MPX e **cobas**® TaqScreen MPX 319 campioni sieropositivi all'HIV-2. Dei 319 campioni sieropositivi, 184 sono stati analizzati non diluiti e dopo una diluizione 1:6 con il test **cobas**® MPX e il test **cobas**® TaqScreen MPX, mentre i rimanenti 135 sono stati testati solo dopo la diluizione 1:6 a causa del loro volume limitato.

Su 184 campioni analizzati senza diluizione, 137 hanno generato risultati reattivi come riepilogato nella Tabella 45, per una sensibilità clinica rispetto ai test sierologici del 74,5% utilizzando **cobas**® MPX. Il test **cobas**® MPX ha dimostrato una sensibilità analoga rispetto all'HIV-2 anche diluendo i campioni 1:6 prima di sottoporli ad analisi con i due metodi. Su 319 campioni diluiti 1:6, 198 hanno generato risultati reattivi con il test **cobas**® MPX come riepilogato nella Tabella 46.

**Tabella 45** Confronto della reattività complessiva per i campioni sieropositivi all'HIV-2 (non diluiti)

Test <b>cobas</b> ® TaqScreen MPX (non diluiti)	Test <b>cobas</b> ® MPX (non diluiti)		Totale
	Reactive	Non reattivi	
Reactive	118	7	125
Non reattivi	19	40	59
<b>Totale</b>	137	47	184

**Tabella 46** Confronto della reattività complessiva per i campioni sieropositivi all'HIV-2 (diluizione 1:6)

Test <b>cobas</b> ® TaqScreen MPX (diluizione 1:6)	<b>cobas</b> ® MPX (diluizione 1:6)		Totale
	Reactive	Non reattivi	
Reactive	173	33	206
Non reattivi	25	88	113
<b>Totale</b>	198	121	319

## Conferma dei risultati di sierologia

I dati dello studio sui campioni positivi noti riguardano 2.555 campioni positivi noti, ciascuno con infezione confermata da NAT (test sull'acido nucleico) con risultati di test HIV, HCV o HBV e sierologici. Sono stati inoltre resi noti risultati sierologici supplementari per 1.771 (69,3%) campioni. Il risultato corretto del test **cobas**® MPX, definito come reattivo per il target virale per cui il campione era notoriamente positivo (es. HIV, HCV o HBV), è stato confrontato con i risultati sierologici supplementari. Le percentuali di risultati corretti (stima della sensibilità) per **cobas**® MPX sono state calcolate per ogni virus target e nel complesso, con intervalli di confidenza (IC) associati del 95%. **cobas**® MPX ha identificato correttamente 1.771 di 1.771 (100,0%) campioni con risultati sierologici reattivi e supplementari. La Tabella 47 mostra la reattività di **cobas**® MPX per ogni analita virale target, a confronto con i risultati dei test sierologici per target virale noto e supplementari, nonché una stima della sensibilità e l'IC del 95% complessivo e per ogni target virale.

**Tabella 47** Sensibilità di **cobas**® MPX per campioni positivi noti non diluiti con risultati sierologici a conferma

Diluizione	Test	Virus target	Totale campioni positivi noti*	N. campioni reattivi per test	Stima di sensibilità	Punteggio IC 95%
Non diluiti	MPX8800	Generale	1771	1771	100,00%	(99,78%, 100,00%)
Non diluiti	MPX8800	HIV	496	496	100,00%	(99,23%, 100,00%)
Non diluiti	MPX8800	HCV	747	747	100,00%	(99,49%, 100,00%)
Non diluiti	MPX8800	HBV	528	528	100,00%	(99,28%, 100,00%)

\* In questa analisi della sensibilità sono inclusi solo campioni positivi noti con risultati del test **cobas**® MPX validi da campioni non diluiti e risultati sierologici confermativi.

## Informazioni supplementari












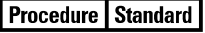







































### Caratteristiche del test

<b>Tipo di campione</b>	Plasma e siero
<b>Quantità minima di campione necessaria per un donatore vivente</b>	1000 µl
<b>Quantità di campione analizzato per un donatore vivente</b>	850 µl
<b>Quantità minima di campione necessaria per un donatore non vivente</b>	300 µl
<b>Quantità di campione analizzato per un donatore non vivente</b>	150 µl
<b>Durata del test</b>	I risultati sono disponibili in meno di 3 ore e mezza dal caricamento del campione sul sistema.

## Simboli

I seguenti simboli appaiono su tutte le confezioni di prodotti diagnostici PCR di Roche.

**Tabella 48** Simboli utilizzati sulle etichette dei prodotti diagnostici PCR di Roche

 <b>Age/DOB</b> Età o data di nascita	 Dispositivo non idoneo ai test POC	 <b>QS IU/PCR</b> UI QS per reazione PCR; utilizzare le unità internazionali (UI) QS per la reazione PCR nel calcolo dei risultati.
 <b>SW</b> Software ausiliario	 Dispositivo non idoneo all'autodiagnosi	 <b>SN</b> Numero di serie
 <b>Assigned Range [copies/mL]</b> Intervallo assegnato (copie/mL)	 <b>D</b> Distributore	 <b>Site</b> Sito
 <b>Assigned Range [IU/mL]</b> Intervallo assegnato (UI/mL)	 Non riutilizzare	 <b>Procedure Standard</b> Procedura standard
 <b>EC REP</b> Mandatario nella Comunità Europea	 Femmina	 <b>STERILE EO</b> Sterilizzazione con ossido di etilene
 <b>BARCODE</b> Foglio di dati del barcode	 Solo per valutazione delle prestazioni IVD	 Conservare al buio
 <b>LOT</b> Codice del batch	 <b>GTIN</b> Global Trade Item Number	 Limiti di temperatura
 Rischio biologico	 <b>IVD</b> Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	 <b>TDF</b> File di definizione del test
 <b>REF</b> Numero di catalogo	 <b>LLR</b> Limite inferiore dell'intervallo assegnato	 Alto
 <b>CE</b> Contrassegno di conformità CE: questo dispositivo è conforme ai requisiti pertinenti del marchio CE relativamente ai dispositivi medico-diagnostici <i>in vitro</i>	 Maschio	 <b>Procedure UltraSensitive</b> Procedura ultrasensibile
 <b>Collect Date</b> Data di raccolta	 Fabbricante	 <b>UDI</b> Identificazione univoca del dispositivo
 Consultare le istruzioni per l'uso	 <b>CONTROL -</b> Controllo negativo	 <b>ULR</b> Limite superiore dell'intervallo assegnato
 Contenuto sufficiente per <n> test	 Non sterile	 <b>Urine Fill Line</b> Rigia di riempimento urina
 <b>CONTENT</b> Contenuto del kit	 Nome del paziente	 <b>Rx Only</b> Solo USA: la legge federale statunitense limita la vendita di questo dispositivo ai medici o su presentazione di prescrizione medica.
 <b>CONTROL</b> Controllo	 Numero del paziente	 Utilizzare entro la data
 Data di produzione	 Staccare qui	
 Dispositivo idoneo ai test POC	 <b>CONTROL +</b> Controllo positivo	
 Dispositivo idoneo all'autodiagnosi	 <b>QS copies / PCR</b> Copie QS per reazione PCR; usare le copie QS per reazione PCR nel calcolo dei risultati.	

## Assistenza tecnica

Per richiedere assistenza tecnica, contattare la nostra filiale locale:

[https://www.roche.com/about/business/roche\\_worldwide.htm](https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm)

## Produttore e distributori

### Tabella 49

Produttore e distributori

Fabbricato negli USA



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany  
[www.roche.com](http://www.roche.com)

Made in USA

Distributed by Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics  
9115 Hague Road  
Indianapolis, IN 46250-0457 USA  
(For Technical Assistance call the  
Roche Response Center  
toll-free: 1-800-800-5973)

## Marchi e brevetti

Questo prodotto è coperto da uno o più brevetti statunitensi (n. 8962293, 9102924, 8609340, 9234250, 8097717, 8192958, 10059993 e 10358675) e dagli omologhi stranieri di ognuno.

COBAS, COBAS OMNI, COBAS P, AMPERASE, AMPLIPREP, TAQMAN e TAQSCREEN sono marchi di Roche.

Il marchio “Armored RNA™” è di proprietà di Asuragen, Inc. e Cenetron Diagnostics, Ltd.

Tutti gli altri nomi di prodotti e marchi appartengono ai rispettivi proprietari.

La tecnologia per la prevenzione del carryover nell'enzima AmpErase è protetta dal Brevetto USA n. 7,687,247 di proprietà di Life Technologies, concesso in licenza a Roche Molecular Systems, Inc.

Alcuni componenti di questo prodotto sono coperti da uno o più brevetti statunitensi e loro omologhi stranieri rilasciati a Novartis Vaccines and Diagnostics, Inc. e concessi in licenza a Roche Molecular Systems, Inc. e F. Hoffmann-La Roche Ltd.

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

## Copyright

©2021 Roche Molecular Systems, Inc.



0123



## Bibliografia

1. Global report. UNAIDS Report on the global AIDS epidemic. 2012.
2. Tebit DM, Arts EJ. Tracking a century of global expansion and evolution of HIV to drive understanding and to combat disease. *Lancet Infect Dis*. 2011;11:45-56.
3. Papathanasopoulos MA, Hunt GM, Tiemessen CT. Evolution and diversity of HIV-1 in Africa--a review. *Virus Genes*. 2003;26:151-163.
4. McCutchan FE. Global epidemiology of HIV. *J Med Virol*. 2006;78 Suppl 1:S7-S12.
5. Barin F, M'Boup S, Denis F, et al. Serological evidence for virus related to simian T-lymphotropic retrovirus III in residents of west Africa. *Lancet*. 1985;2(8469-70):1387-1389.
6. Clavel F, Guétard D, Brun-Vézinet F, Sinka K. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science*. 1986;233(4761):343-346.
7. Dougan S, Patel B, Tosswill JH, et al. Diagnoses of HIV-1 and HIV-2 in England, Wales, and Northern Ireland associated with west Africa. *Sex Transm Infect*. 2005;81:338-341.
8. Matheron S, Mendoza-Sassi G, Simon F, Olivares R, Coulaud JP, Brun-Vezinet F. HIV-1 and HIV-2 AIDS in African patients living in Paris. *AIDS*. 1997;11:934-936.
9. Valadas E, Franc L, Sousa S, Antunes F. 20 years of HIV-2 infection in Portugal: trends and changes in epidemiology. *Clin Infect Dis*. 2009;48:1166-1167.
10. Dietrich U, Maniar JK, Rübsamen-Waigmann H. The epidemiology of HIV in India. *Trends Microbiol*. 1995;3:17-21.
11. Solomon S, Kumarasamy N, Ganesh AK, et al. Prevalence and risk factors of HIV-1 and HIV-2 infection in urban and rural areas in Tamil Nadu, India. *Int J STD AIDS*. 1998;9:98-103.
12. 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.
13. Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology*. 2013;57:1333-1342.
14. Averhoff FM, Glass N, Holtzman D. Global burden of hepatitis C: considerations for healthcare providers in the United States. *Clin Infect Dis*. 2012;55 Suppl 1:S10-S15.
15. Trepo C, Pradat P. Hepatitis C virus infection in Western Europe. *J Hepatol*. 1999;31 Suppl 1: 80-83.
16. Lehman EM, Wilson ML. Epidemic hepatitis C virus infection in Egypt: estimates of past incidence and future morbidity and mortality. *J Viral Hepat*. 2009;16:650-658.
17. Chisari FV, Ferrari C. Viral Hepatitis. In: Nathanson N, editor. *Viral Pathogenesis*. 1st ed. Philadelphia:Lippincott - Williams & Wilkins, 1997; pp. 745-778.
18. Hollinger FB, Liang TJ. Hepatitis B Virus. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, et al., editors. *Fields' Virology*, vol. 1. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001; pp. 2971-3036.
19. WHO, Global prevalence of Hepatitis B Virus Infection. 2013;  
[www.who.int/csr/disease/hepatitis/whocdscsrlyo20022/en/index1.html](http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/whocdscsrlyo20022/en/index1.html)

20. WHO campaigns, World Hepatitis Day, More must be done to stop this silent killer. Available at <http://www.who.int/campaigns/hepatitis-day/2013/en/index.html>
21. Perkins HA, Busch MP. Transfusion-associated infections: 50 years of relentless challenges and remarkable progress. *Transfusion*. 2010;50:2080-2099.
22. Dwyre DM, Fernando LP, Holland PV. Hepatitis B, hepatitis C and HIV transfusion-transmitted infections in the 21st century. *Vox Sang*. 2011;100:92-98.
23. Kleinman SH, Lelie N, Busch MP. Infectivity of human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus and risk of transmission by transfusion. *Transfusion*. 2009;49:2454-2489.
24. Hourfar MK, Jork C, Schottstedt V, et al.; German Red Cross NAT Study Group. Experience of German Red Cross blood donor services with nucleic acid testing: results of screening more than 30 million blood donations for human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus. *Transfusion*. 2008;48:1558-1566.
25. Roth WK, Busch P, Schuller A, et al. International survey on NAT testing of blood donations: expanding implementation and yield from 1999 to 2009. *Vox Sang*. 2012;102:82-90.
26. Zou S, Stramer SL, Notari EP, et al. Current incidence and residual risk of hepatitis B infection among blood donors in the United States. *Transfusion*. 2009;49:1609-1620.
27. Zou S, Dorsey KA, Notari EP, et al. Prevalence, incidence, and residual risk of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus infections among United States blood donors since the introduction of nucleic acid testing. *Transfusion*. 2010;50:1495-1504.
28. Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR, et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2008;49:652-657.
29. Linauts S, Saldanha J, Strong DM. PRISM hepatitis B surface antigen detection of hepatitis B virus minipool nucleic acid testing yield samples. *Transfusion*. 2008;48:1376-1382.
30. Phikulsod S, Oota S, Tirawatnpong T, et al.; Working Group for NAT Study in Thai Blood Donations. One-year experience of nucleic acid technology testing for human immunodeficiency virus Type 1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus in Thai blood donations. *Transfusion*. 2009;49:1126-1135.
31. Stramer SL, Wend U, Candotti D, et al. Nucleic acid testing to detect HBV infection in blood donors. *N Engl J Med*. 2011;364:236-247.
32. 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.
33. 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.
34. 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.
35. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY)*. 1992;10:413-417.
36. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-994.

37. 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.
38. 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.
39. HIV-2 RNA International Standard (NIBSC code 08/150):  
[http://www.nibsc.ac.uk/products/biological\\_reference\\_materials/product\\_catalogue/detail\\_page.aspx?catid=08/150](http://www.nibsc.ac.uk/products/biological_reference_materials/product_catalogue/detail_page.aspx?catid=08/150).

## Revisione del documento

Informazioni sulla revisione del documento	
Doc Rev. 5.0 (Mfg-US) 05/2021	Aggiornamento degli avvertimenti sui pericoli. Aggiornamento della sezione <b>Marchi e brevetti</b> . Aggiornati gli indirizzi dei Distributori. Inserimento del simbolo Rx Only nella prima pagina. Aggiunta della dichiarazione "Made in". Aggiornata la pagina dei simboli armonizzati. Aggiunta della sezione <b>Assistenza tecnica</b> . Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.