

cobas[®] HIV-1/HIV-2 Qualitative

Nukleinsyretest til brug på cobas[®] 6800/8800 Systems

Til in vitro-diagnostik

cobas[®] HIV-1/HIV-2 Qualitative	P/N: 07862113190
cobas[®] HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit	P/N: 07862091190
cobas[®] NHP Negative Control Kit	P/N: 07002220190
cobas[®] Specimen Pre-Extraction Reagent	P/N: 08064695190

Indholdsfortegnelse

Tilsigtet brug	4
Oversigt og forklaring af testen	4
Reagenser og materialer	7
cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative-reagenser og -kontroller	7
cobas omni-reagenser til prøveforberedelse	10
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent	11
Krav til opbevaring og håndtering af reagenser	12
Yderligere nødvendige materialer	13
Påkrævede instrumenter og software	14
Krav til forholdsregler og håndtering	14
Advarsler og forholdsregler	14
Håndtering af reagenser	15
God laboratoriepraksis	15
Indsamling, transport og opbevaring af prøver	16
Prøver	16
EDTA-plasma og -serumprøver	16
Dried Blood Spots (DBS)	17
Brugsanvisning	18
Procedurebemærkninger	18
Forberedelse af DBS-prøver	18
Kørsel af cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	19
Resultater	20
Kvalitetskontrol og validitet af resultater	20
Fortolkning af resultater	21
Begrænsninger ved procedurerne	22

Vurdering af ikke-klinisk performance 23

Vigtige egenskaber for performance.....	23
Detektionsgrænse (LoD).....	23
Reproducerbarhed	27
Bekræftelse af gruppe/undertype og inklusivitet	29
Specificitet.....	32
Serokonversionspaneler	32
Analytisk specificitet.....	34
Analytisk specificitet – interfererende stoffer	35
Korrelation.....	36
Systemfejlfrekvens	37
Krydskontaminering	37

Yderligere oplysninger..... 38

Vigtige testfunktioner	38
Symboler	39
Producent og distributører.....	40
Varemærker og patenter	40
Copyright.....	40
Referencer.....	41
Dokumentrevision	42

Tilsigtet brug

cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative-nukleinsyretesten til brug på **cobas® 6800/8800 Systems** er en *in vitro*-nukleinsyre-amplifikationstest til kvalitativ detektion og differentiering af human immundefektvirus (HIV) type 1 (HIV-1) og type 2 (HIV-2) i humant serum, plasma og Dried Blood Spots (DBS).

Testen er beregnet til brug som en hjælp til diagnosticering af HIV-1/HIV-2. Detektion af HIV-1- eller HIV-2-nukleinsyre indikerer tilstedeværelsen af hhv. en HIV-1- eller HIV-2-infektion. Tilstedeværelsen af HIV-1- eller HIV-2-nukleinsyre i plasma eller serum fra personer uden antistoffer mod HIV-1 eller HIV-2 indikerer tilstedeværelsen af en akut eller primær infektion. Hos børn, der fødes af HIV-smittede mødre og har antistoffer mod HIV-1 eller HIV-2 fra moderen, indikerer tilstedeværelsen af HIV-nukleinsyre en aktiv infektion. **cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative** kan også bruges til bekræftelse af en HIV-1- eller HIV-2-infektion hos en person med prøver, der er reaktive for HIV-1- eller HIV-2-antistoffer eller -antigener.

Oversigt og forklaring af testen

Baggrund

Human immundefektvirus (HIV) er det ætiologiske stof, der forårsager AIDS (erhvervet immundefekt syndrom).¹ HIV-1 er den fremherskende årsag til AIDS på verdensplan med over 35 millioner smittede personer.² Efter infektion kommer de smittede personer typisk i en klinisk stabil og relativ symptomfri fase, der kan vare i flere år. Uden antiretroviral behandling vil disse personer typisk udvikle AIDS, der fører til en reduktion af CD4+-celler fra immunsystemet, hvilket kan føre til modtagelighed over for opportunistiske infektioner og eventuel død.³ HIV-2, der hovedsageligt findes i Vestafrika, kan også forårsage AIDS. Det antages, at mellem 1 og 2 millioner mennesker er smittet med HIV-2 på verdensplan.

Forskellen mellem HIV-1 og HIV-2 er vigtig af flere forskellige årsager: (1) HIV-2 forekommer mindre virulent end HIV-1, med lavere virusbelastninger, et langsommere tab af CD4+-celler og en langsommere udvikling af øget modtagelighed for opportunistiske infektioner, (2) HIV-2-virusbelastninger kan blive forkert kvantificeret af HIV-1-virusbelastningstest, og (3) nogle HIV-1-medikamenter, særligt ikke-nukleoside revers transkriptasehæmmere, er ikke effektive mod HIV-2.⁴ Co-infektion med både HIV-1 og HIV-2 kan også forekomme. Co-infektion har ingen mærkbar effekt på den hastighed, som personer udvikler AIDS med, men det komplicerer monitoreringen af virusbelastningen og den antiretrovirale behandling.⁴ På grund af vigtigheden af at skelne mellem HIV-1- og HIV-2-infektion har de nationale og internationale retningslinjer inkluderet diagnosticeringen og differentieringen af HIV-1 og HIV-2 som et krav til korrekt diagnosticering af en HIV-infektion.^{5,6}

Begrundelse for PCR-test

Historisk set har HIV-test været baseret på patienternes antistof-reaktion på virusset. Selvom sådanne antistoffer er ineffektive til bekæmpelse af virusset, forekommer de hos næsten alle kronisk smittede patienter. Den store begrænsning ved antistoftest er den ugelange "venteperiode" ved en akut infektion før den første tilstedeværelse af en detektérbar antistof-reaktion. Denne venteperiode er reduceret med de "fjerdegenerations"-HIV-immunanalysetest, der detekterer HIV p24-antigen samt antistof.⁷ Nukleinsyreamplifikationstest kan dog muligvis reducere venteperioden for fjerdegenerations-immunanalysetest endnu mere på grund af følsomheden af PCR-metoder i forhold til proteinmetoderne.⁷

Afhængigt af risikoen for HIV-infektion hos den population, der testes, kan reduktionen af venteperioden fra nukleinsyretest være vigtig for både den enkelte person og samfundet.⁸ For en person giver diagnosticeringen af HIV under en akut infektion muligheden for øjeblikkelig behandling, hvilket potentielt kan forsinke sygdommens progression ved forhindring af skade på immunsystemet og ved bevaring af cellernes anti-HIV-immunreaktioner. Tidlig behandling kan også begrænse størrelsen og den genetiske diversitet af det virusreservoir der etableres, hvilket gør det nemmere at opnå en funktionel helbredelse af patienter, der behandles under akut infektion. For samfundet spiller akut smittede patienter en stor rolle ved overførsel af HIV, da disse patienter typisk har meget store virusbelastninger og ikke er klar over, at de er smittede. Identificering og behandling af disse patienter kan spille en altafgørende rolle i at stoppe spredningen af HIV-epidemier.^{9,10} PCR er allerede standard ved diagnosticeringen af HIV hos spædbørn, og PCRs høje sensitivitet og specificitet giver ikke kun mulighed for detektering af en akut infektion hos mennesker i alle aldre, men giver også mulighed for bekræftelse af en HIV-diagnose hos seropositive eller serologisk ubestemmelige personer.^{11,12}

Forklaring af testen

cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative er en kvalitativ test, der udføres på **cobas® 6800 System** og **cobas® 8800 System**.

cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative giver mulighed for samtidig detektion og diskrimination af HIV-1- og HIV-2-nukleinsyre i EDTA-plasma, serum og DBS fra smittede patienter. Der bruges to prober til detektion af HIV-1, men ikke til diskrimination af gruppe M-undertyper af HIV-1 og af HIV-1 gruppe O og gruppe N. Der bruges en tredje probe til detektion af HIV-2, men ikke til diskrimination af HIV-2 gruppe A og gruppe B.

Principper for proceduren

cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative er baseret på fuldt automatiseret prøveforberedelse (ekstrahering af nukleinsyrer og oprensning) efterfulgt af PCR-amplifikation og detektion. **cobas® 6800/8800 Systems** består af prøveforsyningsmodulet, transfermodulet, processeringsmodulet og analysemodulet. Automatiseret dataadministration udføres ved hjælp af **cobas® 6800/8800-softwaren**, som tilknytter testresultater til alle test som ikke-reaktive, reaktive eller invalide. Resultaterne kan gennemses direkte på skærmen, eksporteres eller udskrives i en rapport.

Nukleinsyre fra patientprøver og det tilsatte armored intern kontrol-RNA-molekyler (IC) (der fungerer som prøveforberedelse og kontrol af amplifikations-/detektionsprocessen) ekstraheres samtidigt. Derudover bruger testen tre eksterne kontroller: to positive og én negativ kontrol. De virale nukleinsyrer frigives derefter ved tilsætning af proteinase og lysisreagens i prøven. De frigivne nukleinsyrer binder sig til siliciumoverfladen på de tilsatte magnetiske glaspartikler. Ubundne stoffer og urenheder, som f.eks. denaturerede proteiner, cellepartikler og potentielle PCR-hæmmere, fjernes ved efterfølgende vaskereagenstrin, og oprensede nukleinsyrer elueres fra de magnetiske glaspartikler med elueringsbuffer ved forhøjet temperatur.

Selektiv amplifikation af target-nukleinsyre fra prøven opnås ved brug af target-virusspecifikke forward og reverse primere, som er udvalgt blandt bedst konserverede regioner i HIV-1- og HIV-2-genomer. HIV-1 gag-genet, HIV-1 LTR-regionen (dobbel target for HIV-1) og HIV-2 LTR-regionen amplificeres med **cobas® HIV-1/HIV-2**. Selektiv amplifikation af IC opnås ved brug af sekvensspecifikke forward og reverse primere, som vælges for ikke at have nogen homologi med HIV-1- eller HIV-2-genomer. Der anvendes et termostabilt DNA-polymerase-enzym til både revers transkription og PCR-amplifikation. Target- og IC-sekvenserne amplificeres samtidigt ved hjælp af en universel PCR-amplifikationsprofil med foruddefinerede temperaturtrin og cyklusantal. Master mix-blandingerne indeholder deoxyuridin trifosfat (dUTP) i stedet for deoxythymidin trifosfat (dTTP), som indarbejdes i det nyligt syntetiserede DNA (amplikon).¹³⁻¹⁵ Ethvert kontaminerende amplikon fra tidligere PCR-kørsler elimineres med AmpErase-enzymet, der er

inkluderet i PCR Master Mix, under den første termiske cyklus. Nylygt dannede amplikoner elimineres ikke, da AmpErase-enzymet inaktiveres, når det udsættes for temperaturer over 55 °C.

cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative master mix indeholder to detektionsprober, som er specifikke for HIV-1-targetsekvenser, én for HIV-2-targetsekvenser og én for IC. Proberne er mærket med target-specifikke fluorescerende rapportfarvestoffer, hvilket giver mulighed for samtidig detektion af HIV-1-target, HIV-2-target og IC i tre forskellige target-kanaler.^{16,17} Fluorescenssignalet fra de intakte prober undertrykkes af quencherfarvestoffet, når det ikke er bundet til target-sekvensen. Under PCR-amplifikationstrinnet medfører hybridiseringen af proberne til den specifikke enkeltstrengede DNA-template en spaltning af proben vha. 5' til 3'-exonukleaseaktiviteten i DNA-polymerasen, hvilket resulterer i separation af rapport- og quencherfarvestofferne samt generering af et fluorescenssignal. For hver PCR-cyklus genereres øgede mængder af spaltede prober, og det samlede signal fra rapportfarvestoffet øges tilsvarende. Der opnås real-time detektion og diskrimination af PCR-produkter ved at måle fluorescensen i de frigivne rapportfarvestoffer for hhv. virustargets og IC.

Reagenser og materialer

cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative-reagenser og -kontroller

Alle uåbnede reagenser og kontroller skal opbevares som anbefalet i Tabel 1 til Tabel 5.

Tabel 1 cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative

cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative		
Opbevares ved 2 til 8 °C. Kassette med 96 test (P/N 07862113190)		
Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit 96 test
Proteinaseopløsning (PASE)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, kalciumklorid, kalciumacetat, 8 % (w/v) proteinase EUH210: Sikkerhedsdatablad kan på anmodning rekvireres. EUH208: Indeholder subtilisin. Kan udløse allergisk reaktion.	13 ml
Intern kontrol (IC)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % armored intern kontrol-RNA-konstruktion (ikke-smitsomt RNA indkapslet i MS2-bakteriofag), < 0,002 % Poly rA RNA (syntetisk), < 0,1 % natriumazid	13 ml
Elueringsbuffer (EB)	Tris-buffer, 0,2 % methyl-4 hydroxybenzoat	13 ml
Master Mix-reagens 1 (MMX-R1)	Manganacetat, kaliumhydroxid, < 0,1 % natriumazid	5,5 ml
HIV-1/HIV-2 Master Mix-reagens 2 (HIV-1/HIV-2 MMX-R2)	Tricin-buffer, kaliumacetat, 18 % dimethylsulfoxid, glycerol, Tween 20, EDTA, < 0,06 % dATP, dCTP, dGTP, < 0,14 % dUTP, < 0,01% upstream- og downstream-primere for HIV-1, HIV-2 og intern kontrol, < 0,01 % fluorescensmærkede HIV-1- og HIV-2-prober, < 0,01 % fluorescensmærket intern kontrolprobe, < 0,01 % oligonukleotid aptamer, < 0,01 % Z05D DNA-polymerase, < 0,01 % AmpErase-enzym (uracil-N-glycosylase) (mikrobielt), < 0,1 % natriumazid	6 ml

Tabel 2 cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit**cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit**

Opbevares ved 2 til 8 °C.

(P/N 07862091190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel*
HIV-1M/HIV-2 Positive Control (HIV-1M/HIV-2 (+)C)	< 0,001 % syntetisk (armored) HIV-1 gruppe M RNA, indkapslet i MS2-bakteriofag proteinkappe, < 0,001 % syntetisk (armored) HIV-2 RNA indkapslet i MS2-bakteriofag proteinkappe, normalt humant plasma, ikke-reaktivt med godkendte test for antistoffer mod HIV-1/2; HIV-1 RNA og HIV-2 RNA kan ikke detekteres ved hjælp af PCR-metoder. 0,1 % ProClin® 300, konserveringsmiddel	5,2 ml (8 x 0,65 ml)	  ADVARSEL H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. P261: Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. P272: Tilsmudset arbejdstøj bør ikke fjernes fra arbejdspladsen. P280: Brug beskyttelseshandsker. P333 + P313: Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. P362 + P364: Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. P501: Indholdet/holderen bortskaffes til et godkendt affaldsmodtagelsesanlæg.
HIV-1O Positive Control (HIV-1O (+)C)	< 0,001 % syntetisk (armored) HIV-1 gruppe O RNA indkapslet i MS2-bakteriofag proteinkappe, normalt humant plasma, ikke-reaktiv ved godkendte test for HIV-1/2-antistoffer; HIV-1 RNA og HIV-2 RNA kan ikke detekteres ved hjælp af PCR-metoder. 0,1 % ProClin® 300, konserveringsmiddel	5,2 ml (8 x 0,65 ml)	  ADVARSEL H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. P261: Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. P272: Tilsmudset arbejdstøj bør ikke fjernes fra arbejdspladsen. P280: Brug beskyttelseshandsker. P333 + P313: Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. P362 + P364: Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. P501: Indholdet/holderen bortskaffes til et godkendt affaldsmodtagelsesanlæg.

* Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

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

Opbevares ved 2-8 °C.
(P/N 07002220190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel*
Normal Human Plasma Negative Control (NHP-NC)	Normalt humant plasma, ikke-reaktivt med godkendte test til antistoffer mod HIV-1/2; HIV-1 RNA og HIV-2 RNA kan ikke detekteres ved hjælp af PCR-metoder. < 0,1 % ProClin® 300, konserveringsmiddel	16 ml (16 x 1 ml)	  ADVARSEL H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. P261: Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. P272: Tilsmudset arbejdstøj bør ikke fjernes fra arbejdspladsen. P280: Brug beskyttelseshandsker. P333 + P313: Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. P362 + P364: Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. P501: Indholdet/beholderen bortskaffes til et godkendt affaldsmottagelsesanlæg.

* Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

cobas omni-reagenser til prøveforberedelse

Tabel 4 cobas omni-reagenser til prøveforberedelse*

Reagenser	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Opbevares ved 2 til 8 °C. (P/N 06997546190)	Magnetiske glaspartikler, tris-buffer, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat, < 0,1 % natriumazid	480 test	Ikke relevant
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Opbevares ved 2 til 8 °C. (P/N 06997511190)	Tris-buffer, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat, < 0,1 % natriumazid	4 x 875 ml	Ikke relevant
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Opbevares ved 2 til 8 °C. (P/N 06997538190)	43 % (w/w) guanidinthiocyanat***, 5 % (w/v) polidocanol***, 2 % (w/v) dithiothreitol, natriumcitratdihydrat	4 x 875 ml	  FARE H302 + H332: Farlig ved indtagelse eller indånding. H318: Forårsager alvorlig øjenskade. H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. EUH032: Udvikler meget giftig gas ved kontakt med syre. P261: Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. P273: Undgå udledning til miljøet. P280: Bær øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse. P304 + P340 + P312: VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. I tilfælde af ubehag ring til en GIFTINFORMATION/læge. P305 + P351 + P338 + P310: VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. P501: Indholdet/holderen bortskaffes til et godkendt affaldsmottagelsesanlæg. 593-84-0 guanidiniumthiocyanat 9002-92-0 polidocanol
cobas omni Wash Reagent (WASH) Opbevares ved 15 til 30 °C. (P/N 06997503190)	Natriumcitratdihydrat, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat	4,2 l	Ikke relevant

* Disse reagenser er ikke inkluderet i **cobas®** HIV-1/HIV-2 Qualitative-kittet. Se listen over yderligere påkrævede materialer (Tabel 10 og Tabel 11).

** Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

*** Biologisk farlig substans

cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent

Tabel 5 cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent*

cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent

Opbevares ved 2-8 °C.

(P/N 08064695190)

Reagens	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel**
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER)	28 % (w/w) guanidinthiocyanat, 6 % (w/v) polidocanol, 1 % (w/v) dithiothreitol, natriumcitratdihydrat	600 ml (15 × 40 ml)	  FARE H302: Farlig ved indtagelse. H318: Forårsager alvorlig øjenskade. H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. EUH032: Udvikler meget giftig gas ved kontakt med syre. P264: Vask huden grundigt efter brug. P270: Der må ikke spises, drikkes eller ryges under brugen af dette produkt. P273: Undgå udledning til miljøet. P280: Bær øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse. P305 + P351 + P338 + P310: VED KONTAKT MED ØJNE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. P501: Indholdet/beholderen bortskaffes til et godkendt affaldsmodtagelsesanlæg.

* Dette reagens er ikke inkluderet i **cobas®** HIV-1/HIV-2 Qualitative-kittet. Se listen over yderligere påkrævede materialer (Tabel 10 og Tabel 11).

** Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

Krav til opbevaring og håndtering af reagenser

Reagenser skal opbevares og håndteres som angivet i Tabel 6 og Tabel 7. **cobas®** Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER), der bruges i DBS-arbejdsgangen, skal opbevares og håndteres som angivet i Tabel 8 og Tabel 9.

Når reagenserne ikke er indsat på **cobas®** 6800/8800 Systems, skal de opbevares ved den temperatur, der er angivet i Tabel 6.

Tabel 6 Opbevaring af reagenser (når reagenset ikke er på systemet)

Reagens	Opbevaringstemperatur
cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	2-8 °C
cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit	2-8 °C
cobas® NHP Negative Control Kit	2-8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2-8 °C
cobas omni MGP Reagent	2-8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2-8 °C
cobas omni Wash Reagent	15-30 °C

Reagenser, der er indsat på **cobas®** 6800/8800 Systems, opbevares ved de relevante temperaturer, og deres udløbsdato overvåges af systemet. **cobas®** 6800/8800 Systems giver kun mulighed for brug af reagenserne, hvis alle de betingelser, der er vist i Tabel 7, overholdes. Systemet forhindrer automatisk brugen af udløbne reagenser. Tabel 7 giver brugeren mulighed for at få et indblik i de betingelser for reagenshåndtering, der håndhæves af **cobas®** 6800/8800 Systems.

Tabel 7 Udløbsbetingelser for reagenser som håndhævet af **cobas®** 6800/8800 Systems

Reagens	Udløbsdato for kittet	Holdbarhed for åbent kit	Antal kørsler, som dette kit kan bruges i	Holdbarhed på systemet (samlet tid på systemet uden for køleskab)
cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Dato ikke overskredet	30 dage fra første brug	Maks. 10 kørsler	Maks. 8 timer
cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit	Dato ikke overskredet	Ikke relevant	Ikke relevant	Maks. 8 timer
cobas® NHP Negative Control Kit	Dato ikke overskredet	Ikke relevant	Ikke relevant	Maks. 10 timer
cobas omni Lysis Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning*	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni MGP Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning*	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni Specimen Diluent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning*	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni Wash Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning*	Ikke relevant	Ikke relevant

* Tiden måles fra første gang, det pågældende reagens indsættes på **cobas®** 6800/8800 Systems.

Opbevar **cobas®** Specimen Pre-Extraction Reagent (anvendt i DBS-arbejdsgangen) ved den temperatur, der er angivet i Tabel 8.

Tabel 8 Opbevaring af cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent

Reagens	Opbevaringstemperatur
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent	2-8 °C

cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent kan holde sig til den angivne udløbsdato. Efter åbning kan dette reagens holde sig i 30 dage ved opbevaring ved 2-8 °C, inklusive i alt 13 timer ved 30 °C, eller indtil udløbsdatoen afhængigt af, hvad der kommer først, som angivet i Tabel 9.

Tabel 9 Udløbsbetingelser for cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent

Reagens	Udløbsdato for kittet	Holdbarhed for åbent kit	Antal kørsler, som dette kit kan bruges i	Holdbarhed ved 30 °C uden for køleskab (samlet tid)
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra første brug	Ikke relevant	Maks. 13 timer

Yderligere nødvendige materialer

Tabel 10 Materialer og forbrugsartikler til brug på **cobas®** 6800/8800 Systems

Materiale	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Pose til fast affald	07435967001
Beholder til fast affald	07094361001

Tabel 11 Andre materialer og forbrugsartikler, der udelukkende er påkrævet til DBS-brug

Materialer
Whatman 903®-filterkort, Munktell-prøvetagningskort TFN eller tilsvarende (12-13 mm spot-diameter)
Rør, 5 ml, internt gevind, 12,5 mm i diameter, polypropylen (dvs. Cryo.s™) med låg
Eppendorf Thermomixer (f.eks. model R 5355 eller tilsvarende) med Thermoblock til 24 cryorør
Tang eller pincet, der er steril eller til engangsbrug
Genlukkelige poser og breve med tørremiddel (til DBS-opbevaring)

Påkrævede instrumenter og software

cobas® 6800/8800-softwaren og cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative-analysepakke(r), cobas® HIV-1/2 Qual-Serum/Plasma ASAP og/eller cobas® HIV-1/2 Qual-DBS ASAP skal være installeret på instrumentet eller instrumenterne. IG-serveren (Instrument Gateway-serveren) følger med systemet.

Tabel 12 Instrumenter

Udstyr	P/N
cobas® 6800 System (flytbar systemopsætning)	05524245001 og 06379672001
cobas® 6800 System (fast)	05524245001 og 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Prøveforsyningsmodul	06301037001

Se brugermanualen til cobas® 6800/8800 Systems for at få yderligere oplysninger om primære og sekundære prøverør, der er godkendt på instrumenterne.

Bemærk! Kontakt den lokale Roche-repræsentant for at få en detaljeret ordreliste til prøveracks, racks til koagulerede spidser og rackbakker, der er godkendt på instrumenterne.

Krav til forholdsregler og håndtering

Advarsler og forholdsregler

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

- Kun til *in vitro*-diagnostisk brug.
- cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative er ikke blevet evalueret til brug som en screeningstest for tilstedeværelsen af HIV-1/HIV-2 i blod eller blodprodukter.
- Alle patientprøver skal håndteres som smittefarligt materiale ved brug af gode laboratorieprocedurer som dem, der er beskrevet i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories og i CLSI-dokumentet M29-A4.^{18,19} Denne procedure må kun udføres af medarbejdere, der er uddannet i brugen af cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative og cobas® 6800/8800 Systems og i håndteringen af smittefarligt materiale.
- Alt materiale, der stammer fra mennesker, skal betragtes som potentielt smittefarligt og skal håndteres med generelle sikkerhedsforanstaltninger. Hvis der spildes materiale, skal det berørte område straks desinficeres iht. de relevante procedurer.
 - Hvis der spildes DBS-prøver i cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (der indeholder guanidinithiocyanat), må dette ikke komme i kontakt med natriumhypoklorit, der indeholder desinfektionsmidler, som f.eks. blegemiddel. Denne blanding kan danne en meget giftig gas.
- cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit og cobas® NHP Negative Control Kit indeholder plasma, der stammer fra humant blod. Kildematerialet er blevet testet for antistoffer ved hjælp af en godkendt test og blev fundet ikke-reaktiv for tilstedeværelsen af antistoffer mod HIV-1/2. Test af normalt humant plasma ved PCR-metoder påviste heller ikke forekomst af HIV-1 (gruppe M og O) RNA og HIV-2 RNA. Ingen kendte testmetoder kan helt udelukke, at produkter, der stammer fra humant blod, kan overføre smitstoffer.
- **Fuldblod eller andre prøver, der er opbevaret i primære rør, må ikke nedfryses.**

- **cobas®** Specimen Pre-Extraction Reagent er lysfølsom og leveres i lysbeskyttende flasker.
- Brug kun medfølgende eller specificerede forbrugsartikler for at sikre testens optimale performance.
- Der kan rekvireres sikkerhedsdatablade (SDS'er) ved henvendelse til den lokale Roche-repræsentant.
- Følg de angivne procedurer og retningslinjer nøje, så testen udføres korrekt. Eventuelle afvigelser fra procedurerne og retningslinjerne kan påvirke den optimale performance for testen.
- Der kan forekomme falsk-positive resultater, hvis krydskontaminering ikke kontrolleres tilstrækkeligt under håndtering og behandling af prøver.

Håndtering af reagenser

- Håndter alle reagenser, kontroller og prøver i overensstemmelse med god laboratoriepraksis for at undgå krydskontaminering af prøver eller kontroller.
- Inspicer hver reagenskassette, diluent, lysisreagens og vaskereagens visuelt før brug og **cobas®** Specimen Pre-Extraction Reagent (kun påkrævet for DBS-brug) for at sikre, at der ikke er tegn på utætheder. Materialet må ikke anvendes til test, hvis der er tegn på utætheder.
- **cobas omni** Lysis Reagent og **cobas®** Specimen Pre-Extraction Reagent indeholder guanidinthiocyanat, der er et potentielt farligt kemikalie. Undgå, at hud, øjne og slimhinder kommer i kontakt med reagenser. Ved kontakt skylles straks med rigelige mængder vand. Ellers kan der opstå ætsninger.
- **cobas®** HIV-1/HIV-2 Qualitative-kittene, **cobas omni** MGP Reagent og **cobas omni** Specimen Diluent indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Undgå, at hud, øjne og slimhinder kommer i kontakt med reagenser. Ved kontakt skylles straks med rigelige mængder vand. Ellers kan der opstå ætsninger. Hvis disse reagenser spildes, fortyndes med vand, før de tørres op.
- **cobas omni** Lysis Reagent eller **cobas®** Specimen Pre-Extraction Reagent, som indeholder guanidinthiocyanat, må ikke komme i kontakt med natriumhypoklorit (blegemiddel). Denne blanding kan danne en meget giftig gas.
- Alt materiale, der har været i kontakt med prøver og reagenser, skal bortskaffes i overensstemmelse med nationale, regionale og lokale bestemmelser.

God laboratoriepraksis

- Brug ikke mundpipettering.
- Der må ikke spises, drikkes eller ryges i de angivne arbejdsområder.
- Anvend beskyttelseshandsker, særligt arbejdstøj og beskyttelsesbriller ved håndtering af prøver og reagenser. Handskerne skal skiftes mellem håndtering af prøver og **cobas®** HIV-1/HIV-2 Qualitative-kittene og **cobas omni**-reagenser for at forhindre kontaminering. Undgå at kontaminere handsker ved håndtering af prøver og kontroller.
- Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og kitreagenser og efter aftagning af handskerne.
- Rengør og desinficer alle arbejdsflader i laboratoriet grundigt med blegemiddel fortyndet med deioniseret eller destilleret vand til en 0,5 % opløsning af natriumhypoklorit (fortyndet blegemiddel 1:10). Opløsningen skal være nyfremstillet. Tør overfladen efter med 70 % ethanol.
- Hvis der spildes materiale på **cobas®** 6800/8800-instrumentet, skal vejledningen i brugermanualen til **cobas®** 6800/8800 Systems følges for korrekt rengøring og dekontaminering af instrumentoverfladen.

Indsamling, transport og opbevaring af prøver

Bemærk! Alle prøver og kontroller skal håndteres som potentielt smittefarlige.

Opbevar alle prøver ved de angivne temperaturer.

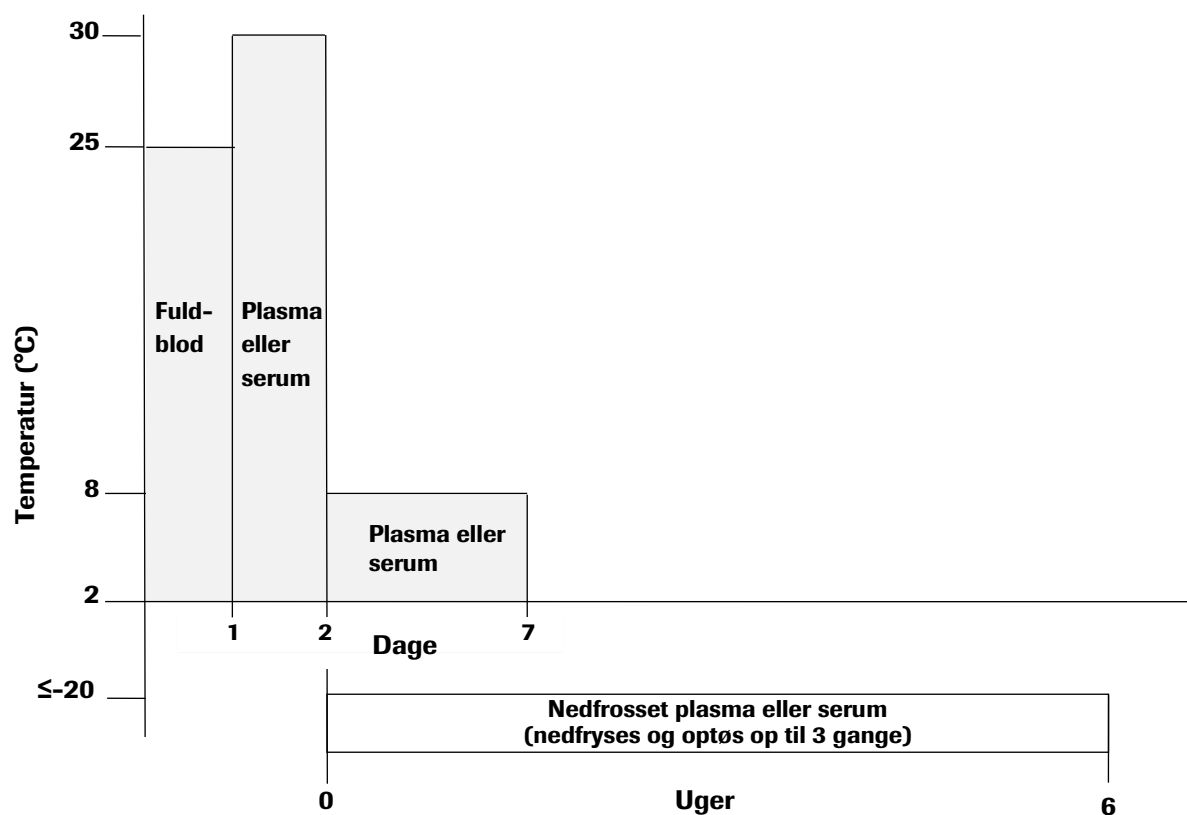
Prøvernes stabilitet påvirkes af forhøjede temperaturer.

Hvis der benyttes frosne prøver i sekundære rør, skal prøverne placeres ved stuetemperatur (15-30 °C), indtil de er fuldstændigt optøede, og derefter blandes kort (f.eks. på en vortex-mixer i 3-5 sekunder) og centrifugeres for at samle hele prøvevolumenen i bunden af røret.

Prøver

EDTA-plasma og -serumprøver

- Blod skal tages i SST™-rør (Serum Separation Tubes), BD Vacutainer® PPT™-rør (Plasma Preparation Tubes) til molekulære diagnosticeringstestmetoder eller i sterile rør med EDTA som antikoagulerende middel. Følg instruktionerne fra producenten af blodprøvetagningsrøret.
- Fuldblod, der er indsamlet i SST™ (Serum Separation Tubes), BD Vacutainer® PPT™ (Plasma Preparation Tubes) til molekulære diagnosticeringstestmetoder eller i sterile rør med EDTA som antikoagulerende middel, kan opbevares og/eller transporteres i op til 24 timer ved 2 °C til 25 °C før forberedelse af plasma eller serum. Der skal foretages centrifugering i henhold til producentens anvisninger.
- Ved separation kan EDTA-plasma- eller serumprøver opbevares i sekundære rør i op til 24 timer ved 30 °C efterfulgt af op til 5 dage ved 2 °C til 8 °C eller op til 6 uger ved ≤ -20 °C. Ved længere tids opbevaring anbefales ≤ -60 °C.
- Plasmaprøver kan holde til op til tre nedfrysninger/optøninger, når de nedfryses til ≤ -20 °C.
- Se Figur 1 for at få oplysninger om prøveopbevaringsforhold.

Figur 1 Opbevaringsforhold for fuldblods-, plasma- og serumprøver

- Hvis prøverne skal sendes, skal de pakkes og mærkes i overensstemmelse med de gældende nationale og/eller internationale bestemmelser for transport af prøver og ætiologiske stoffer.

Dried Blood Spots (DBS)

- Indsaml DBS-prøver ved hjælp af de relevante kliniske procedurer.
- Det anbefales at komme mindst 70 µl kapillært blod inden for hver afgrænsede cirkel på DBS-kortet.
- Sørg for, at BEGGE sider af papiret er mættet, og udfyld den afgrænsede cirkel helt.
- Lad de DBS tørre ved stuetemperatur (18-25 °C) i mindst 3 timer, og beskyt DBS-kortet mod direkte sollys.
- Se yderligere oplysninger på pakningsindlægget til de anvendte filterkort.
- Det anbefales at forberede mindst 3 delprøver pr. patientprøve.
- Opbevar DBS i individuelle genlukkelige poser med et breve med tørremiddel i hver pose.
- DBS kan transporteres eller opbevares ved 15-30 °C i op til tre måneder.
- Hvis prøverne skal sendes, skal de pakkes og mærkes i overensstemmelse med de gældende nationale og/eller internationale bestemmelser for transport af prøver og ætiologiske stoffer.

Brugsanvisning

Procedurebemærkninger

- Brug ikke **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative-reagenser, **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit, **cobas**® NHP Negative Control Kit, **cobas** **omni**-reagenser eller **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent efter deres udløbsdatoer.
- Genanvend ikke forbrugsartikler. De er kun beregnet til engangsbrug.
- Se brugermanualen til **cobas**® 6800/8800 Systems for at få oplysninger om korrekt vedligeholdelse af instrumenterne.

Forberedelse af DBS-prøver

- Lad **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER) tempereres til den omgivende temperatur før brug.
- Fjern én DBS fra DBS-kortet.
- Overfør DBS'en til et rør (5 ml, internt gevind, 12,5 mm i diameter, polypropylen [dvs. Cryo.s™]) ved hjælp af en tang eller pincet, der er steril eller til engangsbrug.
- Sørg for, at den pågældende DBS er placeret i bunden af røret, som vist i Figur 2.
- Afpipetter 1150 µl SPER til røret med DBS, og sæt låg på røret.
- Sørg for, at DBS'en er helt dækket med SPER.
- Placer rørene i hver af positionerne 1-24 på en forvarmet Eppendorf Thermomixer (f.eks. model R 5355 eller tilsvarende) med Thermoblock til 24 cryorør, og inkuber i 10 minutter ved 56 °C og 1000 o/min. for at ekstrahere virussen fra det tørrede fuldblod.
- Tag låget af rørene, og sørg for, at der sidder DBS på rørsiderne (Figur 3) for at undgå clotdannelser for prøven.
- Eliminér eventuel potentiel væskefilm over væskenniveauet (Figur 4) ved hjælp af en steril pipettespids (for at undgå forkert væskennivaudetektion).
- Overfør rørene til **cobas**® 6800/8800 Systems.

Figur 2 DBS i rør



Valid

Figur 3 DBS-placering



Valid

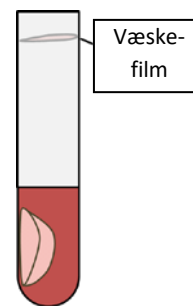


Valid



Potentiel
risiko for
clotdannelse

Figur 4 Væskefilm



Potentiel risiko for forkert
væskennivaudetektion

Kørsel af cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative

cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative kan køres med en påkrævet minimumsprøvevolumen på 650 µl (for arbejdsgangen med 500 µl plasma- eller serumprøve) eller 1150 µl cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (for arbejdsgangen med 850 µl DBS-prøve). Bemærk, at DBS-prøver ikke kan køres i blandet batch-tilstand med plasma- eller serumprøver.

Testproceduren er beskrevet i detaljer i brugermanualen til cobas® 6800/8800 Systems. Figur 5 nedenfor opsummerer proceduren.

Figur 5 cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative-testprocedure

1	Genopfyld reagenser og forbrugsartikler som angivet af systemet: • Indsæt vaskereagens, lysisreagens og diluent • Indsæt processeringsplader og amplifikationsplader • Indsæt magnetiske glaspartikler • Indsæt testspecifikke reagenser • Indsæt kontrolkassetter • Genopfyld rack med spidser • Udskift rack til koagulerede spidser
2	Indsæt rackene med prøver
3	Gennemse og eksportér resultater
4	Udtag forbrugsartikler: • Fjern amplifikationsplader fra analysemodulet • Udtag tomme kontrolkassetter • Tøm fast affald • Tøm flydende affald

Resultater

cobas® 6800/8800 Systems detekterer og skelner automatisk mellem HIV-1 og HIV-2 samtidigt for prøver og kontroller samt viser validiteten af testen, de samlede resultater samt de individuelle target-resultater.

Kvalitetskontrol og validitet af resultater

- Én negativ kontrol med normalt humant plasma [(-) C] og to positive kontroller [HIV-1M/HIV-2 (+)C og HIV-1O (+)C] processeres med hver batch.
- I cobas® 6800/8800-softwaren og/eller -rapporten kontrolleres for markeringer og deres tilhørende resultater for at sikre, at batchen er valid.
- Batchen er valid, hvis der ingen markeringer vises for alle tre kontroller.

Resultater erklæres automatisk invalide af cobas® 6800/8800-softwaren på baggrund af fejl i negative og positive kontroller.

Kontrolmarkeringer

Tabel 13 Kontrolmarkeringer for negative og positive kontroller

Negativ kontrol	Markering	Resultat	Fortolkning
(-) C	Q02 (Kontrolbatch mislykkedes)	Invalid	Hele batchen er invalid, hvis resultatet for (-) C er invalid.
Positiv kontrol	Markering	Resultat	Fortolkning
HIV-1M/HIV-2 (+)C	Q02 (Kontrolbatch mislykkedes)	Invalid	Hele batchen er invalid, hvis resultatet for HIV-1M/HIV-2 (+)C er invalid.
HIV-1O (+)C	Q02 (Kontrolbatch mislykkedes)	Invalid	Hele batchen er invalid, hvis resultatet for HIV-1O (+)C er invalid.

For invalide batches skal man gentage testen af hele batchen, herunder prøver og kontroller.

HIV-1M/HIV-2 (+) C står for cobas® HIV-1M/HIV-2 positiv kontrol og HIV-1O (+) C står for cobas® HIV-1O positiv kontrol i cobas® 6800/8800-softwaren.

Fortolkning af resultater

For valide batches skal hver enkelt prøve kontrolleres for markeringer i **cobas**® 6800/8800-softwaren og/eller -rapporten. Resultatfortolkningen skal være som følger:

- En valid batch kan indeholde både valide og invalide prøveresultater.
- Prøver markeres med "Yes" (Ja) i kolonnen "Valid", hvis alle rekvirerede target-resultater blev rapporteret som valide resultater. Prøver, der er markeret med "No" (Nej) i kolonnen "Valid", kan kræve yderligere fortolkning og handling.
- Værdierne i kolonnen "Overall Result" (Samlet resultat) for de individuelle prøver skal fortolkes på følgende måde:
 - Reactive (Reaktive) – Alle rekvirerede resultater er reaktive, eller ét af de rekvirerede resultater er reaktivt, og de andre er ikke-reaktive
 - Non-Reactive (Ikke-reaktive) – Alle rekvirerede resultater er ikke-reaktive
 - Invalid – Mindst ét rekvireret resultat er invaliddt
- De rapporterede target-resultater for de individuelle prøver er valide, medmindre andet er angivet.

Resultaterne og den tilhørende fortolkning til detektion af HIV-1 og HIV-2 er vist nedenfor i Tabel 14.

Tabel 14 Target-resultater til individuel target-resultatfortolkning

Valid	Overall Result	Target 1	Target 2	Fortolkning
Yes	Reactive	HIV-1 Reactive	HIV-2 Reactive	Alle rekvirerede resultater var valide. Target-signal detekteret for HIV-1 og HIV-2.
Yes	Reactive	HIV-1 Reactive	HIV-2 Non-Reactive	Alle rekvirerede resultater var valide. Target-signal detekteret for HIV-1. Intet target-signal detekteret for HIV-2.
Yes	Reactive	HIV-1 Non-Reactive	HIV-2 Reactive	Alle rekvirerede resultater var valide. Intet target-signal detekteret for HIV-1. Target-signal detekteret for HIV-2.
Yes	Non-Reactive	HIV-1 Non-Reactive	HIV-2 Non-Reactive	Alle rekvirerede resultater var valide. Intet target-signal detekteret for HIV-1 eller HIV-2.
No	Invalid	HIV-1 Reactive	Invalid	Ikke alle rekvirerede resultater var valide. Target-signal detekteret for HIV-1. HIV-2-resultatet er invaliddt. Den oprindelige prøve skal testes igen for at få valide HIV-2-resultater. Hvis resultatet stadig er invaliddt, skal der tages en ny prøve.
No	Invalid	Invalid	HIV-2 Reactive	Ikke alle rekvirerede resultater var valide. Target-signal detekteret for HIV-2. HIV-1-resultatet er invaliddt. Den oprindelige prøve skal testes igen for at få valide HIV-1-resultater. Hvis resultatet stadig er invaliddt, skal der tages en ny prøve.
No	Invalid	HIV-1 Non-Reactive	Invalid	Ikke alle rekvirerede resultater var valide. Intet target-signal detekteret for HIV-1. HIV-2-resultatet er invaliddt. Den oprindelige prøve skal testes igen for at få valide HIV-2-resultater. Hvis resultatet stadig er invaliddt, skal der tages en ny prøve.
No	Invalid	Invalid	HIV-2 Non-Reactive	Ikke alle rekvirerede resultater var valide. Intet target-signal detekteret for HIV-2. HIV-1-resultatet er invaliddt. Den oprindelige prøve skal testes igen for at få valide HIV-1-resultater. Hvis resultatet stadig er invaliddt, skal der tages en ny prøve.
No	Invalid	Invalid	Invalid	Både HIV-1- og HIV-2-resultater er invalide. Den oprindelige prøve skal testes igen for at få valide HIV-1- og HIV-2-resultater. Hvis resultaterne stadig er invalide, skal der tages en ny prøve.

Begrænsninger ved procedureerne

- **cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative** er kun evalueret til brug sammen med **cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative Control Kit**, **cobas® NHP Negative Control Kit**, **cobas omni MGP Reagent**, **cobas omni Lysis Reagent**, **cobas omni Specimen Diluent**, **cobas omni Wash Reagent** og **cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent** (brugt i arbejdsgangen for DBS) til brug på **cobas® 6800/8800 Systems**.
- Pålidelige resultater er afhængige af korrekte procedurer til prøvetagning, -opbevaring og -behandling.
- Detektionen af HIV-1- og HIV-2-nukleinsyre er afhængig af det antal viruspartikler, der findes i prøven, og kan påvirkes af prøvetagningen, -opbevaringen og -håndteringen, patientfaktorer (dvs. alder, forekomst af symptomer) og/eller infektionsstadiet.
- Selvom de er sjældne, kan mutationer i de bedst konserverede områder i virusgenet, som er dækket af **cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative**, påvirke primere og/eller probebindingsresultater, hvilket medfører manglende evne til at detektere virussen.
- På grund af naturlige forskelle mellem teknologier anbefales det, at brugeren udfører metodekorrelationsundersøgelser i laboratoriet for at påvise teknologiske forskelle, før der skiftes fra én teknologi til en anden. Brugerne bør følge de aktuelle politikker/procedurer.
- **cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative** er ikke beregnet til brug som en screeningstest for tilstedeværelsen af HIV-1/HIV-2 i blod eller blodprodukter.

Vurdering af ikke-klinisk performance

Vigtige egenskaber for performance

Detektionsgrænse (LoD)

WHO International Standards/Roche Primary Standards

Detektionsgrænsen for cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative blev bestemt ved brug af følgende standarder:

- WHO's tredje internationale standard for HIV-1 gruppe M RNA (NIBSC-kode 10/152) for EDTA-plasma-, serum- og DBS-prøver
- WHO's internationale standard for HIV-2 RNA (NIBSC-kode 08/150) for plasma- og serumprøver
- Roche Primary Standards for HIV-2 RNA for DBS-prøver
- Roche Primary Standards for HIV-1 gruppe O RNA for EDTA-plasma- og serumprøver

Der er for øjeblikket ingen international standard for HIV-1 gruppe O RNA. Roche HIV-1 gruppe O RNA-standard er baseret på CBER HIV-1-undertype RNA-referencepanel nr. 1 lot 01. Roche Primary Standards for HIV-1 gruppe O RNA er baseret på kommercielt tilgængelige dyrkede virusstammer, P/N 2420 (katalognr. 500493, SeraCare Life Sciences). Roche HIV-2 RNA-standard er baseret på WHO's internationale standard for HIV-2 RNA (NIBSC-kode 08/150). Roche Primary Standards for HIV-2 RNA stammer fra kommercielt tilgængelige dyrkede virusstammer, P/N HIV-2 NIH-Z (kat. nr. 10-27-000, Applied Biotechnologies, Inc.). Én HIV-1 RNA-kopi svarer til 1,7 internationale enheder (IU), og én HIV-2 RNA-kopi svarer til 0,2 IU.

Der blev forberedt serielle fortyndinger af standarder i HIV-negativt humant EDTA-plasma, serum eller fuldblod for DBS. Paneler med fem eller seks koncentrationsniveauer samt et negativt blev testet ved hjælp af tre lot af cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative-reagenser, flere kørsler, dage, brugere og instrumenter.

For hver virus blev der anvendt 95 % PROBIT-analyse på de kombinerede data på tværs af fortyndingsserier og reagenslot til at bestemme LoD og den nedre og øvre grænse for konfidensintervallet på 95 % (Tabel 15). De reaktivitetsniveauer, der blev observeret i LoD-undersøgelser for hver virus, er opsummeret i Tabel 16 til Tabel 18.

Tabel 15 Resultaterne af 95 % PROBIT-analysen på LoD-data indsamlet med virusstandarder i EDTA-plasma, serum og DBS

Matricer	Analyt	Måleenheder	LoD	Nedre 95 % konfidensgrænse	Øvre 95 % konfidensgrænse
EDTA-plasma	HIV-1 gruppe M	kopier/ml	12,6	10,9	15,2
	HIV-1 gruppe O	kopier/ml	14,8	12,8	17,7
	HIV-2	kopier/ml	27,9	22,9	36,6
Serum	HIV-1 gruppe M	kopier/ml	12,1	10,5	14,5
	HIV-1 gruppe O	kopier/ml	12,6	10,9	15,2
	HIV-2	kopier/ml	23,4	19,6	29,7
DBS	HIV-1 gruppe M	kopier/ml	255	224	299
	HIV-2	kopier/ml	984	856	1169

Tabel 16 Oversigt over reaktivitetsniveauer for HIV-1 gruppe M i EDTA-plasma, serum og DBS

Matricer	HIV-1 gruppe M RNA- koncentration (cp/ml)	Antal reaktive	Antal valide bestemmelser	% reaktive
EDTA-plasma	40	189	189	100 %
	30	189	189	100 %
	20	187	189	99 %
	10	174	189	92 %
	5	124	189	66 %
	2,5	91	189	48 %
	0	0	189	0 %
Serum	40	189	189	100 %
	30	189	189	100 %
	20	187	189	99 %
	10	176	189	93 %
	5	126	189	67 %
	2,5	86	189	46 %
	0	0	189	0 %
DBS	750	252	252	100 %
	600	252	252	100 %
	360	246	250	98 %
	180	220	249	88 %
	90	163	252	65 %
	45	109	250	44 %
	0	0	107	0 %

Tabel 17 Oversigt over reaktivitetsniveauer for HIV-1 gruppe O i EDTA-plasma og serum

Matricer	HIV-1 gruppe O RNA-koncentration (cp/ml)	Antal reaktive	Antal valide bestemmelser	% reaktive
EDTA-plasma	40	189	189	100 %
	30	189	189	100 %
	20	185	188	98 %
	10	163	189	86 %
	5	117	189	62 %
	2,5	78	189	41 %
	0	0	189	0 %
Serum	40	189	189	100 %
	30	189	189	100 %
	20	186	189	98 %
	10	173	189	92 %
	5	132	189	70 %
	2,5	91	189	48 %
	0	0	189	0 %

Tabel 18 Oversigt over reaktivitetsniveauer for HIV-2 i EDTA-plasma, serum og DBS

Matricer	HIV-2 RNA-koncentration (cp/ml)	Antal reaktive	Antal valide bestemmelser	% reaktive
EDTA-plasma	80	126	126	100 %
	40	124	126	98 %
	20	115	126	91 %
	10	81	126	64 %
	5	61	126	48 %
	0	0	189	0 %
Serum	80	126	126	100 %
	40	125	126	99 %
	20	114	126	90 %
	10	96	126	76 %
	5	49	126	39 %
	0	0	189	0 %
DBS	3000	252	252	100 %
	1450	241	247	98 %
	725	226	246	92 %
	362	167	248	67 %
	181	103	250	41 %
	0	0	108	0 %

Reproducerbarhed

Reproducerbarheden for **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative blev bestemt ved brug af følgende standarder:

- Roche Secondary Standard for HIV-1 gruppe M
- Roche Primary Standard for HIV-2

To paneler med individuelt formuleret HIV-1 gruppe M- og HIV-2-target, der hver består af 3 panelmedlemmer med koncentrationer på ca. 0,6 x, 1 x og 3 x LoD'et for **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative, blev testet i denne undersøgelse.

Testen blev udført for følgende variationskomponenter:

- dag-til-dag-variation over 4 dage
- lot-til-lot-variation ved hjælp af 3 forskellige reagenslots fra **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative
- instrument-til-instrument-variation ved hjælp af 3 forskellige **cobas**® 6800/8800 Systems

Ca. 84 bestemmelser blev testet med hver af de 3 panelmedlemmer for hvert reagenslot for i alt 252 bestemmelser for alle reagenslots pr. target. Reproducerbarhedsresultaterne blev evalueret ved at beregne procentdelen af reaktive testresultater for hvert koncentrationsniveau for hver af de analyserede variable komponenter.

Grænserne for de tosidede 95 % konfidensintervaller for hvert reaktionsniveau blev beregnet for hver af de tre niveauer af HIV-1 gruppe M og HIV-2, der blev testet over 4 dage, med 3 reagenslots og på 3 **cobas**® 6800/8800 Systems.

cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative er reproducerbar over flere dage, reagenslots og flere instrumenter. Resultaterne fra reagensets lot-til-lot-varians er opsummeret i Tabel 19 og Tabel 20.

Tabel 19 Opsummering af cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative-reagensets lot-til-lot-reproducerbarhed (EDTA-plasma)

Analyt	Koncentration	Reagenslot	% reaktiv (reaktive/valide bestemmelser)	Nedre grænse på 95 % konfidensinterval	Øvre grænse på 95 % konfidensinterval
HIV-1 gruppe M	~3 x LoD	1	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
		2	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
		3	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
	~1 x LoD	1	98,8 % (83/84)	93,5 %	100 %
		2	98,8 % (83/84)	93,5 %	100 %
		3	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
	~0,6 x LoD	1	77,4 % (65/84)	67,0 %	85,8 %
		2	76,2 % (64/84)	65,7 %	84,8 %
		3	82,1 % (69/84)	72,3 %	89,6 %
HIV-2	~3 x LoD	1	98,8 % (83/84)	93,5 %	100 %
		2	96,4 % (81/84)	89,9 %	99,3 %
		3	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
	~1 x LoD	1	98,8 % (83/84)	93,5 %	100 %
		2	98,8 % (83/84)	93,5 %	100 %
		3	97,6 % (82/84)	91,7 %	99,7 %
	~0,6 x LoD	1	66,7 % (56/84)	55,5 %	76,6 %
		2	69,0 % (58/84)	58,0 %	78,7 %
		3	69,0 % (58/84)	58,0 %	78,7 %

Tabel 20 Opsummering af cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative-reagensets lot-til-lot-reproducerbarhed (DBS)

Analyt	Koncentration	Reagenslot	% reaktiv (reaktive/valide bestemmelser)	Nedre grænse på 95 % konfidensinterval	Øvre grænse på 95 % konfidensinterval
HIV-1 gruppe M	~3 x LoD	1	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
		2	100 % (83/83)	95,7 %	100 %
		3	97,6 % (82/84)	91,7 %	99,7 %
	~1 x LoD	1	96,4 % (81/84)	89,9 %	99,3 %
		2	96,4 % (81/84)	89,9 %	99,3 %
		3	95,2 % (80/84)	88,3 %	98,7 %
	~0,6 x LoD	1	88,0 % (73/83)	79,0 %	94,1 %
		2	83,3 % (70/84)	73,6 %	90,6 %
		3	88,1 % (74/84)	79,2 %	94,1 %
HIV-2	~3 x LoD	1	100 % (83/83)	95,7 %	100 %
		2	100 % (84/84)	95,7 %	100 %
		3	100 % (83/83)	95,7 %	100 %
	~1 x LoD	1	97,6 % (82/84)	91,7 %	99,7 %
		2	97,6 % (82/84)	91,7 %	99,7 %
		3	98,8 % (83/84)	93,5 %	100 %
	~0,6 x LoD	1	88,1 % (74/84)	79,2 %	94,1 %
		2	91,7 % (77/84)	83,6 %	96,6 %
		3	85,7 % (72/84)	76,4 %	92,4 %

Bekræftelse af gruppe/undertype og inklusivitet

Performance for cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative på HIV-1 gruppe M-undertyper, gruppe O, gruppe N og HIV-2 gruppe B blev evalueret ved:

- Bekræftelse af detektionsgrænsen for HIV-1 gruppe M-undertyper, gruppe O (verificeret ved fortynding i fuldblod for DBS), gruppe N og HIV-2 gruppe B
- Bekræftelse af inklusiviteten for HIV-1 gruppe M-undertyper, gruppe O, gruppe N og HIV-2 gruppe A og gruppe B

Bekræftelse af detektionsgrænsen for HIV-1 gruppe M-undertyper, gruppe O, gruppe N og HIV-2 gruppe B

Kliniske eller dyrkede HIV-prøver for HIV-1 gruppe M (A, C, D, F, G, H) og cirkulerende rekombinanter (CRF01_AE, CRF02_AG), HIV-1 gruppe N og HIV-2 gruppe B blev fortyndet i EDTA-plasma, serum eller fuldblod for DBS, og derudover HIV-1 gruppe O i fuldblod for DBS, til LoD-koncentrationen for den udbredte gruppe/undertype (HIV-1 gruppe M-undertype B eller HIV-2 gruppe A) baseret på LoD bestemt ved 95 % PROBIT-analyse over alle lots kombineret. Bestemmelsen af reaktionsniveauet blev udført med 42 bestemmelser. Testen blev foretaget med 1 lot cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative-reagenser. Resultaterne fra HIV-1 vises i Tabel 21, og resultaterne fra HIV-2 vises i Tabel 22. Disse resultater

bekræfter, at cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative påviste HIV for HIV-1 gruppe M (A, C, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG), HIV-1 gruppe O, HIV-1 gruppe N og HIV-2 gruppe B ved den angivne koncentration for hver matrix eller under med et øvre 95 % konfidensinterval, der er lig med eller større end det forventede reaktivitetsniveau på 95 %.

Tabel 21 LoD-bekræftelse af HIV-1 gruppe M-undertyper, gruppe O og gruppe N i EDTA-plasma, serum eller fuldblod for DBS

Gruppe	Undertype	Plasma: 12,6 cp/ml			Serum: 12,1 cp/ml			DBS: 255 cp/ml		
		Antal valide bestemmelser	Antal reaktive	% reaktive (95 % CI*)	Antal valide bestemmelser	Antal reaktive	% reaktive (95 % CI*)	Antal valide bestemmelser	Antal reaktive	% reaktive (95 % CI*)
M	A	42	40	95 % (99 %)	42	40	95 % (99 %)	41	37	90 % (97 %)
	C	42	41	98 % (100 %)	42	42	100 % (99,4 %)	42	42	100 % (100 %)
	D	42	37	88 % (96 %)	42	37	88 % (96 %)	42	39	93 % (99 %)
	F	42	38	90 % (97 %)	42	38	90 % (97 %)	42	40	95 % (99 %)
	G	42	40	95 % (99 %)	42	39	93 % (99 %)	42	42	100 % (100 %)
	H	42	38	90 % (97 %)	42	41	98 % (100 %)	42	41	98 % (100 %)
	CRF01_AE	42	38	90 % (97 %)	42	38	90 % (97 %)	42	41	98 % (100 %)
	CRF02_AG	42	36	86 % (95 %)	42	39	93 % (99 %)	42	42	100 % (100 %)
O		Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	41	39	95 % (99 %)
N		42	39	93 % (99 %)	42	37	88 % (96 %)	41	40	98 % (100 %)

* Øvre 95 % konfidensinterval

Tabel 22 LoD-bekræftelse af HIV-2 gruppe B i EDTA-plasma, serum eller fuldblod for DBS

Gruppe	Plasma: 27,9 cp/ml			Serum: 23,4 cp/ml			DBS: 984 cp/ml		
	Antal valide bestemmelser	Antal positive	% reaktive (95 % CI*)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	% reaktive (95 % CI*)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	% reaktive (95 % CI*)
B	42	42	100 % (100 %)	42	42	100 % (100 %)	42	42	100 % (100 %)

* Øvre 95 % konfidensinterval

Bekræftelse af inklusiviteten for HIV-1 gruppe M-undertyper, gruppe O, gruppe N og HIV-2 gruppe B

Performance for cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative, hvad angår detektion af undertyper for HIV-1 gruppe M (A, C, D, F, G, H, J, K) og cirkulerende rekombinanter (CRF01_AE, CRF02_AG, CRF12_BF, CRF14_BG), HIV-1 gruppe O, HIV-1 gruppe N, HIV-2 gruppe A og HIV-2 gruppe B, blev bestemt ved at teste entydige kliniske prøver og/eller dyrkning isoleret for hver gruppe eller undertype i EDTA-plasma eller serum.

HIV-1 gruppe M

I alt 105 entydige HIV-1 gruppe M-kliniske prøver med kendt HIV-1-undertype blev testet ufortyndet og efter fortynding til $\sim 5 \times \text{LoD}$ af cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative. Alle 105 kliniske prøver med kendte undertyper blev detekteret ufortyndet og ved $\sim 5 \times \text{LoD}$ (Tabel 23).

Derudover blev fire kliniske prøver med HIV-1 gruppe M-undertype CRF12_BF og én HIV-1 gruppe M-undertype CRF14_BG testet, efter at fortyndingsserierne blev forberedt. Én bestemmelse af hver ufortyndede prøve og én af hver fortynding fra $1:1,0\text{E}+01$ til $1:5,0\text{E}+02$ (2-4 fortyndinger pr. prøve) for HIV-1 gruppe M-undertype CRF12_BF og fra $1:2,0\text{E}+01$ til $1:1,2\text{E}+02$ (4 fortyndinger) for HIV-1 gruppe M-undertype CRF14_BG blev testet, og de gav alle reaktive resultater. Alle testede kliniske prøver blev detekteret ved $\leq 5 \times \text{LoD}$.

Tabel 23 HIV-1 gruppe M-kliniske prøver

Undertype/cirkulerende rekombinanter	% reaktive (reaktive/prøver testet) ufortyndet	% reaktive (reaktive/prøver testet) fortyndet til $\sim 5 \times \text{LoD}$
A	100 % (10/10)	100 % (10/10)
C	100 % (10/10)	100 % (10/10)
D	100 % (10/10)	100 % (10/10)
F	100 % (10/10)	100 % (10/10)
G	100 % (10/10)	100 % (10/10)
H	100 % (10/10)	100 % (10/10)
J	100 % (5/5)	100 % (5/5)
K	100 % (9/9)	100 % (9/9)
CRF01_AE	100 % (10/10)	100 % (10/10)
CRF02_AG	100 % (10/10)	100 % (10/10)
CRF12_BF	100 % (2/2)	100 % (2/2)
CRF14_BG	100 % (9/9)	100 % (9/9)

HIV-1 gruppe O og HIV-1 gruppe N

I alt 10 HIV-1 gruppe O og én HIV-1 gruppe N klinisk eller dyrket prøve blev testet, efter fortyndingsserierne blev forberedt. To bestemmelser af hver ufortyndede prøve og fire af hver fortynding fra $1:1,0\text{E}+01$ til $1:4,8\text{E}+05$ (3-5 fortyndinger pr. prøve) for HIV-1 gruppe O blev testet, og de gav alle reaktive resultater. To bestemmelser af ufortyndet prøve og fire af hver fortynding fra $1:1,0\text{E}+04$ til $1:1,4\text{E}+05$ (5 fortyndinger pr. prøve) for HIV-1 gruppe N blev testet. Den ufortyndede prøve og fortyndinger fra $1:1,0\text{E}+04$ til $1:4,5\text{E}+04$ gav 100 % reaktive resultater, mens fortyndingen $1:1,4\text{E}+05$ gav et reaktivt resultat på 50 %. Alle testede prøver blev detekteret ved $\leq 3 \times \text{LoD}$.

HIV-2

I alt 16 entydige HIV-2 gruppe A og gruppe B kliniske eller dyrkede prøver blev testet ufortyndet og efter fortynding til ~5 x LoD af cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative. Alle 16 HIV-2-prøver blev detekteret ufortyndet og ved ~5 x LoD (Tabel 24).

Derudover blev seks HIV-2 gruppe A og fire HIV-2 gruppe B kliniske prøver testet, efter at fortyndingsserierne blev forberedt. En bestemmelse af hver ufortyndede prøve og én af hver fortynding fra 1:1,0E+01 til 1:9,0E+02 (2-5 fortyndinger pr. prøve) for HIV-2 gruppe A og fra 1:2,0E+01 til 1:6,0E+01 (2-4 fortyndinger) for HIV-2 gruppe B blev testet, og de gav alle reaktive resultater. Alle testede kliniske prøver blev detekteret ved ≤ 3 x LoD.

Tabel 24 HIV-2 kliniske eller dyrkede prøver

Undertype	% reaktive (reaktive/prøver testet) ufortyndet	% reaktive (reaktive/prøver testet) fortyndet til ~5 x LoD
A	100 % (4/4)	100 % (4/4)
B	100 % (6/6)	100 % (6/6)

Specificitet

Specificiteten for cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative blev bestemt ved analyse af HIV-negative EDTA-plasma-, HIV-negative serum- og HIV-negative DBS-prøver fra individuelle bloddonorer. I alt 613 individuelle EDTA-plasma- og 607 individuelle serumprøver blev testet med to lot cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative-reagenser. Derudover blev 604 individuelle DBS-prøver testet med tre lot cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative-reagenser. Alle testede prøver blev fundet ikke-reaktive for HIV-1 og HIV-2. I hver af EDTA-plasma-, serum- og DBS-prøverne var specificiteten for cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative 100 % (95 % konfidensgrænse: $\geq 99,5$ %).

Serokonversionspaneler

Performance for cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative blev evalueret ved hjælp af kommercielt tilgængelige serokonversionspaneler for HIV-1 gruppe M.

HIV-1 gruppe M-serokonversionspaneler

Der blev anvendt 25 kommercielt tilgængelige serokonversionspaneler. Hvert panelmedlem blev testet ufortyndet med cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative, og resultaterne blev sammenlignet med resultaterne fra en FDA-godkendt 4.-generations HIV Ag/Ab-serologitest og en FDA-godkendt komparator-NAT, der blev testet ufortyndet. De overordnede performanceresultater er vist i Tabel 25.

Tabel 25 Performance for cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative på HIV-serokonversionspaneler

HIV-serokonversionspanel	Antal testede panel-medlemmer	Antal testede panelmedlemmer med reaktivt resultat			Dage til første reaktive resultat			Dage tidligere detektion med cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	
		cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Komparator-NAT	HIV Ag/Ab Assay	cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Komparator-NAT	HIV Ag/Ab Assay	Komparator-NAT	HIV Ag/Ab Assay
HIV6243	10	6	6	4	18	18	25	0	7
HIV9011	11	3	3	2	30	30	38	0	8
HIV9012	8	5	5	3	9	7	16	-2	7
HIV9013	7	3	2	2	18	23	23	5	5
HIV9018	10	5	5	3	21	21	28	0	7
HIV9020	21	5	5	3	83	83	90	0	7
HIV9022	9	3	4	2	23	17	25	-6	2
HIV9030	16	6	5	3	40	40	47	0	7
HIV9031	19	8	6	4	120	131	146	11	26
HIV9034	13	4	4	3	41	41	46	0	5
HIV9076	9	3	3	3	66	66	66	0	0
HIV9089	6	5	5	3	7	7	16	0	9
HIV12008	13	7	7	5	21	21	28	0	7
PRB954	7	5	5	2	7	7	17	0	10
PRB956	5	4	4	2	40	40	47	0	7
PRB958	6	6	6	4	0	0	7	0	7
PRB961	9	4	4	2	19	19	27	0	8
PRB962	6	4	4	2	7	7	14	0	7
PRB963	7	4	5	2	9	7	17	-2	8
PRB967	6	5	5	3	3	3	17	0	14
PRB968	10	6	6	4	15	15	26	0	11
PRB969	10	7	6	3	53	53	70	0	17
PRB973	4	4	4	2	0	0	7	0	7
PRB976	4	4	4	2	0	0	7	0	7
PRB977	4	4	2	2	0	-*	13	-*	13
I alt	230	120	115	70					

* Invalidd resultat for komparator-NAT for det første panelmedlem af panel PRB977, hvor der blev forventet et reaktivt NAT-resultat. Panelet (PRB977) blev derfor ikke inkluderet i evalueringen af komparator-NAT-resultaterne.

Analytisk specificitet

Den analytiske specificitet for **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative blev evalueret for krydsreaktivitet med et panel af mikroorganismer ved 10^5 eller 10^6 partikler, kopier eller PFU/ml for hhv. virale isolater og bakteriestammer/gærisolater (Tabel 26). Mikroorganismerne blev føjet til HIV-negativt humant EDTA-plasma og testet med og uden HIV-1- og HIV-2-virus tilføjet til en koncentration på ca. $3 \times \text{LoD}$ af **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative for hver virus. Der blev opnået ikke-reaktive resultater med **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative for alle mikroorganismeprøver uden HIV-1- og HIV-2-target, og der blev opnået reaktive resultater for alle mikroorganismeprøver med HIV-1- og HIV-2-target. De testede mikroorganismer krydsreagerer ikke med eller påvirker ikke **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative.

Tabel 26 Mikroorganismer, der er testet for krydsreaktivitet

Vira		Bakterier	Gær
Adenovirus, type 5	Varicella-Zoster-virus	Propionibacterium acnes	Candida albicans
Cytomegalovirus	West Nile-virus	Staphylococcus aureus	
Epstein Barr-virus	St. Louis encephalitis-virus		
Hepatitis A-virus	Murray Valley encephalitis-virus		
Hepatitis B-virus	Dengue-virus, type 1, 2, 3 og 4		
Hepatitis C-virus	TBE-virus (stamme HYPH)		
Hepatitis D-virus	Influenza A-virus		
Human T-celle lymfotropisk virus, type 1 og 2	Zika-virus		
Human herpesvirus, type 6	Human papillomavirus		
Herpes simplex-virus, type 1 og 2	Gul feber-virus		

EDTA-plasmaprøver fra hver af sygdomstilstandene (én fra adenovirus type 5 og ti fra hver af de andre sygdomstilstandene), der er angivet i Tabel 27, blev testet med og uden HIV-1 og HIV-2 tilføjet til en koncentration på ca. $3 \times \text{LoD}$ af **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative for hver virus. Disse sygdomstilstande krydsreagerer ikke med eller påvirker ikke **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative.

Tabel 27 Prøver fra sygdomstilstande testet for analytisk specificitet

Sygdomstilstand		
Adenovirus, type 5	Hepatitis B-virus	Herpes simplexvirus, type 2
Cytomegalovirus	Hepatitis C-virus	Human T-celle lymfotropisk virus, type I
Dengue-virus	Hepatitis E-virus	Human T-celle lymfotropisk virus, type II
Epstein Barr-virus	Herpes simplexvirus, type 1	West Nile-virus

Analytisk specificitet – interfererende stoffer

Høje niveauer af triglycerider (op til 33 g/l), konjugeret bilirubin (0,2 g/l), ukonjugeret bilirubin (0,2 g/l), albumin (60 g/l), hæmoglobin (2 g/l) og humant DNA (2 mg/l) i prøver samt tilstedeværelsen af autoimmune sygdomme, som f.eks. systemisk lupus erythematosus (SLE), reumatoid arthritis (RA) og antinukleært antistof (ANA), blev testet ved tilstedeværelse og fravær af HIV-1 og HIV-2 RNA.

Derudover blev de lægemiddelstoffer, der er angivet i Tabel 28, testet ved tre gange $C_{\max}$ ved tilstedeværelse og fravær af HIV-1 og HIV-2 RNA.

Alle potentielt interfererende stoffer viste sig ikke at interferere med testens performance. Der blev opnået ikke-reaktive resultater med cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative for alle prøver uden HIV-target, og der blev opnået reaktive resultater for alle prøver med HIV-1- og HIV-2-target.

Tabel 28 Lægemiddelstoffer, der er testet for interferens med cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative

Lægemiddelklasse	Lægemidlets generiske navn	
Immunmodulatorer	Peginterferon α -2a	Ribavirin
	Peginterferon α -2b	
HCV-hæmmere	Simeprevir	Sofosbuvir
Revers transkriptase- eller DNA-polymerasehæmmere	Emtricitabin	Tenofovir
	Entecavir	Adefovir dipivoxil
	Foscarnet	Telbivudin
	Cidofovir	Aciclovir
	Lamivudin	Valganciclovir
	Ganciclovir	
Lægemiddelstoffer til behandling af opportunistiske infektioner	Azithromycin	Pyrazinamid
	Clarithromycin	Rifabutin
	Ethambutol	Rifampicin
	Fluconazol	Sulfamethoxazol
	Isoniazid	Trimethoprim
Statin	Atorvastatin	
Selektiv serotonin reuptake inhibitor	Fluxetin	Paroxetin
	Sertralin	
Antihistamin	Loratadin	
Betablokker	Nadolol	
Dekongestans	Fenylefrin HCl	
Ikke-steroidt antiinflammatorisk lægemiddel	Naproxen	Ibuprofen
Smertestillende middel	Acetaminofen	Acetylsalicylsyre
Vitaminer	Askorbinsyre	

Korrelation

EDTA-plasma og serum

Performance for **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative blev sammenlignet med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative Test, v2.0 (HIV-1 EDTA-plasmaprøver) og med en CE-mærket test til differentiering af HIV-1-/HIV-2-antistoffer (HIV-1 og HIV-2 EDTA-plasma- og serumprøver).

For at sikre overensstemmelse med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative Test, v2.0 blev de kliniske EDTA-plasmaprøver analyseret på ét eksternt laboratorium. For HIV-1-positive og HIV-1-negative kliniske EDTA-plasmaprøver blev der opnået en samlet procentoverensstemmelse på 100 % for de to test med påvisning af en tilsvarende performance for **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative and COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative Test, v2.0 (Tabel 29).

Tabel 29 Oversigt over resultater for metodekorrelation for HIV-1 EDTA-plasmaprøver

Metodekorrelation HIV-1 EDTA-plasmaprøver		COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative Test, v2.0	
		Reactive	Non-reactive
cobas ® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Reactive	68	0
	Non-reactive	0	80

For sammenligning af en CE-mærket test til differentiering af HIV-1/HIV-2-antistoffer blev de kliniske EDTA-plasma- eller serumprøver analyseret på ét eksternt laboratorium. For HIV-1-positive og HIV-1-negative EDTA-plasma- eller serumprøver blev der opnået en samlet procentoverensstemmelse på 100 % for de to test. For HIV-2-positive og HIV-2-negative EDTA-plasma- eller serumprøver blev der opnået en samlet procentoverensstemmelse på 99,7 % for de to test. Dette viser, at der er en tilsvarende performance for **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative og en CE-mærket test til differentiering af HIV-1/HIV-2-antistoffer (Tabel 30 og Tabel 31).

Tabel 30 Oversigt over resultater for metodekorrelation for HIV-1 EDTA-plasma- og serumprøver

Metodekorrelation HIV-1 EDTA-plasma- og serumprøver		CE-mærket test til differentiering af HIV-1/HIV-2-antistoffer		
		Reactive	Non-reactive	Tvivlsom
cobas ® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Reactive	138	0	0
	Non-reactive	0	164	1*

* Den prøve, der viste et ikke-reaktivt resultat med **cobas**® HIV-1/HIV-2 Qualitative og et tvivlsomt resultat med den CE-mærkede test til differentiering af HIV-1/HIV-2-antistoffer, blev bekræftet som værende negativ med en alternativ CE-mærket serologisk 4.-generationstest for HIV Ag/Ab.

Tabel 31 Oversigt over resultater for metodekorrelation for HIV-2 EDTA-plasma- og serumprøver

Metodekorrelation HIV-2 EDTA-plasma- og serumprøver		CE-mærket test til differentiering af HIV-1/HIV-2-antistoffer		
		Reactive	Non-reactive	Tvivlsom
cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Reactive	14	0	0
	Non-reactive	1	287	1*

* Den prøve, der viste et ikke-reaktivt resultat med cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative og et tvivlsomt resultat med den CE-mærkede test til differentiering af HIV-1/HIV-2-antistoffer, blev bekræftet som værende negativ med en alternativ CE-mærket serologisk 4.-generationstest for HIV Ag/Ab.

DBS

Performance for cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative blev sammenlignet med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative Test, v2.0 ved analyse af tidlige kliniske DBS-prøver fra spædbørn på ét eksternt laboratorium. For HIV-1-positive og HIV-1-negative DBS-prøver blev der opnået en samlet procentoverensstemmelse på 99,6 % for de to test med påvisning af en tilsvarende performance for cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative and COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative Test, v2.0 (Tabel 32).

Tabel 32 Oversigt over resultater for metodekorrelation for HIV-1 DBS-prøver

Metodekorrelation HIV-1 DBS-prøver		COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative Test, v2.0	
		Reactive	Non-reactive
cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative	Reactive	127	1*
	Non-reactive	0	151

* Den prøve, der viste et reaktivt resultat med cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative og et ikke-reaktivt resultat med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative Test, v2.0, blev bekræftet som værende HIV-1-positiv med indlejret PCR.

Systemfejlfrekvens

Den generelle systemfejlfrekvens blev bestemt for cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative ved test af 100 bestemmelser af EDTA-plasma og 100 bestemmelser af fuldblod for DBS, der var beriget med både HIV-1 gruppe M-undertype B og HIV-2. Disse prøver blev testet ved en target-koncentration på ca. 3 x LoD.

Resultaterne af denne undersøgelse viste, at alle bestemmelser var valide og positive for HIV-1- og HIV-2-target, hvilket medførte en generel systemfejlfrekvens på 0 % for EDTA-plasma og DBS. Det tosidede eksakte 95 % konfidensinterval var 0 % for den nedre grænse og 3,6 % for den øvre grænse for hvert target og hver matrix.

Krydskontaminering

Krydskontamineringsforholdet for cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative blev bestemt ved at teste 240 bestemmelser af HIV-negative DBS-prøver og 225 bestemmelser af en HIV-1 DBS-prøve med høj titer ved 2,0E+07 cp/ml. Undersøgelsen blev foretaget iht. arbejdsgangen for DBS-prøveforberedelse. I alt blev der udført fem kørsler med positive og negative prøver i en checkerboard-konfiguration.

Alle 240 bestemmelser af den negative prøve var ikke-reaktive, hvilket medførte et krydskontamineringsforhold på 0 %. 95 % konfidensintervallet var 0 % for den nedre grænse og 1,5 % for den øvre grænse.

Yderligere oplysninger

Vigtige testfunktioner

Prøvetype	EDTA-plasma, serum og Dried Blood Spots (DBS)		
Mindste påkrævede prøvemængde	650 µl for EDTA-plasma- og serumprøver eller én DBS-prøve (70 µl tørret blod pr. spot) i 1150 µl cobas [®] Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER)		
Prøvebehandlingsvolumen	500 µl for EDTA-plasma- og serumprøver eller 850 µl for DBS-prøver		
Analytisk sensitivitet	<u>HIV-1M</u>	<u>HIV-2</u>	
	EDTA-plasma	12,6 cp/ml	27,9 cp/ml
	Serum	12,1 cp/ml	23,4 cp/ml
	DBS	255 cp/ml	984 cp/ml
Specificitet	100 % (ensidet 95 % konfidensinterval: 99,5 %) (EDTA-plasma/serum)		
	100 % (ensidet 95 % konfidensinterval: 99,5 %) (DBS)		
Grupper/undertyper – inklusivitet	HIV-1M (A–D, F–H, J, K, CRF01_AE, CRF02_AG, CRF12_BF, CRF14_BG), HIV-1O, HIV-1N, HIV-2 (A og B)		

Symboler

Følgende symboler anvendes ved Roche PCR-diagnostiske produkter.

Tabel 33 Symboler, der er anvendt ved Roche PCR-diagnostiske produkter

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

Teknisk kundesupport i USA 1-800-526-1247

Producent og distributører

Tabel 34 Producent og distributører



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



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

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

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

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

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

Roche Diagnostics
2, Avenue du Vercors
38240 Meylan, France

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

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

Varemærker og patenter

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

Copyright

©2019 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referencer

1. AAHVM. Fundamentals of HIV Medicine. Washington, DC;2007.
2. UNAIDS. Global AIDS Update. Geneva;2016.
3. Hoover DR, Saah AJ, Bacellar H, et al. Clinical manifestations of AIDS in the era of pneumocystis prophylaxis. *N Engl J Med*. 1993;329(69):1922-6.
4. Campbell-Yesufu OT, Gandhi RT. Update on human immunodeficiency virus (HIV)-2 infection. *Clin Infect Dis*. 2011;52(6):780-7.
5. CDC. Laboratory Testing for the Diagnosis of HIV Infection. Atlanta, GA;2014.
6. Gökengin D, Geretti AM, Begovac J, et al. 2014 European Guideline on HIV testing. *Int J STD AIDS*. 2014;25(10):695-704.
7. Masciotra S, McDougal JS, Feldman J, Sprinkle P, Wesolowski L, Owen SM. Evaluation of an alternative HIV diagnostic algorithm using specimens from seroconversion panels and persons with established HIV infections. *J Clin Virol*. 2011;52 Suppl 1:S17-22.
8. O'Brien M, Markowitz M. Should we treat acute HIV infection? *Current HIV/AIDS Reports*. 2012;9(2):101-10.
9. Branson BM, Mermin J. Establishing the diagnosis of HIV infection: new tests and a new algorithm for the United States. *J Clin Virol*. 2011;52 Suppl 1:S3-4.
10. Cohen MS, Shaw GM, McMichael AJ, Haynes BF. Acute HIV-1 Infection. *N Engl J Med*. 2011;364(20):1943-54.
11. World Health Organization. Diagnosis of HIV infection in infants and children. Geneva, 2010.
12. Wittek M, Stürmer M, Doerr HW, Berger A. Molecular assays for monitoring HIV infection and antiretroviral therapy. *Expert Rev Mol Diagn*. 2007;7(3):237-46.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY)*. 1992;10:413-7.
17. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
18. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Dokumentrevision

Oplysninger om dokumentrevision	
Doc Rev. 2.0 10/2018	Ordlyden i beskrivelsen af den påkrævede heater/shaker-model er opdateret. Sætningen i produktsikkerhedsmærkningen for P-Code P310 for cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER) er opdateret. Mindre grammatiske og formateringsmæssige ændringer. Opdateret advarsler om farer. Beskrivelser af siden med harmoniserede symboler er opdateret, og symbolet Rx Only samt dets beskrivelse er tilføjet. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.
Doc Rev. 3.0 01/2019	Beskrivelsen af screeningstest til NHP-screening i Tabel 2, Tabel 3 og i afsnittet Advarsler og forholdsregler er opdateret. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.