

## **cobas**<sup>®</sup> **Malaria**

---

Per uso diagnostico *in vitro*



<b>cobas</b> <sup>®</sup> <b>Malaria – 192</b>	P/N: 09352511190
<b>cobas</b> <sup>®</sup> <b>Malaria Control Kit</b>	P/N: 09352520190
<b>cobas</b> <sup>®</sup> <b>NHP Negative Control Kit</b>	P/N: 09051554190
<b>cobas</b> <sup>®</sup> <b>omni MGP Reagent</b>	P/N: 06997546190
<b>cobas</b> <sup>®</sup> <b>omni Specimen Diluent</b>	P/N: 06997511190
<b>cobas</b> <sup>®</sup> <b>omni Lysis Reagent</b>	P/N: 06997538190
<b>cobas</b> <sup>®</sup> <b>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 <b>cobas</b> ® Malaria .....	7
Reagenti <b>cobas</b> ® omni per la preparazione dei campioni.....	10
Requisiti per la conservazione e la manipolazione dei reagenti.....	11
Requisiti per la manipolazione dei reagenti per il <b>cobas</b> ® 5800 System .....	12
Requisiti per la manipolazione dei reagenti per i <b>cobas</b> ® 6800/8800 Systems.....	13
Altri materiali necessari per il <b>cobas</b> ® 5800 System .....	14
Altri materiali necessari per i <b>cobas</b> ® 6800/8800 Systems.....	14
Strumentazione e software necessari.....	15
<b>Precauzioni e requisiti per l'uso.....</b>	<b>16</b>
Avvertenze e precauzioni.....	16
Manipolazione dei reagenti.....	17
Buone pratiche di laboratorio.....	17
<b>Raccolta, trasporto, conservazione e creazione di pool di campioni .....</b>	<b>18</b>
Campioni di donatori viventi .....	18
<b>Istruzioni per l'uso.....</b>	<b>20</b>
Pipettamento automatico dei campioni e creazione di pool (opzionale).....	20
Note sulla procedura.....	20
Esecuzione del test <b>cobas</b> ® Malaria sul <b>cobas</b> ® 5800 System .....	21
Esecuzione del test <b>cobas</b> ® Malaria sui <b>cobas</b> ® 6800/8800 Systems.....	22
<b>Risultati .....</b>	<b>23</b>
Controllo di qualità e validità dei risultati sul <b>cobas</b> ® 5800 System.....	23
Risultati dei controlli sul <b>cobas</b> ® 5800 System.....	23
Controllo di qualità e validità dei risultati sui <b>cobas</b> ® 6800/8800 Systems .....	24
Flag dei controlli.....	24
Interpretazione dei risultati .....	24
Ulteriori informazioni sull'interpretazione dei risultati sul <b>cobas</b> ® 5800 System .....	25

Limiti della procedura .....	25
Equivalenza dei sistemi / confronto tra sistemi.....	25
<b>Valutazione delle prestazioni non cliniche eseguita sui cobas® 6800/8800 Systems .....</b>	<b>26</b>
Caratteristiche delle prestazioni .....	26
Limite di sensibilità (LoD).....	26
Ripetibilità.....	31
Verifica del genotipo .....	32
Sensibilità con i campioni clinici .....	32
Specificità analitica .....	33
Tasso globale d'errore del sistema .....	34
<b>Valutazione delle prestazioni cliniche .....</b>	<b>35</b>
Sensibilità clinica .....	35
Specificità clinica .....	36
Risultati dei test individuali.....	36
Risultati dei test in pool di 6 .....	37
Donatori esclusi .....	38
Riproducibilità.....	39
Popolazione asintomatica in una zona endemica .....	43
<b>Informazioni supplementari.....</b>	<b>44</b>
Caratteristiche del test .....	44
Simboli.....	45
Assistenza tecnica.....	46
Produttore e importatore .....	46
Marchi e brevetti .....	46
Copyright.....	46
Bibliografia .....	47
Revisione del documento .....	48

## Uso previsto

Il test cobas® Malaria per l'uso sui cobas® 5800/6800/8800 Systems (cobas® Malaria) è un test qualitativo *in vitro* per lo screening degli acidi nucleici finalizzato alla determinazione diretta del DNA e dell'RNA di *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. knowlesi*) nei campioni di sangue intero ottenuti da singoli donatori umani, tra i quali i donatori di sangue intero e di emocomponenti e altri donatori viventi. Il test viene inoltre impiegato sui campioni di sangue intero per lo screening dei donatori di organi e tessuti quando il prelievo dei campioni avviene a cuore battente.

I campioni di sangue intero di tutti i donatori possono essere analizzati come campioni individuali. Per le donazioni di sangue intero e di emocomponenti, i campioni di sangue intero possono essere analizzati individualmente o in pool costituiti dalle aliquote dei campioni individuali.

Il test non deve essere impiegato per coadiuvare la diagnosi di infezione da *Plasmodium*.

Il test non deve essere impiegato con campioni di sangue da cordone ombelicale.

Il test non deve essere impiegato con campioni cadaverici.

## Riassunto e spiegazione del test

### Premessa

La malaria è una malattia causata dall'infezione dei globuli rossi con protozoi parassiti intracellulari del genere *Plasmodium*. Inizialmente la malaria si manifesta come fenomeno febbrile e, se non trattata, può rapidamente progredire in una malattia potenzialmente mortale con sintomi quali anemia grave, distress respiratorio (dovuto ad acidosi metabolica), malaria cerebrale e disfunzione multiorgano.<sup>1,2</sup>

Negli esseri umani, la malaria è causata da 5 specie di *Plasmodium*: *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. knowlesi*. Tra queste, 2 specie (*P. falciparum* e *P. vivax*) contribuiscono maggiormente alla morbilità umana.<sup>2,3</sup>

In genere i parassiti vengono trasmessi alle persone attraverso la puntura di una zanzara femmina infetta del genere *Anopheles*. Ma la trasmissione della malaria può avvenire anche per via trasfusionale (*Transfusion-Transmitted Malaria*: TTM), quando un paziente riceve una trasfusione di sangue o di un emocomponente da un donatore infetto, oppure da madre a figlio durante la gravidanza o il parto.<sup>3,4</sup> La TTM può causare sintomi clinici gravi nei riceventi, specialmente in chi non è stato mai esposto alla malaria in precedenza o nei pazienti immunocompromessi a causa di altre patologie coesistenti.<sup>5</sup>

La TTM colpisce sia nelle aree endemiche che nelle aree non endemiche. Nelle aree non endemiche, in genere la TTM è il risultato di sangue o emocomponenti ottenuti da un donatore che si era precedentemente infettato durante un viaggio in un'area dove la malaria è endemica, o attraverso il contatto con migranti con infezione cronica provenienti dalle aree endemiche.<sup>5,6</sup> Nei centri di prelievo del sangue negli Stati Uniti, i donatori sono invitati a compilare un questionario in cui indicare se hanno viaggiato o abitato in aree dove la malaria è endemica, in modo tale da individuare i donatori a rischio di aver contratto la malaria ed escluderli dall'iter per la donazione. L'uso del questionario per escludere i donatori in base al rischio (ad esempio, per viaggi o soggiorni in un paese dove la malaria è endemica) probabilmente causa l'esclusione di molti potenziali donatori che in realtà non hanno contratto l'infezione. L'uso di un test degli acidi nucleici (*Nucleic Acid Test*: NAT) ad alta sensibilità per lo screening dell'effettiva presenza di *Plasmodium* nei donatori permetterebbe di escludere un numero significativamente più basso di donatori.

## Perché utilizzare i test degli acidi nucleici

La malaria può essere trasmessa per via trasfusionale.<sup>3</sup> L'agenzia statunitense Food and Drug Administration non richiede al momento il test della malaria per i donatori di sangue. I test sierologici non sono sufficientemente sensibili o inclusivi per poter essere impiegati nelle attività di screening dei donatori. Invece i potenziali donatori che dichiarano di aver viaggiato di recente o di aver abitato in uno dei paesi dove la malaria è endemica vengono dissuasi dal donare. Questo approccio riduce il numero di potenziali donatori e, di conseguenza, anche la disponibilità di sangue e di emocomponenti per le trasfusioni. Un test NAT ad alta sensibilità per le 5 specie di *Plasmodium* responsabili della malattia nell'uomo potrebbe essere impiegato per eseguire uno screening dei campioni dei donatori e attuare una strategia alternativa all'esclusione, impedendo allo stesso tempo che la malaria contaminasse le scorte di sangue. Le donazioni di sangue infettato da *Plasmodium* potrebbero così essere identificate, intercettate e scartate. Il test cobas® Malaria offre un nuovo modo di rilevare le infezioni da *Plasmodium* nelle donazioni di sangue ed emocomponenti, assicurando ai riceventi una maggiore protezione dalle infezioni TTM e migliorando ulteriormente la sicurezza delle scorte di sangue. Nelle aree endemiche, è prassi generale eseguire lo screening delle donazioni mediante test per la determinazione dell'antigene o esami al microscopio,<sup>4</sup> tuttavia queste metodiche non sono sufficientemente sensibili per rilevare tutte le unità potenzialmente infettive.<sup>7</sup> Nei paesi non endemici, le risposte ai questionari determinano l'esclusione di molti donatori che non sono veramente infetti, ma non ne escludono alcuni che sono infetti.<sup>7</sup> In alcuni paesi non endemici, vengono utilizzati i test sierologici per qualificare i donatori che segnalano un rischio di malaria nel questionario di screening, nonostante i risultati dei test sierologici siano caratterizzati da una certa variabilità e da una scarsa concordanza.<sup>8,9</sup>

## Spiegazione del test

Il test cobas® Malaria è un test PCR qualitativo per la rilevazione del DNA e dell'RNA di *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. knowlesi*) sui cobas® 5800/6800/8800 Systems. Il test cobas® Malaria è in grado di rilevare 5 specie di malaria: *Plasmodium falciparum* (prevalente), *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. knowlesi*. Tra queste, 2 specie (*P. falciparum* e *P. vivax*) contribuiscono maggiormente alla morbilità umana.

## Principi della procedura

Il test cobas® Malaria si basa su una procedura completamente automatizzata per la preparazione dei campioni (estrazione e purificazione degli acidi nucleici), seguita da amplificazione e rilevazione mediante PCR.

Il cobas® 5800 System è costituito da un unico strumento integrato. I cobas® 6800/8800 Systems 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 del cobas® 5800 System o dei cobas® 6800/8800 Systems, per cui i risultati di tutti i test sono classificati come non reattivi, reattivi o non validi. Durante l'uso dei cobas® 6800/8800 Systems, i risultati possono essere visualizzati direttamente sullo schermo del sistema, stampati in un report oppure inviati a un LIMS (*Laboratory Information Management System*) o a un altro sistema di gestione dei risultati.

I campioni dovrebbero essere analizzati in singolo oppure, facoltativamente, possono essere analizzati in pool costituiti dalle aliquote dei campioni individuali.

Se i pool vengono creati in un passaggio pre-analitico, è possibile utilizzare il cobas® Synergy software in associazione con Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD.

Il sangue intero può essere raccolto direttamente nella provetta per la raccolta di sangue intero Roche designata. In alternativa, il sangue intero può essere raccolto in anticoagulante EDTA e trasferito manualmente nella provetta per la raccolta di sangue intero Roche. La provetta per la raccolta di sangue intero Roche contiene un reagente caotropico pre-analitico a base di guanidina, utilizzato per la lisi delle cellule nel sangue intero, che consente il rilascio e la preservazione degli acidi nucleici. Il sangue intero lisato è contenuto nella provetta principale dell'analizzatore, in cui ha luogo la procedura universale di preparazione del campione dei cobas® 5800/6800/8800 Systems.

Le molecole di Armored RNA del controllo interno (IC) vengono aggiunte durante la preparazione universale dei campioni e agiscono da controllo dell'intero processo, ovvero dalla preparazione dei campioni fino all'amplificazione/rilevazione. L'IC controlla che non vi siano interferenze tali da causare risultati falsamente negativi. I campioni potenzialmente interessati sono considerati non validi.

Il test utilizza inoltre due controlli esterni, uno positivo e uno negativo. Oltre ai processi di lisi del campione e al rilascio dell'acido nucleico che avvengono nella provetta principale, gli acidi nucleici vengono rilasciati anche aggiungendo il campione e i controlli con proteinasi e reagente di lisi. Gli acidi nucleici così rilasciati si legano alla superficie di silice delle biglie di vetro magnetiche, che vengono aggiunte al campione. Le sostanze che non formano legami e le impurità (ad esempio proteine denaturate, detriti cellulari e potenziali inibitori della PCR, come l'emoglobina) vengono rimosse nei passaggi successivi con il reagente di lavaggio, mentre gli acidi nucleici purificati vengono eluiti 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 degli specifici primer forward e reverse selezionati da regioni altamente conservate dell'acido nucleico target. Un enzima DNA polimerasi termostabile viene utilizzato sia per la trascrizione inversa che per l'amplificazione. La soluzione Master Mix contiene trifosfato di deossiridina (dUTP) anziché trifosfato di deossitimidina (dTTP), che è incorporato nel DNA appena sintetizzato (amplicone).<sup>10-12</sup> Gli eventuali ampliconi contaminanti prodotti da precedenti sedute di PCR verranno distrutti dall'enzima AmpErase [uracil-N-glicosilasi], contenuto nella miscela per PCR, durante il primo passaggio del ciclo termico. Gli ampliconi appena formati non vengono distrutti, in quanto l'enzima AmpErase si inattiva quando è esposto a temperature superiori a 55°C.

La soluzione Master Mix cobas® Malaria contiene sonde di rivelazione che sono specifiche per gli acidi nucleici della *Plasmodium* e del controllo interno (IC). Ognuna delle sonde di rivelazione specifiche per *Plasmodium* e IC è marcata con uno dei due fluorocromi univoci, che agisce da rivelatore (reporter). Ogni sonda include anche un secondo fluorocromo, che agisce da soppressore (quencher). Le misurazioni dei fluorocromi reporter avvengono a una lunghezza d'onda definita, per consentire la rilevazione e la discriminazione dei target amplificati di *Plasmodium* e di IC.<sup>13,14</sup> Quando non è legato alla sequenza target, il segnale fluorescente delle sonde intatte viene soppresso dal fluorocromo quencher. Nella fase di amplificazione PCR, l'ibridizzazione delle sonde con lo stampo specifico di DNA a filamento unico determina la scissione della sonda ad opera dell'attività nucleasica 5'→3' della DNA polimerasi, con la conseguente separazione dei fluorocromi reporter e quencher e la produzione di un segnale fluorescente. Ad ogni ciclo di PCR vengono generate quantità crescenti di sonde scisse e, parallelamente, il segnale cumulativo dei fluorocromi reporter aumenta. Poiché i due fluorocromi reporter specifici vengono misurati a lunghezze d'onda definite, la rilevazione e la discriminazione dei target amplificati di *Plasmodium* e di IC possono avvenire simultaneamente.

# Reagenti e materiali

## Reagenti e controlli cobas® Malaria

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® Malaria

### Test cobas® Malaria

Conservare a 2-8°C

Cassetta per 192 test (P/N 09352511190)

Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit 192 test
<b>Soluzione proteinasi (PASE)</b>	Tampone Tris, < 0,05% EDTA, cloruro di calcio, acetato di calcio, 8% proteinasi (p/v), glicerolo  EUH210: Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta. EUH208: Contiene subtilisina da <i>Bacillus subtilis</i> . Può provocare una reazione allergica.	22,3 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	21,2 ml
<b>Tampone di eluizione (EB)</b>	Tampone Tris, 0,2% metil-4 idrossibenzoato	21,2 ml
<b>Master Mix Reagente 1 (MMX-R1)</b>	Acetato di manganese, idrossido di potassio, < 0,1% sodio azide	7,5 ml
<b>Malaria Master Mix Reagente 2 (Malaria MMX-R2)</b>	Tampone tricina, acetato di potassio, glicerolo, 18% dimetilsolfossido, Tween 20, EDTA, < 0,06% dATP, dGTP, dCTP, < 0,14% dUTP, < 0,01% primer upstream e downstream di <i>Plasmodium</i> e IC, < 0,01% sonde fluorescenti marcate con <i>Plasmodium</i> , < 0,01% sonda fluorescente marcata con IC, < 0,01% aptamero oligonucleotidico, < 0,01% DNA polimerasi Z05D, < 0,01% enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasi) (batterico), < 0,1% sodio azide	9,7 ml

**Tabella 2** cobas® Malaria Control Kit**cobas® Malaria Control Kit**

Conservare a 2-8°C

(P/N 09352520190)

Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
<b>Controllo positivo Malaria (Malaria (+) C)</b>	<p>&lt; 0,001% RNA sintetico (stabilizzato e rivestito con proteine) di <i>Plasmodium</i> incapsulato in proteina di rivestimento batteriofago MS2, plasma umano normale, DNA e RNA di <i>Plasmodium</i> non rilevabili con le metodiche PCR</p> <p>&lt; 0,1% conservante ProClin® 300**</p>	10,4 ml (16 × 0,65 ml)	 <p><b>AVVERTIMENTO</b>  H317: Può provocare una reazione allergica cutanea.  H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.  P261: Evitare di respirare la nebbia o i vapori.  P273: Non disperdere nell'ambiente.  P280: Indossare guanti protettivi.  P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.  P362 + P364: Togliere gli indumenti contaminati.  P501: Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione dei rifiuti autorizzato.  55965-84-9 Massa di reazione di 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-one e 2-metil-2H-isotiazol-3-one (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 09051554190)

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, DNA e RNA di <i>Plasmodium</i> non rilevabili con le metodiche PCR  < 0,1% conservante ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	 <p><b>AVVERTIMENTO</b>  H317: Può provocare una reazione allergica cutanea.  P261: Evitare di respirare la nebbia o i vapori.  P272: Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro.  P280: Indossare guanti protettivi.  P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.  P362 + P364: Togliere gli indumenti contaminati.  P501: Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione dei rifiuti autorizzato.  55965-84-9 Massa di reazione di 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-one e 2-metil-2H-isotiazol-3-one (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) guanidina tiocianato***, 5% (p/v) polidocanolo***, 2% (p/v) ditiotreitolo***, citrato di sodio diidrato	4 × 875 ml	 <p><b>PERICOLO</b></p> <p>H302: Nocivo per ingestione.</p> <p>H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari.</p> <p>H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.</p> <p>EUH032: A contatto con acidi libera gas molto tossici.</p> <p>EUH071: Corrosivo per le vie respiratorie.</p> <p>P273: Non disperdere nell'ambiente.</p> <p>P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso/proteggere l'udito.</p> <p>P301 + P330 + P331: IN CASO DI INGESTIONE: Sciacquare la bocca. NON provocare il vomito.</p> <p>P303 + P361 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle.</p> <p>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.</p> <p>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.</p> <p>593-84-0 Guanidina tiocianato            9002-92-0 Polidocanolo            3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercapto-2,3-butandiolo</p>

Reagenti	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento**
<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® Malaria**. Consultare l'elenco dei materiali aggiuntivi necessari (Tabella 9).

\*\* 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 7.

I reagenti che non sono ancora stati caricati sui **cobas® 5800/6800/8800 Systems** devono essere conservati alla temperatura indicata nella Tabella 5.

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

Reagente	Temperatura di conservazione
<b>cobas® Malaria - 192</b>	2-8°C
<b>cobas® Malaria Control Kit</b>	2-8°C
<b>cobas® NHP Negative Control Kit</b>	2-8°C
<b>cobas® omni Lysis Reagent</b>	2-8°C
<b>cobas® omni MGP Reagent</b>	2-8°C
<b>cobas® omni Specimen Diluent</b>	2-8°C
<b>cobas® omni Wash Reagent</b>	15-30°C

## Requisiti per la manipolazione dei reagenti per il cobas® 5800 System

Dopo il caricamento sul cobas® 5800 System, i reagenti sono conservati alla temperatura appropriata e la loro 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. Nella Tabella 6 vengono fornite all'utente informazioni utili sulle condizioni di manipolazione dei reagenti previste per il cobas® 5800 System.

**Tabella 6** Scadenza dei reagenti sul cobas® 5800 System

Reagente	Data di scadenza del kit	Stabilità del kit aperto	Numero di sedute per cui il kit può essere usato	Stabilità a bordo
cobas® Malaria – 192	Data non superata	90 giorni dal primo utilizzo*	Max 40 sedute	Max 36 giorni
cobas® Malaria Control Kit	Data non superata	Non applicabile <sup>a</sup>	Non applicabile	Max 36 giorni
cobas® NHP Negative Control Kit	Data non superata	Non applicabile <sup>a</sup>	Non applicabile	Max 36 giorni
cobas® <b>omni</b> Lysis Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas® <b>omni</b> MGP Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas® <b>omni</b> Specimen Diluent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas® <b>omni</b> Wash Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile

<sup>a</sup> Reagenti monouso

\* Il calcolo inizia dalla prima volta che il reagente viene caricato sul cobas® 5800 System.

## Requisiti per la manipolazione dei reagenti per i cobas® 6800/8800 Systems

Dopo il caricamento sui cobas® 6800/8800 Systems, i reagenti sono conservati alla temperatura appropriata e la loro data di scadenza viene monitorata dal sistema. I sistemi consentono l'uso dei reagenti soltanto se sono rispettate tutte le condizioni descritte nella Tabella 7. I sistemi impediscono automaticamente l'uso dei reagenti scaduti. La Tabella 7 fornisce all'utente informazioni utili sulle condizioni di manipolazione dei reagenti previste per i cobas® 6800/8800 Systems.

**Tabella 7** 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® Malaria – 192	Data non superata	90 giorni dal caricamento*	Max 40 sedute	Max 40 ore
cobas® Malaria Control Kit	Data non superata	Non applicabile <sup>a</sup>	Non applicabile	Max 10 ore
cobas® NHP Negative Control Kit	Data non superata	Non applicabile <sup>a</sup>	Non applicabile	Max 10 ore
cobas® <b>omni</b> Lysis Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas® <b>omni</b> MGP Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas® <b>omni</b> Specimen Diluent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile
cobas® <b>omni</b> Wash Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento*	Non applicabile	Non applicabile

<sup>a</sup> Reagenti monouso

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

## Altri materiali necessari per il cobas® 5800 System

**Tabella 8** Materiali e consumabili per l'utilizzo sul **cobas® 5800 System**

<b>Materiale</b>	<b>P/N</b>
Provetta per la raccolta di sangue intero Roche	08827907001
<b>cobas® omni</b> Processing Plate 24	08413975001
<b>cobas® omni</b> Amplification Plate 24	08499853001
<b>cobas® omni</b> Liquid Waste Plate 24	08413983001
Puntale CORE TIPS con filtro, 1 ml	04639642001
Puntale CORE TIPS con filtro, 300 µl	07345607001
<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 oppure Sacchetto per rifiuti solidi con inserto	07435967001 oppure 08030073001

## Altri materiali necessari per i cobas® 6800/8800 Systems

**Tabella 9** Materiali e consumabili per l'uso sui **cobas® 6800/8800 Systems**

<b>Materiale</b>	<b>P/N</b>
Provetta per la raccolta di sangue intero Roche	08827907001
<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 oppure Sacchetto per rifiuti solidi con inserto	07094361001 oppure 08030073001

## Strumentazione e software necessari

Il pacchetto di analisi cobas® Malaria per il cobas® 5800 System dovrà essere installato sul cobas® 5800 System. Il software x800 Data Manager per il cobas® 5800 System è preinstallato nel sistema. Il cobas® Synergy software dovrà essere installato.

Il software cobas® 6800/8800 e il pacchetto di analisi cobas® Malaria 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 10** Strumentazione

<b>Apparecchiatura</b>	<b>P/N</b>
<b>cobas® 5800 System</b>	<b>08707464001</b>
<b>cobas® 6800 System (opzione mobile)</b>	05524245001 e 06379672001
<b>cobas® 6800 System (fisso)</b>	05524245001 e 06379664001
<b>cobas® 8800 System</b>	05412722001
Modulo di inserimento dei campioni per i <b>cobas® 6800/8800 Systems</b>	06301037001
<b>Opzioni per pipettamento e creazione di pool</b>	<b>P/N</b>
Licenza elettronica per il <b>cobas® Synergy</b> software ( <b>cobas® 5800 System</b> )	09311246001
Licenza elettronica per il <b>cobas® Synergy</b> software ( <b>cobas® 6800/8800 Systems</b> )	09311238001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001
Hamilton MICROLAB® STARlet IVD	04872649001

Per ulteriori informazioni, consultare l'Assistenza Utente del cobas® 5800 System o l'Assistenza Utente dei cobas® 6800/8800 Systems. Per ulteriori informazioni sulle provette primarie e secondarie compatibili con gli strumenti, consultare l'Assistente Utente del software cobas® Synergy.

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

## Avvertenze 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>15,16</sup> Questa procedura deve essere eseguita esclusivamente da personale esperto nella manipolazione di materiale infettivo e nell'uso del test **cobas®** Malaria e dei **cobas®** 5800/6800/8800 Systems, nonché dello strumento opzionale Hamilton MICROLAB® STAR IVD/STARlet con il software **cobas® Synergy**.
- 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 0,6% in acqua distillata o deionizzata oppure seguire le procedure previste dal proprio laboratorio.
- I kit **cobas®** Malaria Control Kit e **cobas®** NHP Negative Control Kit contengono plasma derivato da sangue umano. Anche i test del plasma umano normale eseguiti con le metodiche PCR non hanno rilevato la presenza di DNA e RNA rilevabili di Malaria. Allo stato attuale, tuttavia, nessun metodo di analisi garantisce con assoluta certezza che i prodotti derivati da sangue umano non trasmettano agenti infettivi.
- L'additivo nella provetta per la raccolta di sangue intero Roche contiene cloridrato di guanidina. Impedire il contatto diretto tra il cloridrato di guanidina e l'ipoclorito di sodio (candeggina) o altri reagenti fortemente reattivi, ad esempio acidi o basici. Queste miscele possono rilasciare un gas nocivo. In caso di fuoriuscita dell'additivo contenente cloridrato di guanidina, pulire con acqua e un detergente da laboratorio idoneo. Se l'additivo fuoriuscito contiene agenti potenzialmente infettivi, pulire la superficie interessata PRIMA con acqua e un detergente da laboratorio e poi con ipoclorito di sodio allo 0,6%.
- 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.
- In caso di incidenti gravi che dovessero verificarsi durante l'uso di questo test, inviare una segnalazione all'autorità competente locale e al produttore.

## 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 **cobas® omni** Lysis Reagent 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.
- L'additivo nella provetta per la raccolta di sangue intero Roche contiene cloridrato di guanidina, una sostanza chimica potenzialmente pericolosa. Evitare il contatto di questo additivo con la pelle, gli occhi e le mucose. In caso di contatto, lavare immediatamente con abbondante acqua per prevenire possibili ustioni.
- I kit **cobas®** Malaria, **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 **cobas® omni** Lysis Reagent, contenente guanidina tiocianato, entri in contatto con la soluzione 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 prevenire eventuali contaminazioni, è necessario sostituire i guanti durante la manipolazione dei campioni, dei kit **cobas®** Malaria e dei 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 0,6% in acqua deionizzata o distillata. Successivamente pulire la superficie con etanolo al 70%.
- In caso di fuoriuscite di liquidi sullo strumento **cobas®** 5800, attenersi alle istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del **cobas®** 5800 System per pulire e decontaminare accuratamente la superficie dello strumento.
- In caso di fuoriuscite di liquidi sugli strumenti **cobas®** 6800/8800, attenersi alle istruzioni contenute nell'Assistenza Utente dei **cobas®** 6800/8800 Systems per pulire e decontaminare accuratamente 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.

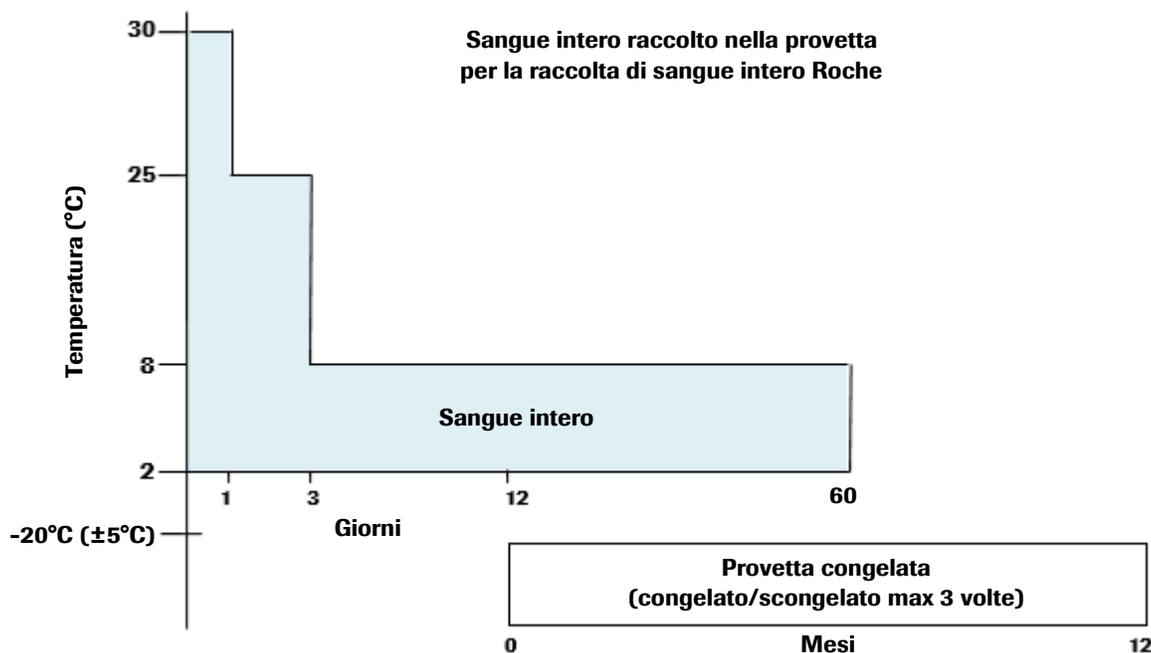
- Conservare tutti i campioni dei donatori alle temperature indicate.
- La stabilità dei campioni risente delle temperature elevate.
- Centrifugare i campioni a 1000 RCF (forza centrifuga relativa) per 2 minuti.

### Campioni di donatori viventi

- Il sangue intero contenuto nella provetta per la raccolta di sangue intero Roche può essere utilizzato con il test **cobas® Malaria**. Per la manipolazione e la centrifugazione, attenersi alle istruzioni fornite dal produttore della provetta di raccolta del campione.
- Il sangue intero contenuto nella provetta per la raccolta di sangue intero Roche può essere conservato per massimo 60 giorni alle condizioni descritte di seguito:
  - A più di 8°C, i campioni possono essere conservati per 72 ore a una temperatura massima di 25°C (e per 24 ore a 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. Inoltre, la provetta per la raccolta di sangue intero Roche può essere conservata a -20°C ( $\pm 5^\circ\text{C}$ ) entro i primi 12 giorni dal prelievo e per un massimo di 6 mesi, con 3 cicli di congelamento/scongelamento. Vedere la Figura 1.

**Figura 1** Condizioni di conservazione dei campioni nelle provette per la raccolta di sangue intero Roche

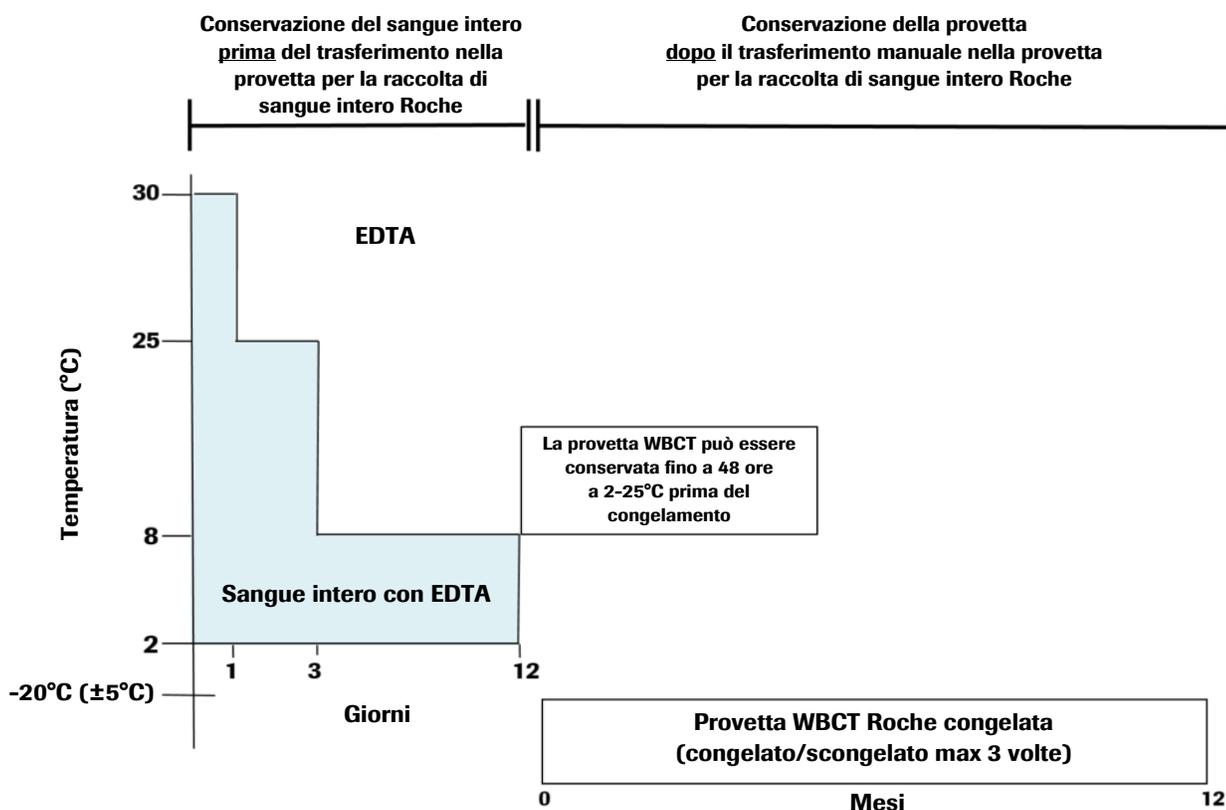


- Se non è disponibile una provetta per la raccolta di sangue intero Roche (*Whole Blood Collection Tube: WBCT*) di un donatore, ad esempio perché la provetta si è danneggiata o il sangue intero del donatore non è stato prelevato con una provetta Roche WBCT, è possibile utilizzare un campione di sangue intero con anticoagulante EDTA con il test **cobas® Malaria**.
- Prima di eseguire il test **cobas® Malaria**, è necessario **trasferire manualmente** 1,1 ml di sangue intero EDTA nella provetta per la raccolta di sangue intero Roche.
- Il sangue intero raccolto in EDTA può essere conservato per massimo 12 giorni prima della diluizione nella provetta per la raccolta di sangue intero Roche, alle condizioni riportate di seguito:
  - A più di 8°C, i campioni possono essere conservati per 72 ore a una temperatura massima di 25°C (e per 24 ore a 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. Fare riferimento alla Figura 2.
- Dopo la diluizione nella provetta di raccolta del sangue intero, conservare per massimo 48 ore a 2-25°C.

A parte nei casi sopra descritti, i campioni diluiti nella provetta per la raccolta di sangue intero Roche sono stabili a -20°C (±5°C) per 12 mesi e con 3 cicli di congelamento/scongelo, purché vengano congelati entro 48 ore dalla diluizione. Vedere la Figura 2.

Per l'eventuale spedizione, imballare ed etichettare i campioni come previsto dai regolamenti nazionali e/o internazionali per il trasporto di campioni e agenti eziologici.

**Figura 2** Condizioni per la conservazione dei campioni di donatori viventi raccolti in anticoagulante EDTA



## Istruzioni per l'uso

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

Per il pipettamento automatico e la creazione di un pool di aliquote da più campioni primari, è possibile utilizzare il software **cobas® Synergy** insieme allo strumento Hamilton MICROLAB® STAR IVD, come componente opzionale dei **cobas® 5800/6800/8800 Systems**. Per maggiori informazioni, consultare l'Assistenza Utente del software **cobas® Synergy**.

### Note sulla procedura

- Non utilizzare i reagenti **cobas® Malaria**, il **cobas® Malaria Control Kit**, il **cobas® NHP Negative Control Kit** o i reagenti **cobas® omni** dopo la data di scadenza.
- Non riutilizzare i consumabili. Sono esclusivamente monouso.
- Per la corretta manutenzione degli strumenti, consultare l'Assistenza Utente del **cobas® 5800 System**.
- Per i dettagli sulle procedure opzionali per la creazione dei pool e la corretta manutenzione degli strumenti, consultare l'Assistenza Utente del **cobas® Synergy** software, secondo necessità.
- I risultati non validi potrebbero essere influenzati da svariati fattori, tra cui, ma non solo, le caratteristiche dei campioni, le sostanze interferenti e i flussi di lavoro pre-analitici.

## Esecuzione del test cobas® Malaria sul cobas® 5800 System

La procedura del test è descritta dettagliatamente nell'Assistenza Utente del cobas® 5800 System. La Figura 3 sottostante riassume la procedura. Per i dettagli sulle procedure opzionali per la creazione dei pool, consultare l'Assistenza Utente del cobas® Synergy software, secondo necessità.

**Figura 3** Procedura del test cobas® Malaria

<b>1</b>	Pipettamento e creazione di pool
<b>2</b>	Caricare i rack per campioni sul sistema: <ul style="list-style-type: none"><li>• Caricare i rack per campioni sul sistema</li><li>• Ordinare i test manualmente, se non è disponibile nessun ordine LIS</li></ul>
<b>3</b>	Caricare i reagenti e i consumabili segnalati dal sistema: <ul style="list-style-type: none"><li>• Caricare le cassette dei reagenti specifici per il test</li><li>• Caricare i minirack per i controlli</li><li>• Caricare i puntali di estrazione</li><li>• Caricare i puntali di eluizione</li><li>• Caricare le piastre di estrazione</li><li>• Caricare le piastre per rifiuti liquidi</li><li>• Caricare le piastre di amplificazione</li><li>• Caricare la cassetta MGP</li><li>• Ricaricare il diluente per campioni</li><li>• Ricaricare il reagente di lisi</li><li>• Ricaricare il reagente di lavaggio</li></ul>
<b>4</b>	Avviare la seduta selezionando il pulsante Start processing nell'interfaccia utente; tutte le sedute successive si avvieranno automaticamente, a meno che non vengano posticipate manualmente
<b>5</b>	Rivedere i risultati
<b>6</b>	Rimuovere le provette campione e tapparle Pulire lo strumento: <ul style="list-style-type: none"><li>• Svuotare le cassette dei reagenti</li><li>• Svuotare i minirack per i controlli</li><li>• Svuotare il cassetto per piastre di amplificazione</li><li>• Svuotare i rifiuti liquidi</li><li>• Svuotare i rifiuti solidi</li></ul>

## Esecuzione del test cobas® Malaria sui cobas® 6800/8800 Systems

La procedura del test è descritta dettagliatamente nell'Assistenza Utente dei cobas® 6800/8800 Systems. Ulteriori informazioni sulle procedure opzionali sono eventualmente disponibili nell'Assistenza Utente del software cobas® Synergy. Figura 4 sottostante riassume la procedura.

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

<b>1</b>	Pipettamento e creazione di pool
<b>2</b>	Eeguire la procedura di accesso al sistema Premere Avvio per preparare il sistema Ordinare i test
<b>3</b>	Caricare i reagenti e i consumabili segnalati dal sistema: <ul style="list-style-type: none"><li>• Ricaricare il reagente di lavaggio, il reagente di lisi e il diluente</li><li>• Ricaricare le piastre di estrazione e le piastre di amplificazione</li><li>• Ricaricare le biglie di vetro magnetiche</li><li>• Ricaricare il reagente specifico per il test</li><li>• Ricaricare le cassette di controllo</li><li>• Ricaricare i rack portapuntali</li><li>• Sostituire il rack per puntali otturati</li></ul>
<b>4</b>	Avviare la seduta: <ul style="list-style-type: none"><li>• Caricare i rack con i campioni</li><li>• Selezionare il pulsante di avvio nell'interfaccia</li></ul>
<b>5</b>	Rivedere ed esportare i risultati
<b>6</b>	Scaricamento dei consumabili: <ul style="list-style-type: none"><li>• Rimuovere le piastre di amplificazione dal modulo analitico</li><li>• Scaricare le cassette dei controlli vuote</li><li>• Svuotare i rifiuti solidi</li><li>• Svuotare i rifiuti liquidi</li></ul>

## Risultati

Il **cobas**® 5800 System o i **cobas**® 6800/8800 Systems identificano l'acido nucleico di *Plasmodium* automaticamente e simultaneamente nei campioni e nei controlli.

### Controllo di qualità e validità dei risultati sul **cobas**® 5800 System

Il **cobas**® 5800 System è preimpostato in modo da eseguire i controlli (positivo e negativo) con ogni seduta, tuttavia è possibile chiedere ad un tecnico Roche e/o all'assistenza clienti Roche di configurare l'esecuzione dei controlli con una frequenza minore, in base alle procedure del laboratorio e/o ai regolamenti locali.

- Nel **cobas**® 5800 System e/o nel report, verificare se sono presenti eventuali flag e i risultati associati, in modo da confermare la validità dei controlli.
- I campioni associati sono validi se non sono presenti flag per nessuno dei quattro controlli.

I risultati vengono considerati automaticamente non validi dal **cobas**® 5800 System se il controllo negativo o i controlli positivi non sono validi.

### Risultati dei controlli sul **cobas**® 5800 System

I risultati dei controlli sono visualizzati nell'app “Controls” del software **cobas**® 5800.

- I controlli sono contrassegnati come “validi” nella colonna del risultato del controllo se tutti i target del controllo sono validi. I controlli sono contrassegnati come “non validi” nella colonna del risultato del controllo se tutti i target del controllo sono non validi.
- Ai controlli “non validi” viene associato un avviso nella colonna degli avvisi. Nella vista dettagliata viene spiegato il motivo per cui il controllo è contrassegnato come non valido e vengono mostrati gli eventuali avvisi.
- Se il controllo positivo non è valido, ripetere il test del controllo positivo e di tutti i campioni associati. Se il controllo negativo non è valido, ripetere il test sia sui controlli, sia su tutti i campioni associati.

**Tabella 11** Flag per i controlli negativi e positivi sul **cobas**® 5800 System

Controllo negativo	Flag	Risultato di controllo	Interpretazione
(-) C	Viene visualizzato un flag	Invalid	L'intero batch è considerato non valido se il risultato del controllo (-) C non è valido.
Controllo positivo	Flag	Risultato di controllo	Interpretazione
Malaria (+) C	Viene visualizzato un flag	Invalid	L'intero batch è considerato non valido se il risultato del controllo Malaria (+) C non è valido.

Se uno dei controlli non è valido, ripetere il test del controllo (o dei controlli) in questione e di tutti i campioni associati.

## Controllo di qualità e validità dei risultati sui cobas® 6800/8800 Systems

- Insieme ad ogni batch vengono analizzati un controllo negativo [(-) C] e un controllo positivo [Malaria (+) 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 due controlli.

Il software **cobas**® 6800/8800 considera automaticamente non validi i risultati in caso di fallimento dei controlli negativo e positivo.

## Flag dei controlli

**Tabella 12** 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
Malaria (+) C	Q02	Invalid	L'intero batch è considerato non valido se il risultato del controllo Malaria (+) 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**® 5800/6800/8800 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 il controllo positivo e il controllo negativo del batch corrispondente.

Per ogni campione vengono misurati simultaneamente due parametri: *Plasmodium* e controllo interno. I risultati finali del test **cobas**® Malaria per i campioni sono visualizzati nel software. Oltre ai risultati generali, nel software **cobas**® 5800/6800/8800 vengono visualizzati anche i risultati dei singoli target, che dovranno essere interpretati applicando i seguenti criteri:

**Tabella 13** Risultati per i singoli target e relativa interpretazione

Risultati dei target	Interpretazione
Malaria Non-Reactive	Nessun segnale rilevato per i target Plasmodium e IC.
Malaria Reactive	Segnale rilevato per il target Plasmodium; il segnale per il target IC potrebbe essere stato rilevato o non rilevato.
Invalid	Segnali del target e IC non rilevati.

Se si utilizza il **cobas**® Synergy software, la revisione del calcolo del risultato finale deve essere eseguita tramite il **cobas**® Synergy software.

## Ulteriori informazioni sull'interpretazione dei risultati sul cobas® 5800 System

I risultati dei campioni vengono visualizzati nel cobas® 5800 System. Si consiglia di eseguire la revisione dei risultati nel cobas® Synergy software.

- I campioni associati a un batch di controllo valido (secondo la definizione attribuita nella configurazione dei controlli del sistema in uso) sono visualizzati come “Validi” nella colonna “Risultato di controllo”. I campioni associati a un batch di controllo non valido sono visualizzati come “Non validi” nella colonna “Risultato di controllo”.
- Se i controlli associati di un risultato campione sono non validi, verrà aggiunto un flag specifico al risultato campione nel modo seguente:
  - Q05D: validazione dei risultati non riuscita a causa di un controllo positivo non valido
  - Q06D: validazione dei risultati non riuscita a causa di un controllo negativo non valido
- I valori nella colonna “Risultati” relativi ai singoli risultati dei target dei campioni devono essere interpretati nel modo indicato nella Tabella 11.
  - Il cobas® 5800 System visualizza i singoli risultati dei target. I risultati generali sono visualizzati soltanto nella vista risultati del cobas® Synergy software.
- Per informazioni più dettagliate sui risultati e sui flag dei campioni, consultare l'Assistenza Utente del cobas® 5800 System.

## Ripetizione di un test su singolo campione

È necessario ripetere il test per le provette campione con un risultato finale Invalid per il target.

## Limiti della procedura

- Il test cobas® Malaria è stato valutato soltanto in associazione con i prodotti cobas® Malaria 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® 5800 e cobas® 6800/8800 Systems.
- Il test cobas® Malaria deve essere utilizzato esclusivamente con i campioni di sangue intero prelevati con o trasferiti manualmente nella provetta per la raccolta di sangue intero Roche.
- L'affidabilità dei risultati è influenzata dal metodo di raccolta, conservazione e manipolazione dei campioni.
- La rilevazione del DNA e dell'RNA di *Plasmodium* dipende dal numero di globuli rossi infettati dalla malaria presenti nel campione e può essere influenzata dalle modalità di raccolta, conservazione e manipolazione dei campioni, da fattori legati al paziente (come l'età e la presenza di sintomi), dallo stadio dell'infezione e dalle dimensioni del pool.
- Anche se rare, le mutazioni nelle regioni altamente conservate di un genoma di *Plasmodium* coperte dal test cobas® Malaria possono alterare i legami dei primer e/o delle sonde e impedire di rilevare la presenza dell'organismo *Plasmodium*.
- A causa delle differenze intrinseche tra le tecnologie, si consiglia agli utenti, prima di passare da una tecnologia a un'altra, di svolgere uno studio sulla correlazione tra i metodi nel proprio laboratorio, così da qualificare tali differenze. Si consiglia agli utenti di elaborare norme/procedure specifiche.

## Equivalenza dei sistemi / confronto tra sistemi

L'equivalenza tra il cobas® 5800 System e i cobas® 6800/8800 Systems è stata dimostrata attraverso alcuni studi specifici. I risultati presentati in queste Istruzioni per l'uso si basano sull'equivalenza delle prestazioni tra tutti i sistemi.

# Valutazione delle prestazioni non cliniche eseguita sui cobas® 6800/8800 Systems

## Caratteristiche delle prestazioni

### Limite di sensibilità (LoD)

È stata determinata la sensibilità analitica per *Plasmodium falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. knowlesi*.

### Limite di sensibilità (LoD) con il sangue intero prima della lisi

Il limite di sensibilità (LoD) del test cobas® Malaria è stato determinato utilizzando globuli rossi infettati (*infected Red Blood Cells*: iRBC) da *Plasmodium falciparum* ceppo 3D7, diluiti in serie in sangue intero prima della lisi con il reagente caotropico.

La titolazione dello stock è stata assegnata come percentuale di parassitemia (globuli rossi infettati da *Plasmodium* per ml, stadio anello sincronizzato vivente, colorazione di Giemsa).

Sono state preparate 3 serie di diluizioni indipendenti dello stock di globuli rossi infettati nel sangue intero umano. Per ogni livello di concentrazione sono state preparate delle aliquote di 1,1 ml, successivamente inoculate nella provetta per la raccolta di sangue intero Roche e analizzate con il test cobas® Malaria.

Ogni serie di diluizione è stata analizzata con 3 lotti dei kit cobas® Malaria, con 45 repliche per lotto, per un totale di 135 repliche per livello di concentrazione. È stata eseguita l'analisi PROBIT dei dati combinati tra le serie di diluizioni e i lotti di reagenti, in modo tale da ottenere una stima del limite di sensibilità (LoD) al 50% e al 95%, oltre al limite inferiore e al limite superiore dell'intervallo di confidenza al 95% (Tabella 14). I tassi di reattività osservati in questo studio relativo al limite di sensibilità (LoD) sono riportati nella Tabella 15.

**Tabella 14** Risultati dell'analisi PROBIT sui dati LoD per iRBC di *Plasmodium* nel sangue intero umano

Analita	LoD 50% (iRBC/ml)	LoD 95% (iRBC/ml)
<i>Plasmodium falciparum</i>	0,6 (0,5-0,7)	2,9 (2,4-3,8)

**Tabella 15** Riepilogo dei tassi di reattività per *Plasmodium falciparum*

<i>Plasmodium falciparum</i> (iRBC/ml)	N. reattivi	N. di repliche valide	% reattivi	Limite inferiore di confidenza al 95% (monolaterale)
10,0	135	135	100,0%	97,8%
5,0	134	135	99,3%	96,5%
2,5	126	135	93,3%	88,7%
1,0	85	135	63,0%	55,6%
0,5	59	135	43,7%	36,5%
0	0	135	0,0%	0,0%

### Limite di sensibilità (LoD) con gli standard secondari Roche

Il limite di sensibilità (LoD) del test cobas® Malaria è stato determinato utilizzando gli standard secondari prodotti internamente per *Plasmodium falciparum* ceppo 3D7, *Plasmodium vivax* ATCC 30073 ceppo NICA e *Plasmodium knowlesi* ceppo A1-H.1. Gli standard secondari sono dei globuli rossi infettati che vengono quantificati prima della risospensione nel reagente caotropico pre-analitico, dopodiché vengono congelati e conservati fino all'esecuzione del test.

Con gli standard secondari sono state preparate 3 serie di diluizioni indipendenti, composte da una miscela di sangue intero e reagente caotropico, per simulare il campione finale. Ogni serie di diluizioni è stata analizzata con 3 lotti dei reagenti, con 65-66 repliche per lotto, per un totale di 197-198 repliche per livello di concentrazione. È stata eseguita l'analisi PROBIT dei dati combinati tra le serie di diluizioni e i lotti dei reagenti, in modo tale da ottenere una stima del limite di sensibilità (LoD) al 50% e al 95%, espresso in iRBC/mL di sangue intero, insieme al limite inferiore e al limite superiore degli intervalli di confidenza al 95% (Tabella 16). I tassi di reattività osservati in questo studio relativo al limite di sensibilità (LoD) sono riportati dalla Tabella 17 alla Tabella 19.

**Tabella 16** Risultati dell'analisi PROBIT sui dati LoD raccolti con iRBC di *Plasmodium* sottoposte a lisi e diluite in una miscela di sangue intero/reagente caotropico

Analita	LoD 50% (iRBC/ml)	LoD 95% (iRBC/ml)
<i>Plasmodium falciparum</i>	0,013 (0,011-0,014)	0,058 (0,049-0,071)
<i>Plasmodium vivax</i>	0,003 (0,002-0,003)	0,012 (0,010-0,015)
<i>Plasmodium knowlesi</i>	0,009 (0,008-0,011)	0,044 (0,037-0,054)

**Tabella 17** Riepilogo dei tassi di reattività per lo standard secondario di *Plasmodium falciparum*

<i>Plasmodium falciparum</i> (iRBC/ml)	N. reattivi	N. di repliche valide	% reattivi	Limite inferiore di confidenza al 95% (monolaterale)
0,130	197	197	100,0%	98,5%
0,052	187	198	94,4%	91,0%
0,026	151	198	76,3%	70,8%
0,013	94	198	47,5%	41,4%
0,007	60	198	30,3%	24,9%
0	0	198	0,0%	0,0%

**Tabella 18** Riepilogo dei tassi di reattività per lo standard secondario di *Plasmodium vivax*

<i>Plasmodium vivax</i> (iRBC/ml)	N. reattivi	N. di repliche valide	% reattivi	Limite inferiore di confidenza al 95% (monolaterale)
0,033	198	198	100,0%	98,5%
0,013	194	198	98,0%	95,4%
0,007	158	198	79,8%	74,5%
0,003	111	198	56,1%	50,0%
0,002	77	198	38,9%	33,1%
0	0	198	0,0%	0,0%

**Tabella 19** Riepilogo dei tassi di reattività per lo standard secondario di *Plasmodium knowlesi*

<i>Plasmodium knowlesi</i> (iRBC/ml)	N. reattivi	N. di repliche valide	% reattivi	Limite inferiore di confidenza al 95% (monolaterale)
0,195	198	198	100,0%	98,5%
0,078	196	198	99,0%	96,9%
0,039	186	198	94,0%	90,4%
0,020	153	198	77,3%	71,8%
0,010	108	198	54,6%	48,5%
0	0	198	0,0%	0,0%

### Limite di sensibilità (LoD) con Armored RNA

Il limite di sensibilità (LoD) del test **cobas**® Malaria per le 5 specie di *Plasmodium* è stato determinato anche utilizzando sequenze di Armored RNA e diluite in **cobas**® **omni** Specimen Diluent. Le sequenze di Armored RNA corrispondono alle regioni target dell'RNA ribosomiale 18S di *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale* e *Plasmodium knowlesi*.

Una serie di diluizioni è stata preparata in **cobas**® **omni** Specimen Diluent per ogni materiale e successivamente analizzata con 3 lotti diversi dei kit **cobas**® Malaria, con 23-24 repliche per lotto, per un totale di 71-72 repliche per livello di concentrazione. È stata eseguita l'analisi PROBIT dei dati combinati tra i lotti di reagenti, in modo tale da ottenere una stima del limite di sensibilità (LoD) al 50% e al 95%, oltre al limite inferiore e al limite superiore dell'intervallo di confidenza al 95% (Tabella 20). I tassi di reattività osservati in questo studio relativo al limite di sensibilità (LoD) sono riportati dalla Tabella 21 alla Tabella 25.

**Tabella 20** Risultati dell'analisi PROBIT con i dati LoD raccolti con Armored RNA di *Plasmodium* in cobas® **omni** Specimen Diluent

<b>Analita</b>	<b>LoD 50% (particelle Armored/ml)</b>	<b>LoD 95% (particelle Armored/ml)</b>
<i>Plasmodium falciparum</i>	8,2 (6,8-9,5)	27,9 (22,5-38,5)
<i>Plasmodium malariae</i>	9,0 (7,5-10,4)	32,2 (25,8-44,7)
<i>Plasmodium vivax</i>	8,2 (6,7-9,7)	33,1 (26,3-46,5)
<i>Plasmodium ovale</i>	9,5 (7,5-11,4)	59,0 (44,1-90,3)
<i>Plasmodium knowlesi</i>	6,6 (5,2-7,8)	23,7 (18,9-33,6)

**Tabella 21** Riepilogo dei tassi di reattività per RNA Armored di *Plasmodium falciparum* in cobas® **omni** Specimen Diluent

<b><i>Plasmodium falciparum</i> (particelle Armored/ml)</b>	<b>N. reattivi</b>	<b>N. di repliche valide</b>	<b>% reattivi</b>	<b>Limite inferiore di confidenza al 95% (monolaterale)</b>
100	72	72	100,0%	95,9%
50	72	72	100,0%	95,9%
25	66	72	91,7%	84,2%
12	50	72	69,4%	59,3%
6	25	72	34,7%	25,4%
0	0	72	0,0%	0,0%

**Tabella 22** Riepilogo dei tassi di reattività per RNA Armored di *Plasmodium malariae* in cobas® **omni** Specimen Diluent

<b><i>Plasmodium malariae</i> (particelle Armored/ml)</b>	<b>N. reattivi</b>	<b>N. di repliche valide</b>	<b>% reattivi</b>	<b>Limite inferiore di confidenza al 95% (monolaterale)</b>
100	72	72	100,0%	95,9%
50	72	72	100,0%	95,9%
25	64	71	90,1%	82,3%
12	42	72	58,3%	48,0%
6	25	72	34,7%	25,4%
0	0	72	0,0%	0,0%

**Tabella 23** Riepilogo dei tassi di reattività per RNA Armored di *Plasmodium vivax* in cobas® **omni** Specimen Diluent

<i>Plasmodium vivax</i> (particelle Armored/ml)	N. reattivi	N. di repliche valide	% reattivi	Limite inferiore di confidenza al 95% (monolaterale)
100	72	72	100,0%	95,9%
50	71	72	98,6%	93,6%
25	63	72	87,5%	79,2%
12	52	72	72,2%	62,2%
6	24	72	33,3%	24,2%
0	0	72	0,0%	0,0%

**Tabella 24** Riepilogo dei tassi di reattività per RNA Armored di *Plasmodium ovale* in cobas® **omni** Specimen Diluent

<i>Plasmodium ovale</i> (particelle Armored/ml)	N. reattivi	N. di repliche valide	% reattivi	Limite inferiore di confidenza al 95% (monolaterale)
100	72	72	100,0%	95,9%
50	69	72	95,8%	95,9%
25	52	72	72,2%	62,2%
12	41	72	56,9%	46,6%
6	28	72	38,9%	29,2%
0	0	72	0,0%	0,0%

**Tabella 25** Riepilogo dei tassi di reattività per RNA Armored di *Plasmodium knowlesi* in cobas® **omni** Specimen Diluent

<i>Plasmodium knowlesi</i> (particelle Armored/ml)	N. reattivi	N. di repliche valide	% reattivi	Limite inferiore di confidenza al 95% (monolaterale)
100	72	72	100,0%	95,9%
50	72	72	100,0%	95,9%
25	69	72	95,8%	89,6%
12	54	72	75,0%	65,2%
6	34	72	47,2%	37,1%
0	0	71	0,0%	0,0%

## Ripetibilità

Per determinare la ripetibilità del test **cobas**® Malaria sono stati applicati i seguenti standard:

- Standard secondario Roche per *Plasmodium falciparum*
- Standard secondario Roche per *Plasmodium vivax*
- Standard secondario Roche per *Plasmodium knowlesi*

Per ogni specie di *Plasmodium*, nell'analisi sono stati utilizzati 3 membri del pannello costituiti da sangue intero diluito in **cobas**® PCR media (CPM) arricchito a 3 livelli di concentrazione differenti ( $\sim 2,5 \times \text{LoD}$ ,  $\sim 1 \times \text{LoD}$  e  $\sim 0,5 \times \text{LoD}$ ).

Sono stati eseguiti i test per le seguenti componenti di variabilità:

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

Con ognuno dei 3 pannelli sono state testate circa 21 repliche, per complessive 63 repliche con ogni lotto di reagenti. Tutti i dati validi sulla ripetibilità sono stati valutati calcolando la percentuale dei risultati del test reattivi per ogni livello di concentrazione e per tutte le componenti variabili.

I limiti degli intervalli di confidenza al 95% bilaterali per ogni percentuale di reattività sono stati calcolati per ognuno dei 3 livelli di ogni specie che sono stati analizzati su 3 giorni, con 3 lotti dei reagenti e 3 **cobas**® 8800 Systems. Il test **cobas**® Malaria è ripetibile su più giorni, lotti dei reagenti e strumenti. I risultati riguardanti la variabilità tra i lotti dei reagenti sono riassunti nella Tabella 26.

**Tabella 26** Riepilogo della ripetibilità tra i lotti dei reagenti del test **cobas**® Malaria

Specie	Concentrazione	Lotto di reagenti	% reattivi (repliche reattive/valide)	Limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95%	Limite superiore dell'intervallo di confidenza al 95%
<i>Plasmodium falciparum</i>	$\sim 2,5 \times \text{LoD}$	1	100,0% (66/66)	94,6%	100,0%
		2	100,0% (66/66)	94,6%	100,0%
		3	100,0% (65/65)	94,5%	100,0%
	$\sim 1 \times \text{LoD}$	1	98,5% (65/66)	91,8%	100,0%
		2	90,9% (60/66)	81,3%	96,6%
		3	93,9% (62/66)	85,2%	98,3%
	$\sim 0,5 \times \text{LoD}$	1	72,7% (48/66)	60,4%	83,0%
		2	74,2% (49/66)	62,0%	84,2%
		3	81,8% (54/66)	70,4%	90,2%

Specie	Concentrazione	Lotto di reagenti	% reattivi (repliche reattive/valide)	Limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95%	Limite superiore dell'intervallo di confidenza al 95%
<i>Plasmodium vivax</i>	~2,5 × LoD	1	100,0% (66/66)	94,6%	100,0%
		2	100,0% (66/66)	94,6%	100,0%
		3	100,0% (66/66)	94,6%	100,0%
	~1 × LoD	1	97,0% (64/66)	89,5%	99,6%
		2	97,0% (64/66)	89,5%	99,6%
		3	100,0% (66/66)	94,6%	100,0%
	~0,5 × LoD	1	78,8% (52/66)	67,0%	87,9%
		2	78,8% (52/66)	67,0%	87,9%
		3	81,8% (54/66)	70,4%	90,2%
<i>Plasmodium knowlesi</i>	~2,5 × LoD	1	100% (66/66)	94,6%	100,0%
		2	98,5% (65/66)	91,8%	100,0%
		3	98,5% (65/66)	91,8%	100,0%
	~1 × LoD	1	97,0% (64/66)	89,5%	99,6%
		2	90,9% (60/66)	81,3%	96,6%
		3	93,9% (62/66)	85,2%	98,3%
	~0,5 × LoD	1	77,3% (51/66)	65,3%	86,7%
		2	86,4% (57/66)	75,7%	93,6%
		3	68,2% (45/66)	55,6%	79,1%

## Verifica del genotipo

La capacità del test **cobas**® Malaria di rilevare le 5 specie di *Plasmodium* è stata dimostrata anche analizzando un totale di 10 campioni clinici univoci ciascuno per *Plasmodium falciparum*, *malariae*, *vivax* e *ovale*, oltre allo standard secondario interno per *Plasmodium knowlesi* ceppo A1-H.1. Ogni campione clinico è stato analizzato in forma non diluita (1 replica) e dopo la diluizione (1 replica) in sangue intero umano negativo per *Plasmodium* fino a 3 × LoD del test **cobas**® Malaria. Lo standard *Plasmodium knowlesi* è stato analizzato dopo la diluizione, fino a 3 × LoD, con 1 replica per ciascuno dei 10 campioni di sangue intero umano negativo per *Plasmodium*. Tutti i campioni e le colture sono stati identificati in forma non diluita e a circa 3 × LoD.

## Sensibilità con i campioni clinici

La sensibilità clinica del test **cobas**® Malaria è stata valutata internamente utilizzando 100 campioni clinici individuali (61 campioni di *P. falciparum* e 39 campioni di *P. vivax*) la cui positività per *Plasmodium* era stata confermata mediante esame al microscopio. Tutti i campioni sono stati quantificati come tracciabili a *Plasmodium falciparum* o agli standard secondari per *Plasmodium vivax* di Roche. Ogni campione clinico è stato analizzato individualmente, dopo la diluizione in una miscela composta da sangue intero umano negativo per *Plasmodium* e reagente caotropico, fino a circa 5 × LoD e 3 × LoD del test **cobas**® Malaria (Tabella 27). Tutti i campioni sono stati identificati come reattivi.

**Tabella 27** Sensibilità clinica per *Plasmodium falciparum* e *vivax*

Specie	Concentrazione	N. di reattivi/ Campioni totali	Sensibilità (%) (IC al 95%)
<i>P. falciparum</i>	~5 × LoD	61/61	100% (94,1-100%)
<i>P. falciparum</i>	~3 × LoD	61/61	100% (94,1-100%)
<i>P. vivax</i>	~5 × LoD	39/39	100% (91,0-100%)
<i>P. vivax</i>	~3 × LoD	39/39	100% (91,0-100%)

Nota: IC = intervallo di confidenza bilaterale secondo il metodo binomiale (esatto) di Clopper-Pearson

## Specificità analitica

### Specificità analitica - reattività crociata

Per determinare la specificità analitica del test **cobas**® Malaria è stata fatta una valutazione della reattività crociata con 16 microrganismi, a livelli di concentrazione pari a  $10^5$ - $10^6$  copie, copie del genoma, cellule, CFU o UI/ml, che includevano 6 isolati virali, 1 parassita, 8 ceppi batterici e 1 isolato di lievito (Tabella 28). I microrganismi (fino a 5 campioni clinici e/o 1 coltura ciascuno) sono stati aggiunti al sangue intero umano negativo per *Plasmodium* e successivamente analizzati con e senza il *Plasmodium* aggiunto a una concentrazione pari a circa 3 × LoD del test **cobas**® Malaria. I microrganismi analizzati non hanno causato reazioni crociate o interferenze con il test **cobas**® Malaria.

**Tabella 28** Microrganismi analizzati ai fini della specificità analitica

<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	<i>Candida albicans</i>	Parvovirus B19
<i>Babesia microti</i>	Virus della chikungunya	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Borrelia burgdorferi</i>	<i>Cutibacterium acnes</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Borrelia hermsii</i>	Virus dell'epatite B	Virus del Nilo Occidentale
<i>Borrelia parkeri</i>	Virus dell'epatite C	-
<i>Borrelia recurrentis</i>	Virus dell'immunodeficienza umana	-

### Specificità analitica e sostanze interferenti

#### Sostanze interferenti di tipo endogeno

Sono stati analizzati campioni di sangue intero con livelli patologicamente elevati di trigliceridi (33 g/l), emoglobina ( $\geq 200$  g/l), bilirubina non coniugata (684  $\mu$ mol/l), albumina (60 g/l) e DNA umano (2 mg/l), con e senza *Plasmodium falciparum* aggiunto fino a una concentrazione pari a circa 3 × LoD del test **cobas**® Malaria. I campioni contenenti queste sostanze endogene non hanno causato reazioni crociate o interferenze con il test **cobas**® Malaria.

## Sostanze interferenti di tipo esogeno

Sono stati analizzati campioni di sangue intero umano negativo per *Plasmodium* con concentrazioni patologicamente elevate di farmaci (Tabella 29), con e senza *Plasmodium* aggiunto fino a una concentrazione pari a circa  $3 \times \text{LoD}$  del test cobas® Malaria. Queste sostanze esogene non hanno causato reazioni crociate o interferenze con il test cobas® Malaria.

**Tabella 29** Concentrazioni dei farmaci addizionati al sangue intero

Nome del principio attivo	Concentrazione
Acetaminofene (paracetamolo)	1324 µmol/l
Acido acetilsalicilico (aspirina)	3620 µmol/l
Acido ascorbico (vitamina C)	342 µmol/l
Atenololo	33,8 µmol/l
Atorvastatina	1,34 µmol/l
Atovaquone	1227 µmol/l
Azitromicina	15,3 µmol/l
Fluoxetina	11,2 µmol/l
Ibuprofene	2425 µmol/l
Loratadina	0,78 µmol/l
Naprossene	2170 µmol/l
Paroxetina	3,63 µmol/l
Fenilefrina HCl	491 µmol/l
Sertralina	3,03 µmol/l

## Tasso globale d'errore del sistema

Il tasso globale d'errore del sistema per il test cobas® Malaria è stato determinato eseguendo 100 repliche con il sangue intero arricchito con *Plasmodium falciparum* a una concentrazione del target pari a circa  $3 \times \text{LoD}$ . Prima di eseguire il test cobas® Malaria, ogni campione del pannello è stato diluito nella provetta per la raccolta di sangue intero Roche. I risultati di questo studio dimostrano che tutte le ripetizioni del test hanno prodotto risultati reattivi, con un tasso globale d'errore del sistema pari allo 0%. L'intervallo di confidenza esatto al 95% bilaterale è pari allo 0% per il limite inferiore e al 3,6% per il limite superiore [0%: 3,6%].

# Valutazione delle prestazioni cliniche

## Sensibilità clinica

La sensibilità clinica del test cobas® Malaria è stata valutata con 417 campioni individuali (237 campioni clinici di *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. malariae* più 180 campioni artefatti di *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. knowlesi*) la cui positività per *Plasmodium* era stata confermata tramite test NAT alternativi. Lo studio si è svolto presso 3 laboratori di analisi, ognuno dei quali ha analizzato circa 1/3 dei campioni sia in forma non diluita che dopo la diluizione 1:6 (per simulare un pool di 6) con 3 lotti diversi del test cobas® Malaria.

In questo studio, la sensibilità clinica del test cobas® Malaria è stata del 100% con i campioni non diluiti (417 su 417: intervallo di confidenza (IC) bilaterale secondo il metodo binomiale (esatto) di Clopper-Pearson al 95%: 99,1-100%) (Tabella 30) e del 99,8% con i campioni diluiti 1:6 (416 su 417; IC al 95%: 98,7-99,99%) (Tabella 31). Per quanto riguarda il campione diluito che è risultato non reattivo per il test cobas® Malaria, il valore Ct ottenuto dal test cobas® Malaria del campione non diluito è coerente con una concentrazione pari a circa  $3 \times \text{LoD}$ . Il risultato sarebbe una concentrazione pari a  $\sim 0,5 \times \text{LoD}$  dopo la diluizione 1:6, con un tasso di reattività del 78% circa in base alla distribuzione di Poisson.

**Tabella 30** Sensibilità clinica dei campioni non diluiti con positività confermata per *Plasmodium*

Diluizione	Tipo di campione	Specie	Totale campioni confermati positivi per <i>Plasmodium</i>	N. reattivi	Stima di sensibilità	IC 95% esatto
Non diluiti	Generale	n/d	417	417	100,0%	(99,1%, 100,0%)
Non diluiti	Clinici/artefatti	<i>P. falciparum</i>	154	154	100,0%	(97,6%, 100,0%)
Non diluiti	Clinici/artefatti	<i>P. malariae</i>	37	37	100,0%	(90,5%, 100,0%)
Non diluiti	Clinici/artefatti	<i>P. vivax</i>	154	154	100,0%	(97,6%, 100,0%)
Non diluiti	Artefatti	<i>P. ovale</i>	36	36	100,0%	(90,3%, 100,0%)
Non diluiti	Artefatti	<i>P. knowlesi</i>	36	36	100,0%	(90,3%, 100,0%)

Nota: IC = intervallo di confidenza bilaterale secondo il metodo binomiale (esatto) di Clopper-Pearson, n/a = non applicabile.

**Tabella 31** Sensibilità clinica dei campioni diluiti 1:6 con positività confermata per *Plasmodium*

Diluizione	Tipo di campione	Specie	Totale campioni confermati positivi per <i>Plasmodium</i>	N. reattivi	Stima di sensibilità	IC 95% esatto
1:6	Generale	n/d	417	416	99,8%	(98,7%, 99,99%)
1:6	Clinici/artefatti	<i>P. falciparum</i>	154	153	99,4%	(96,4%, 99,98%)
1:6	Clinici/artefatti	<i>P. malariae</i>	37	37	100,0%	(90,5%, 100,0%)
1:6	Clinici/artefatti	<i>P. vivax</i>	154	154	100,0%	(97,6%, 100,0%)
1:6	Artefatti	<i>P. ovale</i>	36	36	100,0%	(90,3%, 100,0%)
1:6	Artefatti	<i>P. knowlesi</i>	36	36	100,0%	(90,3%, 100,0%)

Nota: IC = intervallo di confidenza bilaterale secondo il metodo binomiale (esatto) di Clopper-Pearson, n/a = non applicabile.

## Specificità clinica

La specificità clinica del test **cobas**® Malaria è stata valutata con le donazioni di sangue (circa 1 ml di sangue intero prelevato in una provetta per la raccolta di sangue intero Roche) sottoposte a screening presso 3 laboratori esterni. Nello studio sono stati impiegati 4 lotti diversi di reagenti del test **cobas**® Malaria. La specificità clinica del test **cobas**® Malaria è stata calcolata come percentuale (intervallo di confidenza bilaterale al 95%) dei donatori con stato negativo per *Plasmodium* che sono risultati non reattivi per il test **cobas**® Malaria. In totale 20.187 donazioni valutabili sono state analizzate come campioni individuali, 67.612 donazioni valutabili sono state analizzate in pool di 6 (PP6) e 159 donazioni valutabili, da donatori esclusi in base al questionario sul rischio di malaria, sono state analizzate come campioni individuali.

## Risultati dei test individuali

La Tabella 32 mostra il confronto tra i risultati del test **cobas**® Malaria e lo stato di 20.187 donazioni valutabili per le quali sono stati analizzati i campioni individuali di sangue intero.

**Tabella 32** Confronto tra i risultati del test **cobas**® Malaria in base allo stato della donazione - test delle donazioni individuali

Risultato di <b>cobas</b> ® Malaria	Stato donazione* Positivo n (%)	Stato donazione* Negativo n (%)	Stato donazione* Non risolto n (%)	N. totale
<b>Reattivi</b>	0 (0,000)	0 (0,000)	0 (0,000)	0
<b>Non reattivi</b>	0 (0,000)	20.187 (100,000)	0 (0,000)	20.187
<b>Totale</b>	0	20.187	0	20.187

Nota: in questa tabella di riepilogo sono incluse solo le donazioni valutabili.

\* Lo stato della donazione è stato assegnato sulla base dei modelli di reattività analitica osservati sulla donazione indice (test indice iniziale e supplementare) e/o sulla base dei risultati degli studi di follow-up.

La specificità clinica del test **cobas**® Malaria per le donazioni analizzate individualmente è stata del 100% (20.187 su 20.187; IC al 95%: 99,982-100%) (Tabella 33).

**Tabella 33** Specificità clinica del test **cobas**® Malaria - test delle donazioni individuali

Parametro	Numero totale di donazioni con stato negativo	<b>cobas</b> ® Malaria Reattivi	<b>cobas</b> ® Malaria Non reattivi	Stima percentuale (IC esatto 95%)
<b>Specificità clinica</b>	20.187	0	20.187	100,000 (99,982, 100,000)

Nota: in questa tabella di riepilogo sono incluse solo le donazioni valutabili. IC = intervallo di confidenza bilaterale secondo il metodo binomiale (esatto) di Clopper-Pearson.

Per quanto riguarda i campioni di sangue intero analizzati individualmente, 339 (99,4%) lotti validi del test **cobas**® Malaria hanno prodotto 20.187 (98,92%) risultati validi. Complessivamente il 99,50% delle donazioni analizzate individualmente in questo studio ha prodotto risultati validi dopo il test iniziale e dopo l'eventuale test ripetuto. Il test non è stato ripetuto sullo 0,43% delle donazioni analizzate individualmente.

## Risultati dei test in pool di 6

Nella Tabella 34 è riportato il confronto tra i risultati del test cobas® Malaria e lo stato delle 67.612 donazioni valutabili, dalle quali sono stati presi i campioni analizzati in PP6.

**Tabella 34** Confronto tra i risultati del test cobas® Malaria in base allo stato della donazione - pool di 6 (livello donazione)

Risultato di cobas® Malaria	Stato donazione* Positivo n (%)	Stato donazione* Negativo n (%)	Stato donazione* Non risolto n (%)	N. totale
Reattivi	0 (0,000)	0 (0,000)	0 (0,000)	0
Non reattivi	0 (0,000)	67.612 (100,000)	0 (0,000)	67.612
<b>Totale</b>	0	67.612	0	67.612

Nota: in questa tabella di riepilogo sono incluse solo le donazioni valutabili.

\* Lo stato della donazione è stato assegnato sulla base dei modelli di reattività analitica osservati sulla donazione indice (test indice iniziale e supplementare) e/o sulla base dei risultati degli studi di follow-up.

La specificità clinica del test cobas® Malaria per le donazioni analizzate in PP6 è stata del 100% (67.612 su 67.612; IC al 95%: 99,995-100%) (Tabella 35).

**Tabella 35** Specificità clinica del test cobas® Malaria - donazioni analizzate solo in pool di 6 (livello donazione)

Parametro	Numero totale di donazioni con stato negativo	cobas® Malaria Reattivi	cobas® Malaria Non reattivi	Stima percentuale (IC esatto 95%)
<b>Specificità clinica</b>	67.612	0	67.612	100,000 (99,995, 100,000)

Nota: in questa tabella di riepilogo sono incluse solo le donazioni valutabili. IC = intervallo di confidenza bilaterale secondo il metodo binomiale (esatto) di Clopper-Pearson.

Nella Tabella 36 è riassunta la reattività dei pool per i 11.291 PP6 validi. Tutti gli 11.291 pool (100%) hanno prodotto risultati non reattivi per il test **cobas**® Malaria. La specificità complessiva del test **cobas**® Malaria rispetto ai pool è stata del 100% (11.291/11.291 pool; IC al 95%: 99,967-100%).

**Tabella 36** Reattività dei pool di donatori di sangue volontari

Categoria	Numero di pool	% pool analizzati
Totale pool analizzati <sup>a</sup>	11.291	100,0
Pool non reattivi <sup>b</sup>	11.291	100,0
Pool non reattivi con tutte donazioni negative	11.291	100,0
Pool non reattivi con almeno una donazione positiva	0	0
Pool non reattivi senza donazione positiva ma con almeno una donazione con stato non risolto	0	0
Pool reattivi <sup>b</sup>	0	0
Pool reattivi con almeno una donazione positiva	0	0
Pool reattivi con donazioni con stato negativo (pool falsi reattivi)	0	0
Pool reattivi senza donazione positiva ma con almeno una donazione con stato non risolto	0	0

<sup>a</sup> Nota: 135/11.291 pool contenevano < 6 donazioni.

<sup>b</sup> Lo stato della donazione è stato assegnato sulla base dei modelli di reattività analitica osservati sulla donazione indice (test indice iniziale e supplementare) e/o sulla base dei risultati degli studi di follow-up.

Per quanto riguarda i campioni dei donatori analizzati in PP6, un totale di 355 (98,6%) lotti validi del test **cobas**® Malaria hanno prodotto 11.291 (98,31%) risultati validi e 1 risultato valido per 1 pool secondario. Complessivamente il 99,82% delle donazioni analizzate in PP6 in questo studio ha prodotto risultati validi dopo il test iniziale e dopo l'eventuale test ripetuto. Il test non è stato ripetuto sullo 0,15% delle donazioni analizzate in PP6.

## Donatori esclusi

La Tabella 37 mostra il confronto tra i risultati del test **cobas**® Malaria e lo stato di 159 donazioni valutabili per le quali sono stati analizzati i campioni individuali di sangue intero ottenuti dai donatori esclusi. Nessuno dei donatori che erano stati esclusi è stato confermato come positivo per l'infezione da *Plasmodium*.

**Tabella 37** Confronto tra i risultati del test **cobas**® Malaria in base allo stato della donazione - donatori esclusi

Risultato di cobas® Malaria	Stato donazione* Positivo n (%)	Stato donazione* Negativo n (%)	Stato donazione* Non risolto n (%)	N. totale
Reattivi	0 (0,000)	0 (0,000)	0 (0,000)	0
Non reattivi	0 (0,000)	159 (100,000)	0 (0,000)	159
Totale	0	159	0	159

Nota: in questa tabella di riepilogo sono incluse solo le donazioni valutabili.

\* Lo stato della donazione è stato assegnato sulla base dei modelli di reattività analitica osservati sulla donazione indice (test indice iniziale e supplementare) e/o sulla base dei risultati degli studi di follow-up.

## Riproducibilità

La riproducibilità del test cobas® Malaria è stata dimostrata analizzando un pannello di 16 campioni, costituito da un campione negativo e 15 campioni positivi per una delle 5 specie di *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. malariae*, *P. vivax*, *P. ovale* e *P. knowlesi*) a 3 concentrazioni diverse (circa  $0,5 \times$ ,  $1-2 \times$  e  $3 \times$  LoD del test cobas® Malaria per ognuna delle 5 specie di *Plasmodium*).

In ognuno dei tre laboratorio, gli operatori hanno eseguito 5 giornate di test con ognuno dei 3 lotti di reagenti del test cobas® Malaria, completando 2 sedute valide (ovvero 2 batch, con ogni batch costituito da 1 pannello e 2 controlli indipendenti) al giorno e totalizzando così 270 test per campione del pannello della specie di *Plasmodium* a ognuna delle 3 concentrazioni.

Tutti i batch e i risultati dei test validi sono stati analizzati calcolando la percentuale dei risultati di reattività al test per ogni componente del pannello [Tabella 38 (*P. falciparum*), Tabella 39 (*P. malariae*), Tabella 40 (*P. vivax*), Tabella 41 (*P. ovale*) e Tabella 42 (*P. knowlesi*)]. Questo studio dimostra che il test cobas® Malaria per l'uso sui cobas® 6800/8800 Systems offre prestazioni riproducibili con tutte le variabili esaminate (lotto, laboratorio, giorno, batch e intra-batch) per la rilevazione della *Plasmodium*.

**Tabella 38** Risultati del test riassunti in base a laboratorio, lotto, giorno e batch (componenti del pannello positivi) - *Plasmodium falciparum*

Concentrazione di <i>Plasmodium falciparum</i>	ID del laboratorio	% di risultati reattivi nel laboratorio	ID del lotto	% di risultati reattivi nel lotto	ID del giorno	% di risultati reattivi nel giorno	ID del batch	% di risultati reattivi nel batch
$\sim 0,5 \times$ LoD	1	80,0% (72/90)	1	95,6% (86/90)	1	83,3% (45/54)	1	82,2% (111/135)
$\sim 0,5 \times$ LoD	2	83,3% (75/90)	2	70,0% (63/90)	2	79,6% (43/54)	2	87,4% (118/135)
$\sim 0,5 \times$ LoD	3	91,1% (82/90)	3	88,9% (80/90)	3	88,9% (48/54)	-	-
$\sim 0,5 \times$ LoD	-	-	-	-	4	81,5% (44/54)	-	-
$\sim 0,5 \times$ LoD	-	-	-	-	5	90,7% (49/54)	-	-
$1-2 \times$ LoD	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (135/135)
$1-2 \times$ LoD	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (54/54)	2	100,0% (135/135)
$1-2 \times$ LoD	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (54/54)	-	-
$1-2 \times$ LoD	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
$1-2 \times$ LoD	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-
$\sim 3 \times$ LoD	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (135/135)
$\sim 3 \times$ LoD	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (54/54)	2	100,0% (135/135)
$\sim 3 \times$ LoD	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (54/54)	-	-
$\sim 3 \times$ LoD	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
$\sim 3 \times$ LoD	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-

Nota: LoD = limite di sensibilità.

**Tabella 39** Risultati del test riassunti in base a laboratorio, lotto, giorno e batch (componenti del pannello positivi) - *Plasmodium malariae*

Concentrazione di <i>Plasmodium malariae</i>	ID del laboratorio	% di risultati reattivi nel laboratorio	ID del lotto	% di risultati reattivi nel lotto	ID del giorno	% di risultati reattivi nel giorno	ID del batch	% di risultati reattivi nel batch
~0,5 × LoD	1	74,4% (67/90)	1	88,9% (80/90)	1	72,2% (39/54)	1	79,3% (107/135)
~0,5 × LoD	2	78,9% (71/90)	2	60,0% (54/90)	2	81,5% (44/54)	2	76,3% (103/135)
~0,5 × LoD	3	80,0% (72/90)	3	84,4% (76/90)	3	75,9% (41/54)	-	-
~0,5 × LoD	-	-	-	-	4	85,2% (46/54)	-	-
~0,5 × LoD	-	-	-	-	5	74,1% (40/54)	-	-
1-2×LoD	1	96,6% (86/89)	1	100,0% (90/90)	1	98,1% (53/54)	1	97,8% (132/135)
1-2×LoD	2	100,0% (90/90)	2	94,4% (85/90)	2	100,0% (54/54)	2	97,8% (131/134)
1-2×LoD	3	96,7% (87/90)	3	98,9% (88/89)	3	98,1% (53/54)	-	-
1-2×LoD	-	-	-	-	4	96,3% (52/54)	-	-
1-2×LoD	-	-	-	-	5	96,2% (51/53)	-	-
~3 × LoD	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (135/135)
~3 × LoD	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (54/54)	2	100,0% (135/135)
~3 × LoD	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (54/54)	-	-
~3 × LoD	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
~3 × LoD	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-

Nota: LoD = limite di sensibilità.

**Tabella 40** Risultati del test riassunti in base a laboratorio, lotto, giorno e batch (componenti del pannello positivi) - *Plasmodium vivax*

Concentrazione di <i>Plasmodium vivax</i>	ID del laboratorio	% di risultati reattivi nel laboratorio	ID del lotto	% di risultati reattivi nel lotto	ID del giorno	% di risultati reattivi nel giorno	ID del batch	% di risultati reattivi nel batch
~0,5 × LoD	1	90,0% (81/90)	1	96,7% (87/90)	1	96,3% (52/54)	1	91,9% (124/135)
~0,5 × LoD	2	93,3% (84/90)	2	86,7% (78/90)	2	87,0% (47/54)	2	94,1% (127/135)
~0,5 × LoD	3	95,6% (86/90)	3	95,6% (86/90)	3	96,3% (52/54)	-	-
~0,5 × LoD	-	-	-	-	4	92,6% (50/54)	-	-
~0,5 × LoD	-	-	-	-	5	92,6% (50/54)	-	-
1-2×LoD	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (134/134)
1-2×LoD	2	100,0% (89/89)	2	100,0% (89/89)	2	100,0% (54/54)	2	100,0% (135/135)
1-2×LoD	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (53/53)	-	-
1-2×LoD	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
1-2×LoD	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-
~3 × LoD	1	100,0% (89/89)	1	100,0% (89/89)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (134/134)
~3 × LoD	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (54/54)	2	100,0% (135/135)
~3 × LoD	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (53/53)	-	-
~3 × LoD	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
~3 × LoD	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-

Nota: LoD = limite di sensibilità.

**Tabella 41** Risultati del test riassunti in base a laboratorio, lotto, giorno e batch (componenti del pannello positivi) - *Plasmodium ovale*

Concentrazione di <i>Plasmodium ovale</i>	ID del laboratorio	% di risultati reattivi nel laboratorio	ID del lotto	% di risultati reattivi nel lotto	ID del giorno	% di risultati reattivi nel giorno	ID del batch	% di risultati reattivi nel batch
~0,5 × LoD	1	78,9% (71/90)	1	90,0% (81/90)	1	75,9% (41/54)	1	74,1% (100/135)
~0,5 × LoD	2	73,3% (66/90)	2	55,6% (50/90)	2	77,8% (42/54)	2	82,2% (111/135)
~0,5 × LoD	3	82,2% (74/90)	3	88,9% (80/90)	3	85,2% (46/54)	-	-
~0,5 × LoD	-	-	-	-	4	79,6% (43/54)	-	-
~0,5 × LoD	-	-	-	-	5	72,2% (39/54)	-	-
1-2×LoD	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (54/54)	1	99,3% (134/135)
1-2×LoD	2	98,9% (89/90)	2	98,9% (89/90)	2	98,1% (53/54)	2	100,0% (135/135)
1-2×LoD	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (54/54)	-	-
1-2×LoD	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
1-2×LoD	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-
~3 × LoD	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (135/135)
~3 × LoD	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (54/54)	2	100,0% (135/135)
~3 × LoD	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (54/54)	-	-
~3 × LoD	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
~3 × LoD	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-

Nota: LoD = limite di sensibilità.

**Tabella 42** Risultati del test riassunti in base a laboratorio, lotto, giorno e batch (componenti del pannello positivi) - *Plasmodium knowlesi*

Concentrazione di <i>Plasmodium knowlesi</i>	ID del laboratorio	% di risultati reattivi nel laboratorio	ID del lotto	% di risultati reattivi nel lotto	ID del giorno	% di risultati reattivi nel giorno	ID del batch	% di risultati reattivi nel batch
~0,5 × LoD	1	81,1% (73/90)	1	84,4% (76/90)	1	85,2% (46/54)	1	78,5% (106/135)
~0,5 × LoD	2	81,1% (73/90)	2	74,4% (67/90)	2	74,1% (40/54)	2	84,4% (114/135)
~0,5 × LoD	3	82,2% (74/90)	3	85,6% (77/90)	3	83,3% (45/54)	-	-
~0,5 × LoD	-	-	-	-	4	81,5% (44/54)	-	-
~0,5 × LoD	-	-	-	-	5	83,3% (45/54)	-	-
1-2×LoD	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (135/135)
1-2×LoD	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (54/54)	2	100,0% (135/135)
1-2×LoD	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (54/54)	-	-
1-2×LoD	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
1-2×LoD	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-
~3 × LoD	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (135/135)
~3 × LoD	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (54/54)	2	100,0% (135/135)
~3 × LoD	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (54/54)	-	-
~3 × LoD	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
~3 × LoD	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-

Nota: LoD = limite di sensibilità.

## Popolazione asintomatica in una zona endemica

La concordanza percentuale positiva (CPP) dei risultati del test cobas® Malaria con quelli dell'esame al microscopio è stata valutata analizzando i campioni di sangue intero raccolti da 199 individui sani in un'area dove la malaria è endemica.

Tutti i campioni sono stati raccolti in Nigeria durante i mesi di agosto 2021 [41 (20,6%)] e settembre 2021 [158 (79,4%)]. Per determinare lo stato di ogni campione sono stati impiegati alcuni test NAT alternativi (ALT NAT), gli esami al microscopio e i risultati della ricerca di antigeni e anticorpi.

Su 199 campioni valutabili raccolti, 4 campioni (4 su 199: 2,0%) sono risultati positivi per *P. falciparum* sia in base al test cobas® Malaria che in base all'esame al microscopio, pertanto sono stati classificati con lo stato positivo (infezione in corso). La CPP è stata del 100% (4 su 4; IC al 95%: 51,0-100%). Nel caso di 73 soggetti sono stati ottenuti risultati reattivi per il test cobas® Malaria, ma negativi in base all'esame al microscopio; i risultati ALT NAT hanno confermato la positività per 72 soggetti (infezione in corso) e la negatività per 1 soggetto (infezione pregressa confermata dalla presenza di anticorpi). Il test cobas® Malaria ha identificato l'acido nucleico di *Plasmodium* (reattività confermata) in 72 campioni per i quali non era stata rilevata nessuna evidenza di infezione in base all'esame al microscopio o ai test per la determinazione dell'antigene, ovvero con i metodi comunemente impiegati per rilevare l'infezione da malaria nelle aree endemiche.

## Informazioni supplementari

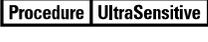
### Caratteristiche del test

<b>Tipo di campione</b>	Sangue intero nella provetta per la raccolta di sangue intero Roche
<b>Quantità di campione richiesta</b>	850 µl
<b>Quantità di campione analizzata</b>	500 µl

## Simboli

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

**Tabella 43** Simboli sulle etichette dei prodotti Roche per la diagnostica mediante PCR

 <b>Age/DOB</b> Età o data di nascita	 Dispositivo non idoneo ai test POC	 <b>UI QS per reazione PCR;</b> 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>Assigned Range [copies/mL]</b> Intervallo assegnato (copie/ml)	 <b>Distributore</b> <i>(Nota: il paese e/o la regione applicabili potrebbero essere indicati sotto il simbolo.)</i>	 <b>SN</b> Numero di serie
 <b>Assigned Range [IU/mL]</b> Intervallo assegnato (UI/ml)	 Non riutilizzare	 <b>Site</b> Laboratorio
 <b>EC REP</b> Mandatario nella Comunità Europea	 Femmina	 <b>Procedure Standard</b> Procedura standard
 <b>BARCODE</b> Foglio di dati del barcode	 Solo per valutazione delle prestazioni IVD	 <b>STERILE EO</b> Sterilizzazione con ossido di etilene
 <b>LOT</b> Codice del batch	 <b>GTIN</b> Global Trade Item Number	 Conservare al buio
 Rischio biologico	 Importatore	 Limiti di temperatura
 <b>REF</b> Numero di catalogo	 <b>IVD</b> Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	 <b>TDF</b> File di definizione del test
 <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>	 <b>LLR</b> Limite inferiore dell'intervallo assegnato	 <b>Alto</b>
 <b>Collect Date</b> Data di raccolta	 Maschio	 <b>Procedure UltraSensitive</b> Procedura ultrasensibile
 Consultare le istruzioni per l'uso	 Fabbricante	 <b>UDI</b> Identificazione univoca del dispositivo
 $\Sigma$ Contenuto sufficiente per <n> test	 <b>CONTROL -</b> Controllo negativo	 <b>ULR</b> Limite superiore dell'intervallo assegnato
 <b>CONTENT</b> Contenuto del kit	 <b>NON STERILE</b> Non sterile	 <b>Urine Fill Line</b> Riga di riempimento urina
 <b>CONTROL</b> Controllo	 <b>?</b> 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.
 Data di produzione	 <b>#</b> Numero del paziente	 <b>Utilizzare entro la data</b>
 Dispositivo idoneo ai test POC	 <b>Staccare qui</b>	
 Dispositivo idoneo all'autodiagnosi	 <b>CONTROL +</b> Controllo positivo	
	 <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 importatore

**Tabella 44** Produttore e importatore



Roche Molecular Systems, Inc.  
US Highway 202 South  
Branchburg, NJ 08876 USA  
[www.roche.com](http://www.roche.com)

Prodotto in USA



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany

## Marchi e brevetti

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

## Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Str. 116  
68305 Mannheim  
Germany



## Bibliografia

1. Milner DA, Jr. Malaria pathogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2018;8:a025569.
2. World Health Organization. Malaria [factsheet]. Updated 29 March 2023; Accessed 26 April 2023. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malaria>.
3. World Health Organization. *A Framework for Malaria Elimination*. WHO Press: Geneva; 2017. Accessed: 25 April 2023. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254761/9789241511988-eng.pdf?sequence=1>.
4. World Health Organization. *Screening Donated Blood for Transfusion-Transmissible Infections: Recommendations*. WHO Press: Geneva; 2009. Accessed: 23 February 2023. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241547888>.
5. Verra F, Angheben A, Martello E, et al. A systematic review of transfusion-transmitted malaria in non-endemic areas. *Malar J*. 2018;17:36.
6. Mungai M, Tegtmeier G, Chamberland M, Parise M. Transfusion-transmitted malaria in the United States from 1963 through 1999. *N Engl J Med*. 2001;344:1973-8.
7. O'Brien SF, Delage G, Seed CR, et al. The epidemiology of imported malaria and transfusion policy in 5 nonendemic countries. *Transfus Med Rev*. 2015;29:162-71.
8. Kitchen AD, Chiodini PL, Tossell J. Detection of malarial DNA in blood donors--evidence of persistent infection. *Vox Sang*. 2014;107:123-31.
9. Mangano VD, Perandin F, Tiberti N, et al. Risk of transfusion-transmitted malaria: evaluation of commercial ELISA kits for the detection of anti-Plasmodium antibodies in candidate blood donors. *Malar J*. 2019;18:17.
10. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8.
11. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93.
12. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78.
13. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7.
14. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
15. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. US Department of Health and Human Services: Bethesda, MD (USA); 2009. Accessed: 25 April 2023. <https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetyMicrobiologicalBiomedicalLaboratories-2009-P.PDF>.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*. 4th ed. M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA (USA); 2014.

## Revisione del documento

Informazioni sulla revisione del documento	
Doc Rev. 1.0 05/2024	Prima pubblicazione.

Per prendere visione del report sintetico sulla sicurezza e sulle prestazioni, utilizzare il seguente collegamento:  
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>