

cobas[®] HIV-1

**Nukleorūgščių tyrimas,
atliekamas su cobas[®] 4800 sistema**

Skirtas *in vitro* diagnostikai

cobas[®] HIV-1	120 Tests	P/N: 08792992190
cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	10 Sets	P/N: 06979572190
cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit 2	240 Tests 960 Tests	P/N: 06979513190 P/N: 06979521190
cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit	240 Tests 960 Tests	P/N: 05235863190 P/N: 05235871190
cobas[®] 4800 System Specimen Diluent 2	240 Tests	P/N: 06979556190
cobas[®] 4800 System Lysis Kit 2	240 Tests 960 Tests	P/N: 06979530190 P/N: 06979548190
cobas[®] Specimen Pre-Extraction Reagent		P/N: 08064695190

TURINYS

Numatytasis naudojimas

Informacija apie turinį	6
-------------------------------	---

cobas® HIV-1 tyrimo, skirto kiekybiniam ŽIV-1 RNR įvertinimui plazmoje ir sausos plazmos lašuose, santrauka ir aiškinimas

Kontekstas	7
HIV-1 kiekybinio tyrimo pagrindimas	7
Kiekybinio tyrimo aiškinimas	8
Procedūros principai	8

cobas® HIV-1 kiekybiniame tyrime naudojamos medžiagos ir reagentai

Reagentai	9
cobas® mėginio išankstinio išskyrimo reagentas	15
Reagentų laikymo ir naudojimo reikalavimai	16
Papildomos reikalingos medžiagos	16
Papildomos medžiagos, reikalingos tik PSC sausos plazmos lašo mėginiui apdoroti	17
cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo supaprastintų terminų žodynelis	17
cobas® HIV-1 kiekybiniam tyrimui būtini, bet nepateikiami instrumentai ir programinė įranga	18
cobas® HIV-1 kiekybiniam tyrimui tinkami mėgintuvėliai	18

cobas® HIV-1 kiekybiniam tyrimui taikomos atsargumo priemonės ir naudojimo reikalavimai

Perspėjimai ir atsargumo priemonės	19
Gera laboratorinė praktika	20
Reagentų naudojimas	20
Užteršimas	20
Sąžiningumo principai	21
Atliekų šalinimas	21
Išliejimas ir valymas	21
Mėginių rinkimas, transportavimas ir laikymas	21
EDTA plazmos mėginiai	22
PSC sausos plazmos lašo mėginiai	22

cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo naudojimo instrukcijos

PSC sausos plazmos lašo mėginio paruošimas ir preanalitinė procedūra	24
cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo atlikimas	29
cobas® HIV-1 kiekybiniam tyrimui naudojami mėginių tipai ir apdorojimo tūris	29
cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo apimtis	29
cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo procedūros – viena ir mišri partija	29
HIV-1 kiekybinio tyrimo, atliekamo kaip viena partija, darbo eiga	32
HIV-1 kiekybinio tyrimo, atliekamo kartu su HIV-1 kokybiniu tyrimu (HIV-1-qual-DBS), darbo eiga	34

cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo rezultatai

cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo kokybės kontrolė ir rezultatų patikimumas	37
cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo kontrolių rezultatų aiškinimas	37
cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo rezultatų aiškinimas	38
cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo rezultatų žymų sąrašas	39
Procedūros apribojimai	40

cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo neklinikinis efektyvumo įvertinimas

Pagrindinės EDTA plazmos mėginių eksploatacinės savybės	41
EDTA plazmos mėginiams taikoma aptikimo riba (LoD)	41
EDTA plazmos mėginiams taikomas linijinis intervalas	42
Tikslumas – laboratorijoje naudojant EDTA plazmos mėginius.....	43
Grupės / potipio patvirtinimas naudojant EDTA plazmos mėginius.....	44
M grupės potipių, O grupės ir N grupės aptikimo ribos įvertinimas	44
M grupės potipių, O grupės ir N grupės linijinio intervalo įvertinimas	45
Analitinis specifiškumas	45
Analitinis specifiškumas – interferuojančios medžiagos	45
Visos sistemos sutrikimas naudojant EDTA plazmos mėginius	46
Kryžminis užteršimas naudojant EDTA plazmos mėginius	46
PSC sausos plazmos lašo mėginių pagrindinės eksploatacinės savybės	47
Aptikimo riba (LoD) naudojant PSC.....	47
Linijinis intervalas taikant PSC.....	47
Tikslumas – laboratorijoje naudojant PSC.....	48
Visos sistemos sutrikimas naudojant PSC	49

cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo klinikinis efektyvumo įvertinimas

EDTA plazmos mėginiams taikoma metodų koreliacija.....	49
EDTA plazmos mėginių specifiškumas.....	50

PSC sausos plazmos lašo mėginių eksploatacinės savybės, palyginti su EDTA plazmos mėginiais**cobas® HIV-1 tyrimo, skirto ŽIV-1 kokybiniam nustatymui sauso kraujo lašuose, santrauka ir aiškinimas**

Kontekstas	52
HIV-1 kokybinio tyrimo pagrindimas	52
HIV-1 kokybinio tyrimo aiškinimas	52
Procedūros principai	52

cobas® HIV-1 kokybiniame tyrime naudojamos medžiagos ir reagentai

Reagentai	54
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent	60
Reagentų laikymo ir naudojimo reikalavimai	61
Papildomos reikalingos medžiagos	61
cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo supaprastintų terminų žodynėlis	62
cobas® HIV-1 kokybiniam tyrimui būtini, bet nepateikiami instrumentai ir programinė įranga	63
cobas® HIV-1 kokybiniam tyrimui tinkami mėgintuvėliai	63

cobas® HIV-1 kokybiniam tyrimui taikomos atsargumo priemonės ir naudojimo reikalavimai

Perspėjimai ir atsargumo priemonės	63
Gera laboratorinė praktika	64
Reagentų naudojimas	64
Užteršimas	65
Sąžiningumo principai	65
Atliekų šalinimas	65
Išliejimas ir valymas	65
Mėginių rinkimas, transportavimas ir laikymas	66
Sauso kraujo lašai	66

cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo naudojimo instrukcijos

Sauso kraujo lašo (DBS) mėginio paruošimas ir preanalitinė procedūra	66
cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo atlikimas	67
cobas® HIV-1 kokybiniam tyrimui naudojamas mėginio tipas ir apdorojimo tūris	67
cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo apimtis	68
cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo procedūros	68
HIV-1 kokybinio tyrimo (HIV-1-qual-DBS), atliekamo kaip viena partija, darbo eiga	70

cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo rezultatai

cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo kokybės kontrolė ir rezultatų patikimumas	72
cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo kontrolių rezultatų aiškinimas	72
cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo rezultatų aiškinimas	72
cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo rezultatų žymų sąrašas	73
Procedūros apribojimai	73

cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo neklinikinio efektyvumo įvertinimas

DBS mėginių pagrindinės eksploatacinės ypatybės	74
Aptikimo riba (LoD) naudojant DBS	74
Atkartojamumas naudojant DBS	75
Visos sistemos sutrikimas naudojant DBS	76

cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo DKL klinikinio efektyvumo įvertinimas

Metodų koreliacija naudojant DKL	76
Specifiškumas naudojant DBS	76

Papildoma informacija

EDTA plazmos mėginių tyrimo pagrindinės ypatybės	77
PSC sausos plazmos lašo mėginių tyrimo pagrindinės ypatybės	77
DBS mėginių tyrimo pagrindinės ypatybės	77
Trumpas procedūrų vadovas	78
Simboliai	79
Techninė parama	80
Gamintojas	80
Prekių ženklai ir patentai	80
Autorių teisės	80
Šaltinių sąrašas	81
Dokumento leidimas	82

Numatytasis naudojimas

cobas® HIV-1:

cobas® HIV-1 yra *in vitro* nukleorūgšties amplifikacijos tyrimas 1 tipo žmogaus imunodeficito virusui (ŽIV-1) kiekybiškai įvertinti EDTA plazmoje arba plazmos atskyrimo kortelės **cobas® Plasma Separation Card (PSC)** sausos plazmos laše ir ŽIV-1 kokybiškai nustatyti ŽIV-1 infekuotų kūdikių, gimusių motinoms, infekuotoms ŽIV-1, sauso kraujo lašuose. Šį tyrimą reikia atlikti su **cobas® 4800** sistema. Šis tyrimas skirtas naudoti ŽIV-1 infekuotų pacientų klinicinei priežiūrai atsižvelgiant į klinikinę situaciją ir kitus laboratorinius ligos progreso žymenis.

Tiriant kiekybiškai, šį tyrimą galima naudoti kaip pagalbinę priemonę ŽIV-1 infekcijos diagnozei antikūnams jautriems asmenims patvirtinti ir siekiant įvertinti paciento būklės prognozę, išmatuojant pradinį ŽIV-1 RNR lygį, arba siekiant stebėti antiretrovirusinę terapiją, gydymo kurso metu matuojant ŽIV-1 RNR lygių pokyčius.

Naudojant kokybinį sauso kraujo lašo testą, ŽIV-1 nukleorūgščių radimas indikuotinas nustatant aktyvią ŽIV-1 infekciją kūdikiams, gimusiems ŽIV infekuotoms motinoms, kurios turi motinos antikūnus prieš ŽIV-1.

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit:

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit skirtas naudoti kaip teigiamo ir neigiamo tyrimo kontrolė **cobas® 4800** sistemoje su **cobas® HBV**, **cobas® HCV** ir **cobas® HIV-1** tyrimais.

Informacija apie turinį

cobas® HIV-1 sudaro kiekybinio ir kokybinio tyrimo procedūros, o kiekybinio ir kokybinio tyrimo procedūroms naudojamas toks pat amplifikacijos / aptikimo rinkinys ir kontrolinis rinkinys. Tačiau kiekybinis ir kokybinis tyrimai turi esminių skirtumų, todėl abiejų tyrimų aprašymai pateikiami atskiruose skyriuose.

Ankstesniuose šio dokumento skyriuose pateikiama informacija apie **cobas® HIV-1** kiekybinio tyrimo santrauką ir aiškinimą, reikalingas medžiagas ir reagentus, atsargumo priemones ir naudojimo reikalavimus, naudojimo instrukcijas, rezultatus ir neklinikinį efektyvumo įvertinimą. Po šios informacijos pateikiami lygiaverčiai skyriai, kuriuose pristatomas **cobas® HIV-1** kokybinis tyrimas.

cobas® HIV-1 tyrimo, skirto kiekybiniam ŽIV-1 RNR įvertinimui plazmoje ir sausos plazmos lašuose, santrauka ir aiškinimas

Kontekstas

ŽIV yra etiologinis įgyto imunodeficito sindromo (AIDS) agentas. Po serokonversijos infekuotų asmenų būklė pasiekia kliniškai stabilią, santykinai besimptomę fazę, kuri gali trukti kelerius ar daugiau metų. Besimptomiam laikotarpiui būdinga nuolatinė viremija plazmoje, kurios lygį lemia paciento genetika ir laipsniškas CD4⁺ T limfocitų skaičiaus mažėjimas. Nors periferiniame kraujyje viruso lygis besimptomės infekcijos fazės metu yra santykinai žemas, viruso replikacija ir pašalinimas yra dinamiški procesai, kurių metu aukštus viruso gamybos ir CD4⁺ ląstelių infekavimo lygius kompensuoja aukšti viruso pašalinimo, infekuotų ląstelių žūties ir CD4⁺ ląstelių atkūrimo lygiai, taip palaikydami santykinai stabilius vidutinio asmens, gyvenančio su ŽIV, plazmos viremijos ir CD4⁺ ląstelių lygius maždaug 8 metus.

Kiekybiniai ŽIV viremijos plazmoje matavimai parodė, kad aukštesnis viruso lygis susijęs su spartesne ŽIV susirgimo klinicine progresija.^{1, 2} Be to, beveik per du dešimtmečius trukusius klinikinius tyrimus buvo nustatyta, kad viruso lygio plazmoje sumažėjimas, taikant antiretrovirusinę terapiją (ART), pastebimai sumažina klinikinės progresijos riziką, įskaitant mirtį, AIDS išsivystymą, oportunistines infekcijas ir su ŽIV susijusį sergamumą.³ ŽIV virusų kiekis taip pat leidžia prognozuoti ŽIV perdavimo riziką, o atsitiktinių imčių kontroliuojamų klinikinių bandymų metu buvo nustatyta, kad ankstyvas ART taikymas sumažinant virusų kiekį, sumažina ŽIV perdavimą iki 96 %.⁴

HIV-1 kiekybinio tyrimo pagrindimas

Šiuo metu siūloma daugybė antiretrovirusinių vaistų, nukreiptų į virusinę proteazę, integrazę, apvalkalą ir atvirkštinę transkriptazę. Genotipinė skirtingų dangalų virusų analizė parodė natūraliai vykstančius ir vaistų sukeltus nukleotidų pokyčius, polimorfizmus ir antrines mutacijas ŽIV-1 pol geno atvirkštinės transkriptazės, integrazės ir proteazės regionuose. Atsparumo tyrimas tapo svarbiu diagnostikos įrankiu valdant ŽIV-1 infekcijas ir inicijuojamas, kai paciento virusų kiekis pakyla iki sekoskaitos tyrimais aptinkamo lygio. Svarbiausia, kad stebint viruso kiekį sumažėjo atsparumo vaistams rizika ir tai kliniškai laikoma aktyvios viruso replikacijos, pranašaujančios viruso vystymąsi gydomuose pacientuose, signaliniu indikatoriumi.^{5, 6} Todėl yra daug nacionalinių ir tarptautinių rekomendacijų matuoti ŽIV-1 viruso kiekį.^{3, 7–9}

Daug metų rekomendacijose buvo nurodoma, kad pagrindinis gydymo tikslas yra ŽIV-1 virusų kiekio mažinimas žemiau tyrimo aptikimo ribos (pvz., 50 kopijų/ml). Nuo 2011 m. Jungtinių Amerikos Valstijų ŽIV gydymo rekomendacijose nurodoma, kad didesnis nei 200 kopijų/ml viruso kiekis pas ART pacientus nebūtinai yra nesėkmingo gydymo indikatorius.³ Europoje ir toliau rekomenduojama kaip nesėkmingo gydymo slenkstį naudoti 50 kopijų/ml reikšmę.⁷ Teisingas naudotinas slenkstis tiksliais klinikiniais bandymais nebuvo apibrėžtas. Nedideli galutinio viruso kiekio tyrimo rezultatų skirtumai gali lemti svarbius viruso kiekio tyrimo rezultatų klinikinio interpretavimo skirtumus stebint atsaką į gydymą,^{10, 11} nes gydymo tikslas yra sumažinti viruso kiekį iki lygio, kai nesitikima, kad išsivystys atsparumas vaistams, tačiau konkrečiai šis kiekis nenustatytas.¹² 2013 m. liepos mėn. PSO taip pat pradėjo teikti rekomendacijas viruso kiekį nustatyti net ir tose situacijose, kai išteklių nepakanka, o 1000 kopijų/ml kiekis yra riba nustatant virusologinio gydymo nesėkmę, kai reikia apsispręsti dėl gydymo valdymo. PSO pastaruoju metu taip pat rekomenduoja naudoti sauso lašo mėginius ir išplėsti viruso kiekio tyrimus situacijose, kai nepakanka išteklių, kai neįmanoma atlikti flebotomijos ar griežtai kontroliuojamomis sąlygomis gabenti EDTA plazmos mėginio.¹³ **PSC** sausos plazmos lašas, kai ŽIV RNR yra stabilizuojama sausoje plazmoje, gali pagerinti viruso kiekio tyrimo prieinamumą nepakankamų išteklių sąlygomis ir suteikti galimybę gabenti mėginį ilgesniais atstumais ir atšiauresnėmis aplinkos sąlygomis nei EDTA plazmos mėginį.

Be to, kartu su reakcijos į gydymą stebėjimu rekomenduojama įvertinti viruso kiekį, kad būtų galima nustatyti, ar pacientui, kurio CD4+ ląstelių skaičius yra > 500 ląstelių/mm³ (viruso kiekis $> 100\,000$ kopijų/ml), reikia pradėti ART ir užtikrinti, kad atitinkamų pacientų (pacientų, kurių viruso kiekis $> 1\,000$ kopijų/ml arba viruso kiekio reakcija į ART yra neoptimali) atsparumo vaistui sekoskaita bus sėkminga. Norint nustatyti, ar gimdymo metu reikia atlikti Cezario pjūvį (nėščiosioms, kurių viruso kiekis yra $> 1\,000$ kopijų/ml), siekiant išvengti ŽIV infekcijos perdavimo iš motinos vaikui, prenataliniu laikotarpiu reikėtų atlikti viruso kiekio įvertinimą.

Kiekybinio tyrimo aiškinimas

cobas® HIV-1 galima naudoti kaip kiekybinį nukleorūgšties tyrimą, atliekamą naudojant **cobas®** 4800 sistemą. **cobas®** HIV-1 kiekybinis tyrimas leidžia aptikti ir kiekybiškai įvertinti ŽIV RNR infekuotų pacientų EDTA plazmoje arba **PSC** sausos plazmos laše. Aptikimui ir kiekybiniam įvertinimui, neišskiriant grupių M, N ir O potipių, naudojami du zondai. Virusų kiekis nustatomas lyginant su ne ŽIV apsaugotos RNR kiekybiniu standartu (RNA QS), kuris mėginių apdorojimo metu įvedamas į kiekvieną mėginį. RNA QS veikia kaip vidinė kontrolė, skirta stebėti visam mėginio paruošimui ir PGR amplifikacijos procesui. Papildomai tyrime naudojamos trys išorinės kontrolės: teigiama didelio titro, teigiama mažo titro ir neigiama kontrolė. Stipriai teigiamos ir silpnai teigiamos kontrolės gaminamos skiedžiant ląstelių kultūros medžiagą, kuri titruojama pagal ŽIV-1 2 PSO tarptautinį standartą. Kiekvieno amplifikacijos / aptikimo rinkinio partija yra kalibruota pagal ŽIV-1 2 PSO tarptautinį standartą (NIBSC kodas 97/650).

Procedūros principai

cobas® HIV-1 kiekybinis tyrimas pagrįstas visiškai automatizuotu mėginių paruošimu (nukleorūgščių išgavimu ir išgryninimu), po kurio atliekama PGR amplifikacija ir aptikimas. **cobas®** 4800 sistemą sudaro **cobas®** x 480 mėginio paruošimo instrumentas ir **cobas®** z 480 realiojo laiko PGR analizatorius. **cobas®** 4800 programinė įranga atlieka automatizuotą duomenų valdymą, kurio metu visiems tyrimams priskiriami tyrimo rezultatai: target not detected (neaptikta), $< \text{LLOQ}$ (apatinė kiekybinio įvertinimo riba), $> \text{ULOQ}$ (viršutinė kiekybinio įvertinimo riba) arba HIV RNA detected (ŽIV RNR aptikta) nurodant reikšmę $\text{LLOQ} \leq x \leq \text{ULOQ}$ linijiniame intervale. Rezultatus galima tiesiogiai peržiūrėti sistemos ekrane, eksportuoti arba išspausdinti kaip ataskaitą.

Nukleorūgštys iš paciento mėginių, išorinių kontrolių ir RNR QS molekulių išgaunamos vienu metu. Apibendrinant virusų nukleorūgštys išskiriamos į mėginį pridėjus proteinazės ir lizės reagento. Išlaisvintos nukleorūgštys prisijungia prie pridėtų magnetinių stiklo dalelių silicio dioksido paviršiaus. Vėlesniame etape plovimo reagentais pašalinamos neprisijungusios medžiagos ir nešvarumai, pvz., denatūruoti baltymai, ląstelių liekanos ir galimi PGR inhibitoriai, o nuo magnetinių stiklo dalelių aukštoje temperatūroje elucijos buferiniu tirpalu nuplaunamos išgrynintos nukleorūgštys.

Atrankinė tiriamų nukleorūgščių amplifikacija iš mėginio atliekama naudojant tiriamam virusui būdingus tiesioginius ir atvirkštinius pradmenis, kurie parenkami iš labai konservatyvių ŽIV regionų. ŽIV-1 gag genas ir ŽIV-1 LTR regionas (dvigubas taikinis) amplifikuojami naudojant **cobas®** HIV-1. Atrankinė RNR QS amplifikacija atliekama naudojant sekai būdingus tiesioginius ir atvirkštinius pradmenis, kurie parenkami taip, kad neturėtų homologijų su ŽIV genomu. Atvirkštinei transkripcijai ir PGR amplifikacijai naudojamas šilumai atsparios DNR polimerazės fermentas. Tiriamos ir RNR QS sekos amplifikuojamos vienu metu naudojant universalųjį PGR amplifikacijos protokolą su iš anksto apibrėžtais temperatūros etapais bei ciklų skaičiumi. Į pagrindinį mišinį įeina deoksiuridino trifosfatas (dUTP), o ne deoksitimidino trifosfatas (dTTP), kuris inkorporuojamas į naujai susintetintą DNR (amplifikacijos produktą).^{14–16} AmpErase fermentas, įdėtas į PGR mišinį pirmojo terminio ciklo metu, pašalina bet kokius užteršiančius ankstesnių PGR procesų amplifikacijos produktus. Tačiau bet kokie iš naujo susiformavę amplifikacijos produktai nepašalinami, nes AmpErase fermentas tampa neaktyvus aukštesnėje nei 55 °C temperatūroje.

cobas® HIV-1 pagrindiniame mišinyje yra du aptikimo zondai būdingi ŽIV-1 tiriamoms sekoms ir vienas – RNR QS. Zondai pažymėti taikiniui specifiskomis fluorescencinėmis signalinėmis dažomosiomis medžiagomis, leidžiančiomis vienu metu aptikti ŽIV-1 taikinius ir RNR QS dviejuose skirtinguose aptikimo kanaluose.^{17, 18}

Prie tikslinės sekos neprisijungusių, nepažeistų zondų fluorescentinį signalą slopina slopinamasis dažiklis. Vykstant PGR amplifikacijai, zondams prisijungus prie specifinės viengrandės DNR sekos, DNR polimerazė, dėl savo 5'–3' egz nukleazinio aktyvumo zondus perkerpa, dėl ko atskiriami signaliniai ir slopinamieji dažikliai ir sugeneruojamas fluorescencinis signalas. Su kiekvienu PGR ciklu sukuriami vis daugiau suskaidytų zondų ir stiprėja kaupiamasis signalinio dažiklio signalas. PGR produktai aptinkami ir atskiriami realiuoju laiku išmatuojant atpalaiduotų virusų taikinių ir RNR QS signalinių dažomųjų medžiagų fluorescenciją.

cobas® HIV-1 kiekybiniame tyrime naudojamos medžiagos ir reagentai

Reagentai

Visi neatidaryti reagentai ir kontrolės turi būti laikomi, kaip rekomenduojama lentelėje Reagentų laikymo ir naudojimo reikalavimai.

Rinkinys	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® HIV-1 120 tyrimų (P/N: 08792992190)	MMX R1 (cobas® pagrindinio mišinio 1 reagentas) Mangano acetatas, kalio hidroksidas, < 0,1 % natrio azidas	10 × 1,75 ml	Nėra
	HIV-1 MMX R2 (cobas® HIV-1 pagrindinio mišinio 2 reagentas) Tricino buferis, kalio acetatas, 18 % dimetilsulfoksidas, glicerolis, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01 % ŽIV pradmenys, < 0,01 % kiekybinio standarto tiesioginiai ir atvirkštiniai pradmenys, < 0,01 % fluorescencine žyme pažymėti oligonukleotidų zondai, specifiniai ŽIV ir kiekybiniam standartui, < 0,01 % oligonukleotidinis aptameras, < 0,01 % Z05D DNR polimerazė (mikrobinė), < 0,01 % fermentas AmpErase (uracil-N- glikozilazė) (mikrobinis), < 0,1 % natrio azidas	10 × 0,5 ml	Nėra
	RNA QS (cobas® RNR kiekybinis standartas) Tris buferis, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % ne ŽIV kilmės apsaugotos RNR konstruktas su pradmeniui ir zondui specifinės sekos regionais (neinfekcinė RNR MS2 bakteriofage), < 0,1 % natrio azidas	10 × 1,75 ml	Nėra

^a Produkto saugos žymėjimas atliekamas vadovaujantis ES GHS gairėmis.

Rinkinyys	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit 10 rinkinių (P/N: 06979572190)	HBV/HCV/HIV-1 L(+)C (cobas® HBV/HCV/HIV-1 silpnai teigiama kontrolė) < 0,001 % sintetinė (apsaugota) ŽIV-1 M grupės RNR, įkapsuluota MS2 bakteriofago apvalkalo baltyme, < 0,001 % sintetinė (plazmidė) HBV DNR, įkapsuluota Lambda bakteriofago apvalkalo baltyme, < 0,001 % sintetinė (apsaugota) HCV RNR, įkapsuluota MS2 bakteriofago apvalkalo baltyme, įprasta žmogaus kraujo plazma, nereaktyvi pagal licencijuotus ŽIV-1/2 antikūnų, HCV antikūnų, HBsAg, HBc antikūnų tyrimus; ŽIV-1 RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR neaptinkama PGR metodais 0,1 % ProClin® 300 konservantas ^b	10 × 0,75 ml	  ATSARGIAI H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. P261: Stengtis neįkvėpti dulkių / dūmų / dujų / rūko / garų / aerozolio. P272: Užterštų darbo drabužių negalima išnešti iš darbo vietos. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P362 + P364: Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl apsivelkant. P501: Turinį / talpyklą išpilti (išmesti) patvirtintoje atliekų šalinimo įmonėje. 55965-84-9 Reakcijos masė: 5-chloro-2-metil-4-izotiazolin-3-onas [EB nr. 247-500-7] ir 2-metil-2H-izotiazol-3-onas [EB nr. 220-239-6] (3:1).
	HBV/HCV/HIV-1 H(+)C (cobas® HBV/HCV/HIV-1 stipriai teigiama kontrolė) < 0,001 % sintetinė (apsaugota) ŽIV-1 M grupės RNR, įkapsuluota MS2 bakteriofago apvalkalo baltyme, < 0,001 % sintetinė (plazmidė) HBV DNR, įkapsuluota Lambda bakteriofago apvalkalo baltyme, < 0,001 % sintetinė (apsaugota) HCV RNR, įkapsuluota MS2 bakteriofago apvalkalo baltyme, įprasta žmogaus kraujo plazma, nereaktyvi pagal licencijuotus ŽIV-1/2 antikūnų, HCV antikūnų, HBsAg, HBc antikūnų tyrimus; ŽIV-1 RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR neaptinkama PGR metodais 0,1 % ProClin® 300 konservantas ^b	10 × 0,75 ml	  ATSARGIAI H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. P261: Stengtis neįkvėpti dulkių / dūmų / dujų / rūko / garų / aerozolio. P272: Užterštų darbo drabužių negalima išnešti iš darbo vietos. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P362 + P364: Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl apsivelkant. P501: Turinį / talpyklą išpilti (išmesti) patvirtintoje atliekų šalinimo įmonėje. 55965-84-9 Reakcijos masė: 5-chloro-2-metil-4-izotiazolin-3-onas [EB nr. 247-500-7] ir 2-metil-2H-izotiazol-3-onas [EB nr. 220-239-6] (3:1).

Rinkiny	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit 10 rinkinių (P/N: 06979572190)	(–) C (cobas® neigiama kontrolė) Įprasta žmogaus kraujo plazma, nereaktyvi pagal licencijuotus ŽIV-1/2 antikūnų, HCV antikūnų, HBsAg, HBc antikūnų tyrimus; ŽIV-1 RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR neaptinkama PGR metodais < 0,1 % ProClin® 300 konservantas ^b	10 × 0,75 ml	  ATSARGIAI H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. P261: Stengtis neįkvėpti dulkių / dūmų / dujų / rūko / garų / aerozolio. P272: Užterštų darbo drabužių negalima išnešti iš darbo vietos. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P362 + P364: Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl apsivelkant. P501: Turinį / talpyklą išpilti (išmesti) patvirtintoje atliekų šalinimo įmonėje. 55965-84-9 Reakcijos masė: 5-chloro-2-metil-4-izotiazolin-3-onas [EB nr. 247-500-7] ir 2-metil-2H-izotiazol-3-onas [EB nr. 220-239-6] (3:1).

^a Produkto saugos žymėjimas atliekamas vadovaujantis ES GHS gairėmis.

^b Pavojiinga medžiaga.

Rinkiny	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 240 tyrimų (P/N: 06979513190)	MGP 2 (cobas® 4800 MGP 2-as reagentas) Magnetinės stiklo dalelės, Tris buferinis tirpalas, 0,1 % metil-4 hidroksibenzoatas, < 0,1 % natrio azidas	10 × 8 ml	Nėra
	EB 2 (cobas® 4800 eliuacijos 2 buferinis tirpalas) Tris buferinis tirpalas, 0,2 % metil-4 hidroksibenzoatas	10 × 17 ml	Nėra
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 960 tyrimų (P/N: 06979521190)	MGP 2 (cobas® 4800 MGP 2-as reagentas) Magnetinės stiklo dalelės, Tris buferinis tirpalas, 0,1 % metil-4 hidroksibenzoatas, < 0,1 % natrio azidas	10 × 16 ml	Nėra
	EB 2 (cobas® 4800 eliuacijos 2 buferinis tirpalas) Tris buferinis tirpalas, 0,2 % metil-4 hidroksibenzoatas	10 × 17 ml	Nėra

Rinkinys	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 tyrimų (P/N: 05235863190)	WB (cobas® 4800 sistemos plovimo buferis tirpalas) Natrio citrato dihidratas, 0,05 % N-metilizotiazolono HCl ^b	10 × 55 ml	 ATSARGIAI H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. P261: Stengtis neįkvėpti garų arba aerozolio. P272: Užterštų darbo drabužių negalima išnešti iš darbo vietos. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P362 + P364: Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl apsivelkant. P501: Turinį / talpyklą išpilti (išmesti) patvirtintoje atliekų šalinimo įmonėje. 26172-54-3 2-metil-2H-izotiazol-3-ono hidrochloridas
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 tyrimų (P/N: 05235871190)	WB (cobas® 4800 sistemos plovimo buferis tirpalas) Natrio citrato dihidratas, 0,05 % N-metilizotiazolono HCl ^b	10 × 200 ml	 ATSARGIAI H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. P261: Stengtis neįkvėpti garų arba aerozolio. P272: Užterštų darbo drabužių negalima išnešti iš darbo vietos. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P362 + P364: Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl apsivelkant. P501: Turinį / talpyklą išpilti (išmesti) patvirtintoje atliekų šalinimo įmonėje. 26172-54-3 2-metil-2H-izotiazol-3-ono hidrochloridas
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2 240 tyrimų (P/N: 06979556190)	SD 2 (cobas® 4800 sistemos 2 mėginio skiediklis) Tris buferinis tirpalas, 0,1 % metil-4 hidroksibenzoatas, < 0,1 % natrio azidas	10 × 8 ml	Nėra

^a Produkto saugos žymėjimas atliekamas vadovaujantis ES GHS gairėmis.^b Pavojinga medžiaga.

Rinkinys	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 240 tyrimų (P/N: 06979530190)	P 2 cobas® 4800 proteazė 2 Tris buferis, < 0,05 % EDTA, kalcio chloridas, kalcio acetatas, 8 % (masė / tūris) proteinazė ^b	10 × 1,0 ml	 PAVOJINGA H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. H334: Įkvėpus gali sukelti alerginę reakciją, astmos simptomus arba apsunkinti kvėpavimą. P261: Stengtis neįkvėpti garų arba aerozolio. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P284: Naudoti kvėpavimo takų apsaugos priemonės. P304 + P340: ĮKVĖPUS: išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P342 + P311: Jeigu pasireiškia respiraciniai simptomai: skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. 39450-01-6 Proteinazė, <i>Tritirachium album</i> serinas
	LYS 2 (cobas® 4800 lizės buferinis tirpalas 2) 43 % (masė / masė) guanidino tiocianatas ^b , 5 % (masė / tūris) polidokanolis ^b , 2 % (masė / tūris) ditiotreitolis ^b , natrio citrato dihidratas	10 × 27 ml	 PAVOJINGA H302: Kenksminga prarijus. H314: Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. H411: Toksiška vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus. EUH032: Kontaktuojama su rūgštimis išskiria labai toksiškas dujas. EUH071: Ėsdina kvėpavimo takus. P273: Saugoti, kad nepatektų į aplinką. P280: Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemonės / naudoti klausos apsaugos priemonės. P303 + P361 + P353: PATEKUS ANT ODOS (arba plaukų): nusivilkite visus užterštus drabužius. Nuplaukite odą vandeniu. P304 + P340 + P310: ĮKVĖPUS: išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. P305 + P351 + P338 + P310: PATEKUS Į AKIS: kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. P391: Surinkti ištekėjusią medžiagą. 593-84-0 Guanidino tiocianatas 9002-92-0 Polidokanolis 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diolis

Rinkinys	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 960 tyrimų (P/N: 06979548190)	P 2 cobas® 4800 proteazė 2 Tris buferis, < 0,05 % EDTA, kalcio chloridas, kalcio acetatas, 8 % (masė / tūris) proteinazė ^b	10 × 1,0 ml	 PAVOJINGA H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. H334: Įkvėpus gali sukelti alerginę reakciją, astmos simptomus arba apsunkinti kvėpavimą. P261: Stengtis neįkvėpti garų arba aerozolio. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P284: Naudoti kvėpavimo takų apsaugos priemonės. P304 + P340: ĮKVĖPUS: išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P342 + P311: Jeigu pasireiškia respiraciniai simptomai: skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. 39450-01-6 Proteinazė, <i>Tritirachium album</i> serinas
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 960 tyrimų (P/N: 06979548190)	LYS 2 (cobas® 4800) lizės buferinis tirpalas 2) 43 % (masė / masė) guanidino tiocianatas ^b , 5 % (masė / tūris) polidokanolis ^b , 2 % (masė / tūris) ditiotreitolis ^b , natrio citrato dihidratas	10 × 84 ml	 PAVOJINGA H302: Kenksminga prarijus. H314: Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. H411: Toksiška vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus. EUH032: Kontaktuojama su rūgštimis išskiria labai toksiškas dujas. EUH071: Ėsdina kvėpavimo takus. P273: Saugoti, kad nepatektų į aplinką. P280: Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemonės / naudoti klausos apsaugos priemonės. P303 + P361 + P353: PATEKUS ANT ODOS (arba plaukų): nusivilkite visus užterštus drabužius. Nuplaukite odą vandeniu. P304 + P340 + P310: ĮKVĖPUS: išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. P305 + P351 + P338 + P310: PATEKUS Į AKIS: kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. P391: Surinkti išteklėjusią medžiagą. 593-84-0 Guanidino tiocianatas 9002-92-0 Polidokanolis 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diolis

^a Produkto saugos žymėjimas atliekamas vadovaujantis ES GHS gairėmis.^b Pavojinga medžiaga.

cobas® mėginio išankstinio išskyrimo reagentas

Pastaba: šis reagentas yra pasirinktinis ir turėtų būti naudojamas tik kartu su cobas® plazmos atskyrimo kortele (PSC) sausos plazmos lašo mėginiams generuoti. Žr. PSC metodo lapą ms_09411763190.

Rinkinys	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (P/N 08064695190)	SPER (cobas® mėginio išankstinio išskyrimo reagentas) 28 % (w/w) guanidino tiocianatas ^b , 6 % (w/v) polidokanolis ^b , 1 % (w/v) ditiotreitolis, natrio citrato dihidratas	15 × 40 ml	 PAVOJINGA H302 Kenksmingas prarijus. H314 Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. H412 Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus. EUH032 Kontaktuojama su rūgštimis išskiria labai toksiškas dujas. P273 Saugoti, kad nepatektų į aplinką. P280 Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones. P301 + P330 + P331 PRARIJUS: išskalauti burną. NESKATINTI vėmimo. P303 + P361 + P353 PATEKUS ANT ODOS (arba plaukų): nusivilkite visus užterštus drabužius. Nuplaukite odą vandeniu. P304 + P340 + P310 ĮKVĖPUS: Išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. P305 + P351 + P338 + P310 PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. 593-84-0 guanidino tiocianatas 9002-92-0 polidokanolis

^a Produkto saugos žymėjimas atliekamas vadovaujantis ES GHS gairėmis.

^b Pavojinga medžiaga.

Reagentų laikymo ir naudojimo reikalavimai

Reagentai	Laikymo temperatūra	Laikymo laikas
cobas® HIV-1	2–8 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	2–8 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2–8 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	15–25 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2	2–8 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.
cobas® 4800 System Lysis Kit 2	2–8 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent	2–8 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.

Neužšaldykite reagentų.

Atidarytas cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent yra stabilus 30 dienų laikant 2–8 °C temperatūroje, įskaitant 13 kumuliacinių valandų 30 °C temperatūroje, arba iki tinkamumo termino pabaigos; taikoma ankstesnė data.

Papildomos reikalingos medžiagos

Medžiagos	P/N
cobas® 4800 sistemos išskyrimo (gilių šulinėlių) plokštelė, 2,0 ml	06884008001
cobas® 4800 sistemos AD (mikrošulinėlių) plokštelė, 0,3 ml	05232724001
Sandarinimo plėvelės uždėjimo priemonė	04900383001
CORE antgaliai, 1 000 µl, dėklas su 96 antgaliais	04639642001
200 ml reagentų rezervuaras	05232759001
50 ml reagentų rezervuaras	05232732001
24 vietų laikiklis	04639502001
32 vietų laikiklis	04639529001
Kietųjų atliekų maišas	05530873001 (mažas) arba 04691989001 (didelis)
Hamilton STAR plastikinis nuleistuvus	04639669001
Laboratorinės pirštinės be pudros	Tinka bet kokios vienkartinės pirštinės be pudros.
Sūkurinis maišytuvas (vienam mėgintuvėliui)	Tinka bet koks sūkurinis maišytuvas.
Centrifuga, turinti svyruojančių laikiklių rotorių, min. RCF 1500	Tinka bet kokia atitinkama centrifuga.

Papildomos medžiagos, reikalingos tik PSC sausos plazmos lašo mėginiui apdoroti

Medžiagos
Plazmos atskyrimo kortelė cobas® Plasma Separation Card (P/N 07963084190 arba P/N 09411763190) ^a
Sterilios ar vienkartinės chirurginės žnyplės arba pincetas ^b
140 µl kapiliaras (pvz., Vitrex plastiko mėgintuvėlis) su suderinamu dalytuvu (pvz., Vitrex pipetės laikiklis) ^a
Vienkartinis lancetas (pvz., Greiner Bio-one: MiniCollect® saugiojo lanceto prasiskverbimo gylis 2,00 mm) ^a
Mėginio maišelis (plastikinis skaidrus, pakartotinai sandariai užsegamas) ir silicio dioksido sausiklių paketėliai (iki 4 gramų; daugiau informacijos apie PSC laikymą ir pristatymą ieškokite PSC metodo lape ms_09411763190).
Transportavimo maišelis (pvz., Wicoseal, 180 × 60 × 240 mm)
Pipetė (pvz., Multistepper pipetė)
Thermomixer (pvz., Eppendorf Thermomixer® R 5355 arba C, arba ekvivalentiško modelio) su termobloku, skirtu 24 šaldymo mėgintuvėliams
Mėgintuvėliai, 5 ml, vidinio sriegio, 12,5 mm skersmens, polipropileno (pvz., Greiner Bio-one Cryo.s™) su kamšteliais

^a Daugiau informacijos apie **PSC** mėginių ėmimą ieškokite **PSC metodo lape ms_09411763190**.

^b Siekdami apsaugoti nuo kryžminio užteršimo, kiekvienam pacientui naudokite tik vieną porą chirurginių žnyplių! Rekomenduojama naudoti metalines chirurgines žnyples, kurios po vieno naudojimo apdorojamos autoklave. Norėdami gauti daugiau informacijos apie atskirai parduodamas medžiagas, kreipkitės į vietinį Roche atstovą.

cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo supaprastintų terminų žodynis

Naudojimo instrukcijų turinyje pateikiami tokie supaprastinti terminai, nurodantys kai kurias šiame skyriuje išvardytas medžiagas ir reagentus.

Supaprastintas terminas	Medžiaga / reagentas
H(+) _C	cobas® HBV/HCV/HIV-1 stipriai teigiama kontrolė
Stipriai teigiamas bandinys	cobas® HBV/HCV/HIV-1 stipriai teigiama kontrolė
L(+) _C	cobas® HBV/HCV/HIV-1 silpnai teigiama kontrolė
Silpnai teigiamas bandinys	cobas® HBV/HCV/HIV-1 silpnai teigiama kontrolė
LYS 2	cobas® 4800 lizės buferinis tirpalas 2
Mikrošulinėlių plokštelė	cobas® 4800 sistemos AD (mikrošulinėlių) plokštelė, 0,3 ml
MGP 2	cobas® 4800 MGP 2 reagentas
MMX R1	cobas® pagrindinio mišinio 1 reagentas
MMX R2	cobas® HIV-1 pagrindinio mišinio 2 reagentas
Neigiama kontrolė	cobas® neigiama kontrolė
P 2	cobas® 4800 proteazė 2
PSC	cobas® plazmos atskyrimo kortelė
QS	cobas® RNR kiekybinis standartas
SD 2	cobas® 4800 sistemos mėginio skiediklis 2
SPER	cobas® mėginio išankstinio išskyrimo reagentas
WB	cobas® 4800 sistemos plovimo buferinis tirpalas

cobas® HIV-1 kiekybiniam tyrimui būtini, bet nepateikiami instrumentai ir programinė įranga

Būtini instrumentai ir programinė įranga, nepateikiami
cobas® 4800 System cobas® x 480 instrumentas cobas® z 480 analizatorius Valdymo įtaisas
cobas® 4800 sistemos programinės įrangos (pagrindinė) 2.2.0 ar naujesnė versija
cobas® 4800 sistema cobas® HIV-1 AP 1.3.0 arba naujesnė versija

Pastaba: Kreipkitės į vietinį Roche atstovą dėl išsamaus užsakymo sąrašo, kuriame nurodytos instrumentuose tinkami naudoti mėginių dėklai, antgalių dėklai, reagentų dėklai ir dėklų laikikliai.

cobas® HIV-1 kiekybiniam tyrimui tinkami mėgintuvėliai

cobas® HIV-1 kiekybiniam tyrimui tinka įprastai naudojami pirminiai ir antriniai mėgintuvėliai.

Tinkami šie mėgintuvėliai:

Pirminiai mėgintuvėliai, skirti plazmos mėginiams

Nominalus skersmuo (mm)	Įkeliamo mėginio tūris – apdorotas (centrifuguotas) visas kraujas		Mėgintuvėlio priedas
	400 µl apdorojimo tūris	200 µl apdorojimo tūris	EDTA plazma
11–14	1 800 µl arba daugiau	1 000 µl arba daugiau	Su geliu arba be gelio
14,5–16	Daugiau nei 4 000 µl	Daugiau nei 4 000 µl	Su geliu arba be gelio

Užsakymo informacijos apie konkretų mėginio mėgintuvėlį ir informacijos apie minimalius konkrečių pirminių mėgintuvėlių įkeliamo mėginio tūrius kreipkitės į vietinį Roche atstovą.

Antriniai mėgintuvėliai, skirti plazmos mėginiams

Nominalus skersmuo (mm)	Įkeliamo mėginio tūris	
	400 µl apdorojimo tūris	200 µl apdorojimo tūris
11–16	1 000 µl arba daugiau (kai kurių antrinių mėgintuvėlių minimalus įkeliamas tūris yra mažesnis nei 1 000 µl)	750 µl arba daugiau (kai kurių antrinių mėgintuvėlių minimalus įkeliamas tūris yra mažesnis nei 750 µl)

Užsakymo informacijos apie konkretų mėginio mėgintuvėlį ir informacijos apie minimalius konkrečių antrinių mėgintuvėlių įkeliamo mėginio tūrius kreipkitės į vietinį Roche atstovą.

Antriniai mėgintuvėliai, skirti PSC mėginiams

Nominalus skersmuo (mm)	Įkeliamo SPER tūris (400 µl apdorojimo tūris)
12,5	800 µl

Užsakymo informacijos apie konkretų mėginio mėgintuvėlį kreipkitės į vietinį Roche atstovą.

Mėgintuvėlius, skirtus **PSC** mėginiams, galima įkelti tik 32 vietų mėginių laikikliu.

cobas® HIV-1 kiekybiniam tyrimui taikomos atsargumo priemonės ir naudojimo reikalavimai

Perspėjimai ir atsargumo priemonės

Kaip ir bet kuriam tyrimui, šiam tyrimui tinkamai atlikti reikalinga gera laboratorinė praktika. Dėl šio tyrimo didelio analitinio jautrumo reikia imtis atsargumo priemonių, kad nebūtų užteršti reagentai, mėginiai ir amplifikacijos mišiniai.

- Skirta tik *in vitro* diagnostikai.
- **cobas® HIV-1** kiekybinis tyrimas nebuvo įvertintas kaip patikros tyrimas, skirtas patikrinti, ar kraujyje arba kraujo produktuose yra ŽIV-1.
- Su visais paciento mėginiais reikia elgtis kaip su užkrečiamais, taikant geras laboratorines procedūras, aprašytas dokumente Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories ir CLSI dokumente M29-A4.^{19, 20} Šią procedūrą turi atlikti tik su biologiškai pavojingomis medžiagomis mokantis elgtis ir **cobas® HIV-1** bei **cobas® 4800** sistemą mokantis naudoti personalas.
- Visas iš žmogaus išskirtas medžiagas reikia laikyti potencialiai užkrečiamomis, todėl reikia taikyti universalias atsargumo priemones.
- **cobas® HBV/HCV/HIV-1** kontrolių rinkinyje yra iš žmogaus kraujo išskirtos plazmos. Pradinė medžiaga buvo ištirta naudojant patvirtintą antikūnų tyrimą ir nustatyta, kad ji nereaguoja į HCV antikūnus, ŽIV-1/2 antikūnus, HBsAg ir HBc antikūnus. Ištyrus pagal PGR metodus, nebuvo rasta aptinkamų ŽIV-1 RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR arba HBV DNR. Nėra žinomų tyrimo metodų, galinčių visiškai užtikrinti, kad produktai, išskirti iš žmogaus kraujo, neperduos infekcijos.
- Papildomų įspėjimų ir atsargumo priemonių ieškokite **PSC metodo lape ms_09411763190**.
- Saugokite MGP nuo magnetinių laukų šaltinių poveikio.
- **Neužšaldykite pirminiuose mėgintuvėliuose laikomų viso kraujo ar kitų mėginių.**
- **cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent** yra jautrus šviesai ir gabenamas nuo šviesos apsaugančiuose buteliukuose.
- Norėdami užtikrinti didžiausią tyrimo efektyvumą, naudokite tik pateikiamus arba nurodytus reikalingus reikmenis.
- Saugos duomenų lapus (SDS) galite gauti iš vietinio Roche atstovo.
- Kad tyrimas būtų atliktas tinkamai, kruopščiai atlikite procedūras ir laikykitės pateiktų rekomendacijų. Bet koks nukrypimas nuo procedūrų ir rekomendacijų gali turėti įtakos optimaliam tyrimo atlikimui.
- Jei naudojant ir apdorojant mėginius nebus imtasi apsaugos priemonių dėl mėginių kryžminio užteršimo, galima gauti klaidingai teigiamus rezultatus.
- Papildomų įspėjimų, atsargumo priemonių ir procedūrų, mažinančių **cobas® x 480** instrumento arba **cobas® z 480** analizatoriaus užteršimo riziką, ieškokite **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadove. Jei įtariate užteršimą, išvalykite ir atlikite savaitinius priežiūros darbus, kaip aprašyta atitinkamame **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadove.
- Jeigu naudojant šį tyrimą pasitaikytų rimtų incidentų, praneškite apie juos vietinei kompetentingai įstaigai ir gamintojui.

Pastaba: konkrečias instrukcijas žr. „Mėginių rinkimas, transportavimas ir laikymas“.

Gera laboratorinė praktika

- Nepipetuokite burna.
- Nevalgykite, negerkite ir nerūkykite laboratorijos darbo vietose.
- Baigę dirbti su mėginiais bei rinkinio reagentais ir nusimovę laboratorines pirštines, kruopščiai nusiplaukite rankas.
- Dirbdami su reagentais, užsidėkite akinius, apsirenkite specialiais laboratoriniais drabužiais ir mūvėkite vienkartinės laboratorines pirštines. Stenkitės, kad šių medžiagų nepatektų ant odos, į akis ar ant gleivinių. Jei medžiagų vis dėlto pateko, nedelsdami nuplaukite dideliu vandens kiekiu. Jei nesiimsite veiksmų, gali atsirasti nudegimų. Išpylę kurį nors reagentą, prieš išvalydami vietą sausu audiniu, pirmiausia užpilkite ant jos vandens.
- Švariai nuvalykite ir dezinfekuokite visus laboratorijos darbo vietų paviršius, naudodami šviežiai paruoštą 0,5 % natrio hipochlorito tirpalą, sumaišytą su distiliuotu ar dejonizuotu vandeniu (buityje naudojamą baliklį atskiedus santykiu 1:10). Tada nušluostykite paviršių 70 % etanolio.
- Palaikykite laboratorijoje nuolatinę temperatūrą, atitinkančią sistemos aplinkos reikalavimus, nurodytus **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadove.

Reagentų naudojimas

- Visus reagentus, kontroles ir mėginius naudokite laikydamiesi geros laboratorinės praktikos, kad išvengtumėte mėginių ar kontrolių pernašos.
- Prieš naudodami vizualiai patikrinkite visus reagentų buteliukus, kad įsitikintumėte, jog nėra išsiliejimo požymių. Jei pastebėjote kokių nors skysčio išsiliejimo žymių, tos medžiagos tyrimams nenaudokite.
- **cobas® 4800** lizės 2 buferinio tirpalo ir **cobas®** mėginio išankstinio išskyrimo reagento sudėtyje yra potencialiai pavojingos medžiagos guanidino tiocianato. Stenkitės, kad šių reagentų nepatektų ant odos, į akis ar ant gleivinių. Jei medžiagų vis dėlto pateko, nedelsdami nuplaukite dideliu vandens kiekiu, nes to nepadarius gali atsirasti nudegimų.
- **cobas® HIV-1**, **cobas® 4800** mėginių paruošimo rinkinio 2 ir **cobas® 4800** sistemos mėginio 2 skiediklio sudėtyje yra konservanto natrio azido. Stenkitės, kad šių reagentų nepatektų ant odos, į akis ar ant gleivinių. Jei medžiagų vis dėlto pateko, nedelsdami nuplaukite dideliu vandens kiekiu, nes to nepadarius gali atsirasti nudegimų. Išpylę kurį nors reagentą, prieš išvalydami vietą sausu audiniu, pirmiausia užpilkite ant jos vandens.
- Saugokitės, kad **cobas® 4800** lizės 2 buferinis tirpalas arba **cobas®** mėginio išankstinio išskyrimo reagentas, kuriame yra guanidino tiocianato, neturėtų sąlyčio su natrio hipochlorito (baliklio) tirpalu. Toks mišinys gali išskirti labai nuodingas dujas.

Užteršimas

- Mūvėkite laboratorines pirštines ir jas keiskite tarp mėginių ir **cobas® HIV-1** reagentų apdorojimų, kad išvengtumėte užkrėtimo. Dirbdami su mėginiais ir kontrolėmis nesilieskite prie jų nešvariomis laboratorinėmis pirštinėmis. Dirbdami su mėginiais ir reagentų rinkiniais, mūvėkite laboratorines pirštines, apsirenkite laboratoriniais drabužiais ir užsidėkite akių apsaugas.
- Neužterškite reagentų mikrobais ir ribonukleazėmis.
- Jei ruošiant mėginius nebus užtikrinta, kad mėginiai neužterš vieni kitų, galima gauti klaidingai teigiamus rezultatus.

Sąžiningumo principai

- Nenaudokite rinkinių, jei baigėsi jų galiojimo laikas.
- Nepilkite kelių reagentų į tą pačią talpą.
- Nenaudokite vienkartinį priemonių, jei baigėsi jų galiojimo laikas.
- Visos vienkartinės priemonės skirtos naudoti tik vieną kartą. Nenaudokite pakartotinai.
- Visa įranga turi būti naudojama pagal gamintojo instrukcijas.

Atliekų šalinimas

- **cobas® HIV-1**, **cobas® 4800** mėginių paruošimo 2 rinkinio ir **cobas® 4800** sistemos mėginio 2 skiediklio sudėtyje yra konservanto natrio azido (žr. **Perspėjimai ir atsargumo priemonės**). Natrio azidas gali reaguoti su vandentiekio švino ir vario įranga ir sudaryti labai sprogus metalo azidų junginius. Į laboratorijoje esančias kriaukles išpildami tirpalus, kuriuose yra natrio azido, paleiskite stiprią šalto vandens srovę, kad nesusidarytų azidų sancaupų.
- Nepanaudotų reagentų ir jų atliekų šalinimas turi būti atliekamas atsižvelgiant į šalies, federalinius, valstijos ir vietinius reikalavimus.

Pastaba: informaciją apie skystų atliekų šalinimą žr. **cobas® 4800 sistemos vartotojo vadove.**

Išliejimas ir valymas

- **cobas® 4800** lizės 2 buferinio tirpalo ir **cobas®** mėginio išankstinio išskyrimo reagento sudėtyje yra guanidino tiocianato. Išlietą guanidino tiocianato turintį skystį valykite tinkamu laboratoriniu valomuoju tirpalu ir vandeniu. Neleiskite medžiagai susiliesti su dezinfekantais, kurių sudėtyje yra natrio hipochlorito, pvz., balikliu. Toks mišinys gali išskirti labai nuodingas dujas.
- Jeigu iš žmogaus išskirta medžiaga išsipila, nedelsdami dezinfekuokite šviežiai paruoštu 0,5 % natrio hipochlorito tirpalu, sumaišytu su distiliuotu ar dejonizuotu vandeniu (buitėje naudojamą baliklį atskiedus santykiu 1:10), arba vadovaukitės atitinkamomis vietinėmis procedūromis.
- Išsiliejus **cobas®** mėginio išankstinio išskyrimo reagentą (kuriame yra guanidino tiocianato) ištirpintiems **PSC** sausos plazmos lašo mėginiams, neleiskite medžiagai susiliesti su dezinfekantu, kurio sudėtyje yra natrio hipochlorito, pvz., balikliu. Toks mišinys gali išskirti labai nuodingas dujas. **PIRMIAUSIA** paveiktą vietą nuvalykite laboratoriniu valomuoju tirpalu ir vandeniu, tada 0,5 % natrio hipochlorito tirpalu.
- Jei skystis išliejamas ant **cobas® x 480** instrumento, nuvalykite vykdydami atitinkamame **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadove pateiktus nurodymus.
- **cobas® x 480** instrumentui arba **cobas® z 480** analizatoriui valyti nenaudokite natrio hipochlorito tirpalo (baliklio). **cobas® x 480** instrumentą arba **cobas® z 480** analizatorių valykite laikydamiesi procedūrų, aprašytų atitinkamame **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadove.

Mėginių rinkimas, transportavimas ir laikymas

Pastaba: visus mėginius apdorokite taip, lyg jie galėtų perduoti infekciją.

Visus mėginius laikykite nurodytoje temperatūroje.

Aukšta temperatūra turi įtakos mėginių stabilumui.

Jeigu naudojate užšaldytus mėginius antriniuose mėgintuvėliuose, palikite mėginius kambario temperatūroje (15–30 °C), kol visiškai atitirps, tada trumpai pamaišykite (pvz., sūkuriniu maišytuvu 3–5 sekundes) ir centrifuguokite, kad surinktumėte visą mėginio tūrį mėgintuvėlio apačioje.

Pastaba: jei yra tikimybė, kad po centrifugavimo ląstelės galėjo resuspenduotis į plazmą, prieš pradėdami tyrimo procesą apsvartykite galimybę pakartoti centrifugavimą.

EDTA plazmos mėginiai

- Pilno kraujo mėginiai turi būti surenkami BD Vacutainer® PPT™ plazmos paruošimo mėgintuvėliuose, skirtuose molekulinės diagnostikos tyrimo metodams, arba steriliuose mėgintuvėliuose, naudojant EDTA kaip antikoagulantą.

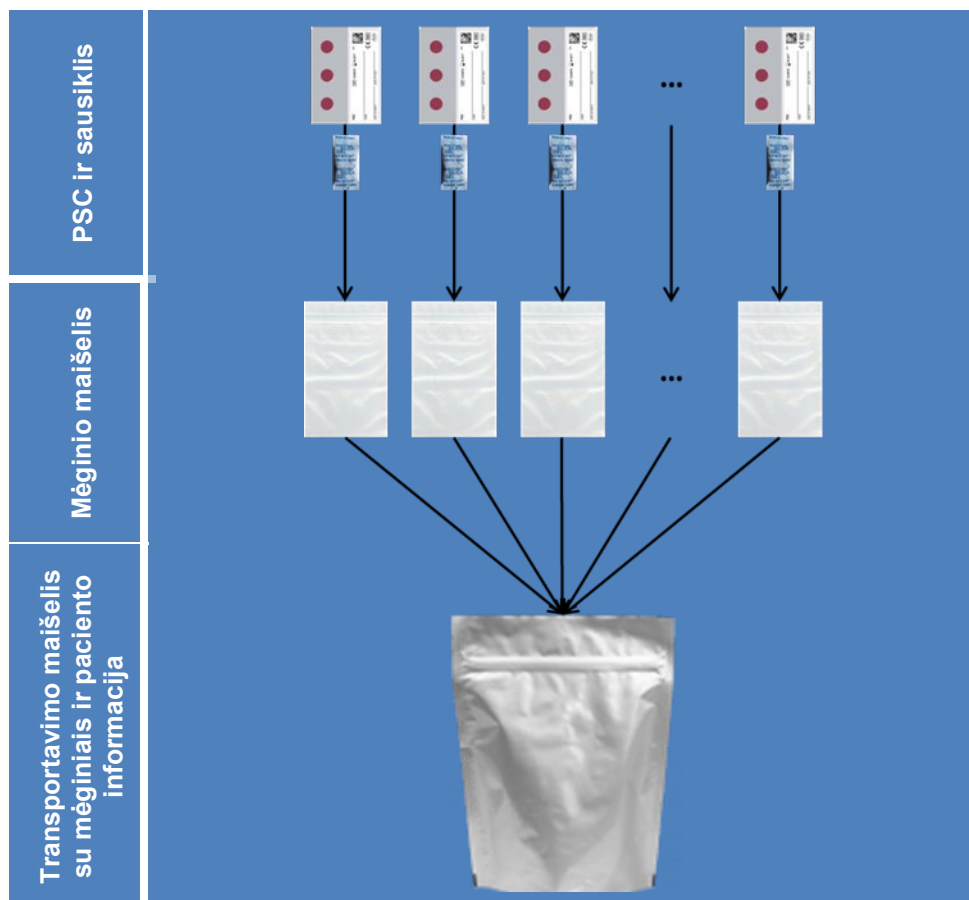
Pastaba: vartotojas privalo laikytis mėgintuvėlių gamintojo pateiktų plazmos paruošimo rekomendacijų.

- Visą kraują, surinktą BD Vacutainer® PPT™ plazmos paruošimo mėgintuvėliuose, skirtuose molekulinės diagnostikos tyrimo metodams, arba steriliuose mėgintuvėliuose, naudojant EDTA kaip antikoagulantą, prieš paruošiant plazmą ir atliekant tolimesnius tyrimus, galima laikyti ir (arba) transportuoti 2–25 °C temperatūroje ne ilgiau nei 24 valandas.
- Plazmos mėginius galima laikyti antriniuose mėgintuvėliuose ne ilgiau nei 24 valandas 2–30 °C, ne ilgiau nei 72 valandas 2–8 °C arba ne ilgiau nei 6 savaites ≤ –18 °C temperatūroje. Atskirtos plazmos mėginiai, laikomi ≤ –18 °C temperatūroje, antriniuose mėgintuvėliuose yra stabilūs ne daugiau nei tris užšaldymo / atšildymo ciklus.
- Jei mėginiai bus gabenami, juos reikia supakuoti ir sužymėti pagal taikomas šalies ir (arba) tarptautines mėginių ir etiologinių medžiagų transportavimo taisykles.

PSC sausos plazmos lašo mėginiai

- PSC** sausos plazmos lašo mėginius surinkite taikydami atitinkamas kliniškes procedūras (žr. **PSC metodo lapą ms_09411763190**).
- Patikrinkite **PSC** galiojimo laiką ir atlikite tyrimą tik jei nepasibaigė **PSC** galiojimo laikas.
- Įsitikinkite, kad maišelis su **PSC** yra visiškai sandarus ir nepažeistas.
- PSC** etiketėje nurodykite paciento vardą ir pavardę, gimimo datą, mėginio ėmimo datą ir laiką.
- Įdurdite pirštą ir, naudodami tinkamą kapiliarą ar dalytuvą, užlašinkite 140 µl neapdoroto kraujo ant kiekvieno papildomo padengimo sluoksniu apirėžto apskritimo **PSC** membranoje. Rekomenduojama užpildyti visus tris lašų taškus ant **PSC**, kad būtų galima tyrimą atlikti pakartotinai.
- Nedėkite daugiau nei vieno paciento mėginių ant tos pačios **PSC**.
- Neleiskite, kad šiam procesui vykstant membranos liestųsi su pirštinėmis, įrankiais arba bet kokiais kitais galimai užterštais paviršiais.
- Įsitikinkite, kad ABI **PSC** pusės (priekis: membrana su krauju; galas: lašas su plazma) yra įmirkusios praėjus 5 minutėms. Patikrinkite užpakalinę pusę per skaidrų galinį sluoksnį.
- Leiskite **PSC** džiūti kambario temperatūroje mažiausiai 4 valandas (ilgiausiai – per naktį), saugodami ją nuo tiesioginių saulės spindulių.
- Nenuimkite papildomo padengimo sluoksnio. Tai bus atlikta laboratorijoje, prieš mėginio išskyrimą.
- Išdžiūvusią **PSC** įdėkite į atskirą mėginio maišelį su 4 gramais sausiklio ir sandariai uždarykite maišelį. Paimto mėginio maišelis turi būti supakuotas į transportavimo maišelį kartu su atitinkamu paciento informacijos lapu. Rekomenduojama į transportavimo maišelį pakuoti ne daugiau kaip 25 **PSC** (žr. 1 pav. pateikiamą apžvalgą).

1 pav. Pakavimo schema transportuojant PSC



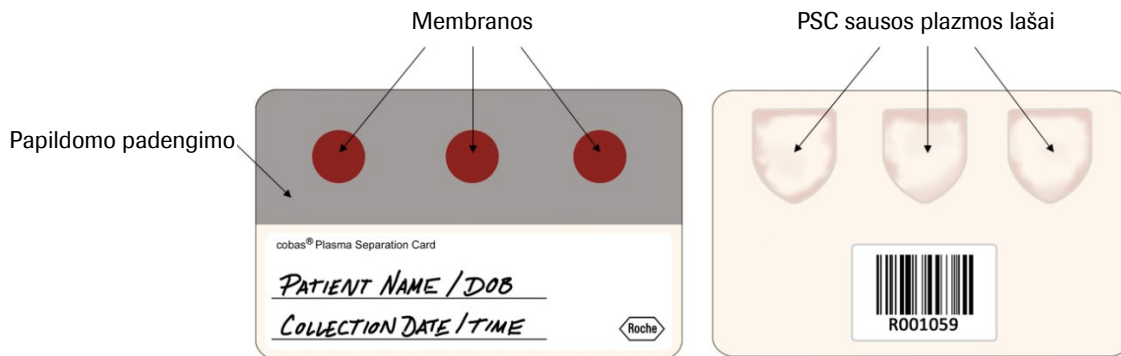
- Jei mėginiai bus gabenami, juos reikia supakuoti ir sužymėti pagal taikomas šalies ir (arba) tarptautines mėginių ir etiologinių medžiagų transportavimo taisykles. **PSC** iki tyrimo gali būti transportuojami per 28 parų laikotarpį 18–45 °C temperatūroje esant 85 % drėgmei.
- **PSC** atskiruose mėginio maišeliuose su 4 gramais desikanto, sudėtuose į gabenimo maišelį, pervežus gali būti laikomos kambario temperatūroje (18–30 °C), 2–8 °C arba ≤ –10 °C temperatūroje iki 56 dienų (atskiriant sluoksnį arba jo neatskiriant).

cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo naudojimo instrukcijos

PSC sausos plazmos lašo mėginio paruošimas ir preanalitinė procedūra

- Prieš atidarydami patikrinkite, ar nepažeistas gabenimo maišelio vientisumas. Naudokite tik tuo atveju, jei gabenimo maišelis yra visiškai sandarus.
- Atidarykite transportavimo maišelį ir tęskite su kiekvienu mėginio maišeliu tik jei tenkinamos šios sąlygos:
 - Laboratorijos užklauso forma yra visiškai užpildyta.
 - Laboratorijos užklauso formos ir **PSC** brūkšniniai kodai sutampa.
 - Mėginio maišelis yra sandariai uždarytas, jame yra **PSC** su 4 gramais drėgmę sugeriančios medžiagos.
 - Nurodyta mėginio paėmimo data; mėginys paimtas ir gabenamas ne vėliau nei per pastarąsias 28 paras, dar nepasibaigus **PSC** galiojimo laikui.
 - **PSC** galiojimo laikas nepasibaigęs.
 - **PSC** sausos plazmos lašas priekyje atrodo vientisas ir visiškai padengtas plazmos, kai apžiūrimas iš užpakalinės pusės (žr. 2 pav.).

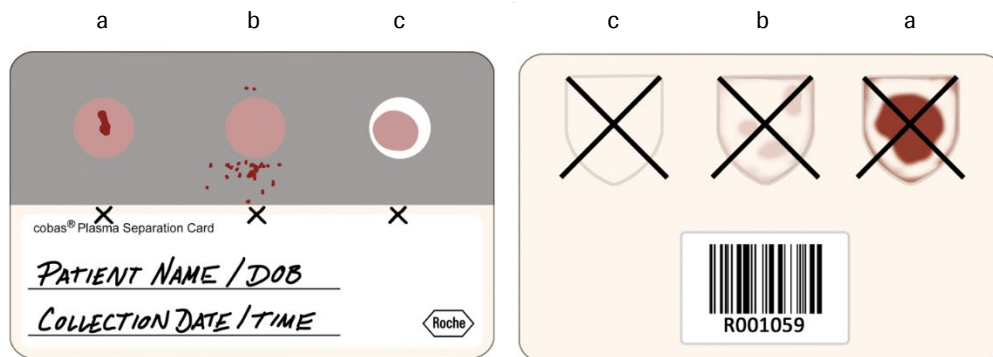
2 pav. **PSC sausos plazmos lašai, apdorojimui (kairė: priekinė pusė; dešinė: užpakalinė pusė)**



- **PSC** sausos plazmos lašus turėtų būti pažymėti or atmesti šiais atvejais:
 - matyti kraujo išsiliejimų (3 pav. a) arba membraną nevistiškai dengia kraujas (3 pav. b), todėl **PSC** lašo priekinė sritis yra nevientisa ir (arba) užpakalinę pusę nevistiškai dengia plazma (matyti per laikiklį);
 - membrana yra apgadinta (3 pav. c), todėl **PSC** lašo priekinė sritis yra nevientisa, o užpakalinė sritis – tamsiai raudona (matyti per laikiklį).

Pastaba: yra trys lašai, kad prireikus tyrimą būtų galima atlikti pakartotinai. **PSC** gali būti blogų lašų, bet ji vis tiek gali užtikrinti gerą mėginį tyrimui atlikti. Tinkamai pažymėkite blogus lašus, kad būtų galima juos atpažinti. Venkite žymėti ant papildomo padengimo sluoksnio. Visada palyginkite tris lašus tarpusavyje, kad galėtumėte įvertinti jų kokybę.

- 3 pav. **PSC atmetimo kriterijai** (kairė: priekinė pusė; dešinė: užpakalinė pusė). Greta lašo išsiliejus kraujui (b), nevisiškai padengus membraną (c) arba esant matomų membranos pažeidimų (a) lašai neturėtų būti apdorojami. Neapdorojamus lašus reikėtų aiškiai pažymėti.



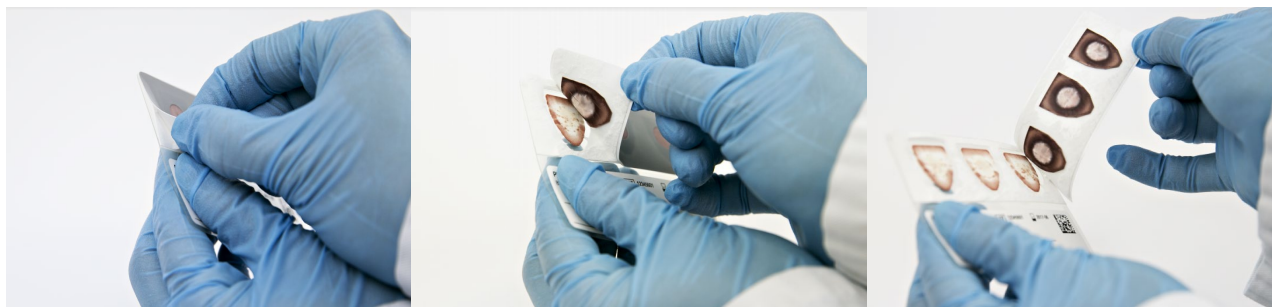
- Kiekvieno **PSC** mėgintuvėlį (5 ml, vidinio sriegio, 12,5 mm skersmens, polipropileno [t. y. Greiner Bio-one Cryo.s™]) paženklinkite atitinkamu laboratorijos brūkšniu kodu iš užklauso formos (4 pav.) ir padėkite į lentynėlę. Mėgintuvėlius perkelti į laminarinę spintą kartu su mėginių maišeliais, kuriuose yra **PSC**. Informacijos apie tinkamą ženklimą brūkšniniais kodais žr. **cobas®** 4800 sistemos naudotojo vadove.

- 4 pav. **Mėgintuvėlio ženklimas atitinkamu PSC brūkšniu kodu**



- Laminarinėje spintoje nuo mėgintuvėlių nuimkite kamštelius.
- Atidarykite pasirinktos **PSC** mėginio maišelį ir nuimkite papildomą padengimo sluoksnį (5 pav.).

- 5 pav. **Sauso lašo sluoksnio nuėmimas**



- Truputį sulenkite **PSC** ir nuimkite vieną sausos plazmos lašą steriliomis chirurginėmis žnyplėmis arba steriliu pincetu, patraukdami jį aukštyn. Sulenkite nuimtą sausos plazmos lašą ant **PSC**, kad palengvintumėte jo įdėjimą į mėgintuvėlį (6 pav.). vienam pacientui naudokite tik vieną porą chirurginių žnyplių ar pincetą.

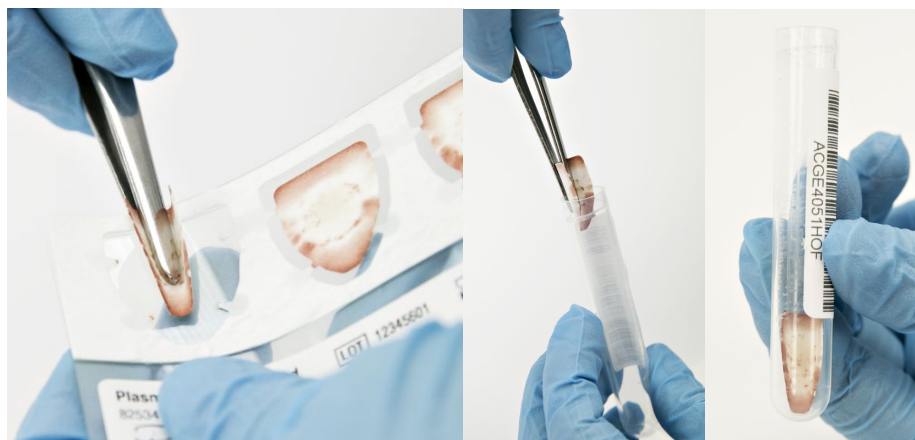
Pastaba: laikant sausos plazmos lašai gali tapti trapūs. Žr. PSC laikymo reikalavimus. Dėkite juos į mėgintuvėlį atsargiai.

6 pav. PSC sausos plazmos lašo nuėmimas ir sulenkimas



- Perkelkite vieną iš anksto sulenktą **PSC** sausos plazmos lašą į atitinkamą mėgintuvėlį, kad žemiausias **PSC** sausos plazmos lašo galiukas siektų mėgintuvėlio apačią ir būtų prigludęs prie mėgintuvėlio sienelės, siekiant išvengti lašinimo klaidų (7 pav.). **PSC** sausos plazmos lašo padėtį, jei reikia, koreguoti galima sterilios pipetės galiuku. Užtikrinkite, kad mėgintuvėlio ir perkeltos **PSC** sausos plazmos lašo **PSC** brūkšninis kodas yra toks pat.

7 pav. PSC sausos plazmos lašo perkėlimas į mėgintuvėlį



- Įdėkite **PSC** su likusiais sausos plazmos lašais atgal į pradinį mėginio maišelį su 4 gramais šviežio sausiklio, kad būtų galima pakartoti tyrimą, jei prireiktų (8 pav.). Pervežus **PSC** galima laikyti 56 dienas atskiriant užlašinimo sluoksnį ir jo neatskiriant (18–30 °C, 2–8 °C arba ≤ -10 °C temperatūroje).

Pastaba: nenaudokite sausiklio iš pradinio mėginio maišelio pakartotinai, o naudokite šviežią sausiklį.

8 pav. PSC mėginio maišelyje galimam pakartotiniam tyrimui



- Prieš naudodami leiskite **cobas®** Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER) sušilti iki kambario temperatūros. Pipete 800 µl SPER sulašinkite į mėgintuvėlius su **PSC** sausos plazmos lašais (9 pav.) ir užkimškite mėgintuvėlius. Kad išvengtumėte garavimo, įsitikinkite, kad mėgintuvėliai gerai užkimšti.

Pastaba: įsitikinkite, kad naudojate tik SPER, o ne kito tipo išankstinio išskyrimo reagentą (pvz., SPEX). Kad tyrimas būtų atliktas tinkamai, svarbu pipete sulašinti 800 µl SPER (t. y. ne daugiau ir ne mažiau kaip 800 µl).

9 pav. 800 µl SPER sulašinimas



- Uždengtus mėgintuvėlius sudėkite į iš anksto pašildytą Thermomixer (pvz., Eppendorf Thermomixer® R 5355 arba C, arba ekvivalentiško modelio) su termobloku, skirtu 24 šaldymo mėgintuvėliams, inkubuokite 10 minučių 56 °C temperatūroje ir centrifuguodami 1 000 apm greičiu iš sausos plazmos išskirkite virusą (10 pav.). Pradėkite inkubaciją iš karto pridėję SPER.

10 pav. Inkubacija



- Mėgintuvėlius perkelkite į mėginių lentynėlę ir po vieną atkimškite mėgintuvėlius, kad išvengtumėte kryžminio užteršimo (11 pav.). Nuėmę kamšelį pasikeiskite pirštines.

11 pav. Mėgintuvėlių atkimšimas



- Įsitinkite, kad **PSC** sausos plazmos lašas yra tinkamoje padėtyje mėgintuvėlio sienelės atžvilgiu (12 pav.), kad nesusidarytų mėginio krešulys. **PSC** sausos plazmos lašo padėtį, jei reikia, koreguoti galima sterlios pipetės galiuku.
- Naudodami sterilią pipetę nuo skysčio paviršiaus pašalinkite galimą skysčio plėvelę (kad būtų išvengta ankstyvo lygmens aptikimo).
- Mėgintuvėlius įkelkite į **cobas®** 4800 sistemą tik 32 vietų mėginių laikikliu.

12 pav. PSC sausos plazmos lašo paruošimas prieš analitines procedūras

PSC sausos plazmos lašo vieta

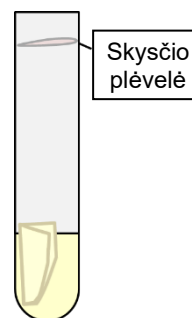


Tinka



Potenciali pipetės
užsikimšimo rizika

Skysčio plėvelė



Galima ankstyvo lygmens
aptikimo rizika

Pastaba: prašome įsitikinti, kad pašalinote per procesą susidariusią skysčio plėvelę.

cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo atlikimas

cobas® HIV-1 kiekybiniam tyrimui naudojami mėginių tipai ir apdorojimo tūris

cobas® HIV-1 kiekybiniam tyrimui tinka trijų tipų mėginiai: plazma, skiesta plazma ir **PSC**. Kiekvieno iš šių tipų mėginių apdorojimo tūris yra toks:

Tinkami mėginių tipai ir apdorojimo tūris

Mėginio tipas	Apdorojimo tūris [μL]
Plazma	400
Skiesta plazma ^a	200
PSC	400

^a Jeigu kuriant darbo eigą pasirenkamas mėginio tipas „Diluted Plasma“ (skiesta plazma), įdedant reagentus programinė įranga nurodys naudotojui įdėti papildomą **cobas® 4800** sistemos 2 mėginio skiediklio reagentą.

cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo apimtis

Bendri mėginių paruošimo reagentai (**cobas® 4800** sistemos mėginių paruošimo rinkinys 2, **cobas® 4800** sistemos lizės rinkinys 2 ir **cobas® 4800** sistemos plovimo buferinio tirpalo rinkinys) siūlomi dviejų dydžių rinkiniuose, kurių pakanka 10 tyrimų po 24 arba 96 mėginių, įskaitant kontroles ir mėginius. **cobas® HIV-1** siūlomas vieno dydžio rinkinys, kurio pakanka iki 120 (10×12) mėginių, įskaitant kontroles ir mėginius. Kiekvieno tyrimo metu naudojama viena HBV/HCV/HIV-1 silpnai teigiama kontrolė, viena HBV/HCV/HIV-1 stipriai teigiama kontrolė ir viena neigiama kontrolė. Vieno tyrimo vykdymo metu daugiausiai galima ištirti 93 mėginius ir 3 kontroles.

Pastaba: *siekiant optimaliai naudoti reagentus, bendruosius mėginių paruošimo reagentus galima naudoti tiriant 1–21 mėginį (10×24 dydžio tyrimo rinkinyje) arba tiriant 1–93 mėginius (10×96 dydžio tyrimo rinkinyje). Kartu naudoti skirtingų dydžių cobas® 4800 sistemos plovimo buferinio tirpalo rinkinio, cobas® 4800 sistemos mėginių paruošimo rinkinio 2 ir cobas® 4800 sistemos lizės rinkinio 2 negalima. Pavyzdžiui, jeigu tyrimo pradžioje nuskaitomas 96 tyrimų plovimo buferinio tirpalo reagento butelis, būtina naudoti 96 tyrimų rinkinio dydžio reagentus iš kitų mėginio paruošimo reagentų rinkinių.*

cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo procedūros – viena ir mišri partija

cobas® HIV-1 kiekybinis tyrimas atliekamas naudojant visą **cobas® 4800** programinės įrangos darbo eigą. Ją sudaro mėginių paruošimas **cobas® x 480** instrumentu ir tolimesnė amplifikacija / aptikimas naudojant **cobas® z 480** analizatorių.

Norint pradėti **cobas® HIV-1** kiekybinį tyrimą, reikia pasirinkti ŽIV-1 tyrimo tipą.

HIV-1 kiekybinį tyrimą galima atlikti atskirai kaip vieną partiją arba mišriuoju būdu, sujungiant kelis skirtingus tyrimus, kuriuose naudojamas toks pat automatinis mėginio paruošimo procesas bei amplifikacijos ir aptikimo PGR profilis. Pasirenkant tyrimą, programinė įranga rodys su HIV-1 kiekybiniu tyrimu suderinamus tyrimus, kuriuos galima atlikti sujungiant.

HIV-1 kiekybinio tyrimo procedūrų apžvalgos gali būti tokios:

- HIV-1 kiekybinis tyrimas, atliekamas kaip viena partija, parodytas 13 pav.
- HIV-1 kiekybinis tyrimas, atliekamas kartu su HIV-1 kokybiniu tyrimu (HIV-1-qual-DBS), parodytas 14 pav.
- Bendra mišrių serijų apžvalga, įskaitant ŽIV-1 kiekybinį tyrimą su bet kuriuo taikomu tyrimu, pateikiama **cobas® 4800** sistemos naudotojų pagalbos puslapyje.

13 pav. HIV-1 kiekybinio tyrimo, atliekamo kaip viena partija, apžvalga – reagentai ir darbo eiga

Reagentai	
Bendrujų mėginių paruošimas	
• cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 ○ MGP 2 ○ EB 2 • cobas® 4800 System Lysis Kit 2 ○ P 2 ○ LYS 2 • cobas® 4800 System Wash Buffer Kit ○ WB	
Skiestai plazmai:	
• cobas® 4800 System Specimen Diluent 2 ○ SD 2	
Plazmos atskyrimo kortelei (PSC):	
• cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent ○ SPER	
Amplifikacija / aptikimas	
• cobas® HIV-1 ○ MMx R1 ○ HIV-1 MMx R2 ○ RNA QS	
Kontrolės	
• cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit ○ H(+)C ○ L(+)C ○ (-)C	
Darbo eiga	
1	Paleiskite sistemą
2	Atlikite instrumento priežiūros darbus
3	Surinkite mėginius ir reagentus iš jų laikymo vietos
4	Paleiskite tyrimą ir pasirinkite HIV-1
5	Nuskaitykite parametrų korteles
6	Įkelkite mėginius
7	Sukurkite darbo eigą. • Naudojant LIS: patvirtinkite darbo eigą • Nenaudojant LIS: sukurkite darbo eigą
8	Įkelkite reikmenis
9	Įkelkite mėginio paruošimo reagentus
10	Įkelkite amplifikacijos / aptikimo reagentus ir kontroles
11	Pradėkite mėginio paruošimą
12	Išimkite mikrošulinėlių plokštelę
13	Sandariai uždarykite mikrošulinėlių plokštelę
14	Įkelkite sandariai uždarytą mikrošulinėlių plokštelę į analizatorių
15	Išimkite mėginius, panaudotus reagentus ir gilių šulinėlių plokštelę
16	Peržiūrėkite rezultatus • Pasirinktina: Jei prijungta LIS, išsiųskite rezultatus į LIS
17	Išimkite mikrošulinėlių plokštelę iš analizatoriaus

14 pav. HIV-1 kiekybinio tyrimo, atliekamo kartu su HIV-1 kokybiniu tyrimu (HIV-1-qual-DBS), apžvalga – reagentai ir darbo eiga

Reagentai	
Bendrųjų mėginių paruošimas • cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 ○ MGP 2 ○ EB 2 • cobas® 4800 System Lysis Kit 2 ○ P 2 ○ LYS 2 • cobas® 4800 System Wash Buffer Kit ○ WB Skiestai plazmai: • cobas® 4800 System Specimen Diluent 2 ○ SD 2 Plazmos atskyrimo kortelei (PSC) ir sauso kraujo lašui (DBS): • cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent ○ SPER Amplifikacija / aptikimas • cobas® HIV-1 ○ MMx R1 ○ HIV-1 MMx R2 ○ RNA QS Kontrolės • cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit ○ H(+)C būtina tik HIV-1 kiekybiniam tyrimui ○ L(+)C ○ (–)C	
Darbo eiga	
1	Paleiskite sistemą
2	Atlikite instrumento priežiūros darbus
3	Surinkite mėginius ir reagentus iš jų laikymo vietos
4	Paleiskite tyrimą ir pasirinkite HIV-1 ir HIV-1-qual-DBS
5	Nuskaitykite parametrų korteles, skirtas HIV-1 <i>Tokie pat rinkiniai gali būti naudojami ir HIV-1 ir HIV-1-qual-DBS.</i>
6	Įkelkite mėginius
7	Sukurkite darbo eigą • Naudojant LIS: patvirtinkite darbo eigą • Nenaudojant LIS: sukurkite darbo eigą
8	Įkelkite reikmenis
9	Įkelkite mėginio paruošimo reagentus
10	Įkelkite amplifikacijos / aptikimo reagentus ir kontroles <i>HIV-1 tyrimui:</i> • būtini QS bei L(+), H(+) ir (–)C atitinkamai iš amplifikacijos / aptikimo rinkinio ir kontrolinio rinkinio. <i>HIV-1-qual-DBS tyrimui:</i> • programinės įrangos vediklis nurodo įkelti QS, kuris naudojamas kaip vidinė kontrolė (IC). • Programinės įrangos vediklis taip pat nurodo įkelti L(+) ir (–)C iš kontrolinio rinkinio. H(+)C nereikia HIV-1-qual-DBS tyrimui.

11	Pradėkite mėginio paruošimą
12	Išimkite mikrošulinėlių plokštelę
13	Sandariai uždarykite mikrošulinėlių plokštelę
14	Įkelkite sandariai uždarytą mikrošulinėlių plokštelę į analizatorių
15	Išimkite mėginius, panaudotus reagentus ir gilių šulinėlių plokštelę
16	Peržiūrėkite rezultatus Pasirinktinai: Jei prijungta LIS, išsiųskite rezultatus į LIS <i>HIV-1-qual-DBS tyrimo rezultatų ataskaitoje QS pristatomas kaip vidinė kontrolė (IC), o L(+)C – kaip teigiama kontrolė (Positive Control).</i>
17	Išimkite mikrošulinėlių plokštelę iš analizatoriaus

HIV-1 kiekybinio tyrimo, atliekamo kaip viena partija, ir HIV-1 kiekybinio tyrimo, atliekamo kartu su HIV-1 kokybiniu tyrimu (HIV-1-qual-DBS), procedūros atitinkamai aprašytos tolesniuose dviejuose skyriuose.

Išsamus HIV-1 kokybinio tyrimo, atliekamo kaip viena partija, darbo eigos aprašas pateikiamas skyriuje „HIV-1 kokybinio tyrimo (HIV-1-qual-DBS), atliekamo kaip viena partija, darbo eiga“.

HIV-1 kiekybinio tyrimo, atliekamo kaip viena partija, darbo eiga

- Atlikite sistemos paleidimo ir priežiūros procedūras, vykdydami **cobas®** 4800 sistemos vartotojo vadovo nurodymus.
- Atlikite priežiūros veiksmus, vykdydami **cobas®** 4800 sistemos vartotojo vadovo nurodymus.
- Surinkite visus reikalingus reagentus ir priemones. Visi reagentai, išskyrus MMX R2 ir MMX R1, prieš įdedant į **cobas®** x 480 instrumentą, turi būti kambario temperatūros. MMX R2 ir MMX R1 reagentus galima paimti tiesiai iš 2–8 °C temperatūros laikymo vietos, nes, kol bus naudojami, jie sušils iki kambario temperatūros **cobas®** x 480 instrumente.

Pastaba: *visi reagentai ir reagentų talpos yra pažymėti brūkšniniais kodais ir skirti naudoti vieną kartą. cobas® 4800 programinė įranga seka reagentų ir reagentų talpų naudojimą ir atmeta anksčiau naudotus reagentus arba reagentų talpas.*

- Pradėkite naują tyrimą ir pasirinkite HIV-1 tyrimo tipą.
- Vykdykite programinės įrangos vediklio nurodymus ir nuskaitykite kontrolinių intervalų bei kalibravimo koeficientų parametrų kortelių brūkšninį kodą.

Pastaba: *nuskaitykite reagentų, kurių galiojimo laikas nepasibaigęs, parametrų korteles. Programinė įranga parametrų kortelėse netikrina reagento galiojimo pabaigos datos. Prieš nuskaitydami atitinkamą brūkšninio kodo ID, patikrinkite parametrų kortelėje arba ant reagentų rinkinio nurodytą galiojimo pabaigos datą.*

- Įkelkite mėginius. Galima įkelti tiek pirminius, tiek antrinius mėginių mėgintuvėlius, o mažiausias mėginio tūris priklauso nuo mėgintuvėlio tipo ir dydžio. Išsamesnę informaciją rasite skyriuje „Tinkami mėgintuvėliai“.

Plazmos ir skiestos plazmos mėginius galima įkelti 24 vietų arba 32 vietų mėginių laikikliu. **PSC** mėginius galima įkelti tik 32 vietų mėginių laikikliu.

7. Sukurkite darbo eigą. Yra trys būdai sukurti darbo eigą:

- Naudojant mėginių redaktorių, prieš įkeliant mėginių stovą į **cobas®** x 480 instrumentą (mygtukas Editor (rengyklė) pagrindinio meniu dešinėje). Darbo eigas, jei reikia, galima išsaugoti, redaguoti ir įkelti iš naujo. Pasirinktas mėginio tipas turi būti plazma, skiesta plazma arba **PSC**. Pasirinkus mėginio tipą, norimas rezultatas automatiškai nustatomas kaip HIV-1.
- Vykdamas programinės įrangos vediklio nurodymus, atliekant naują tyrimą ir įkeliant mėginius į **cobas®** x 480 instrumentą. Mėginio brūkšniniai kodai bus automatiškai nuskaityti ir kiekvienam mėginiui turėsite nurodyti mėginio tipą ir norimus rezultatus. Pasirinkdami mėginio tipą, pasirinkite plazmą, skiestą plazmą arba **PSC**, jei taikoma. Pasirinkus mėginio tipą, norimas rezultatas automatiškai nustatomas kaip HIV-1.
- Naudojant įstaigos LIS sistemą.

Pastaba: *pasirinkite tinkamą mėginio tipą. Programinė įranga netikrina, ar pasirinktas mėginio tipas atitinka įkeliamą mėginį. Pavyzdžiui, jei įkeliamas PSC mėginys, būtinai pasirinkite PSC mėginio tipą (o ne plazmą ar skiestą plazmą).*

Daugiau išsamios informacijos žr. **cobas®** 4800 sistemos vartotojo vadove. Įkelkite mėginius ir atitinkamai nustatykite / pasirinkite darbo eigą arba naudokite LIS.

- Įkelkite priemones, kaip nurodo programinės įrangos vediklis. Nedėkite atskirų antgalių į dalinai išnaudotą antgalių stovą ir neišimkite jų, nes programinė įranga seka likusių antgalių skaičių. Jeigu pasirinktam tyrimui antgalių nepakanka, programinė įranga įspės vartotoją.
- Perkelkite mėginių paruošimo reagentus į brūkšniniais kodais pažymėtas talpas. Reagentų talpos yra dviejų dydžių: 200 ml ir 50 ml. Sekite programinės įrangos vediklio nurodymus tinkamų reagentų talpų pasirinkimui. Reagentų talpų brūkšniniai kodai turi būti nukreipti į dešinę stovo pusę. Mėginių paruošimo reagentus įdėkite naudodami metodą „nuskaityti-nuskaityti-įpilti-įdėti“:
 - Nuskaitykite reagento buteliuko brūkšninį kodą
 - Nuskaitykite reagento talpos brūkšninį kodą
 - Perpilkite reagentą į talpą (prieš pildami, suplakite MGP buteliuką)
 - Įkelkite pripildytą reagento talpą į jam skirtą vietą reagentų stove

Pastaba: *cobas® 4800 sistema turi vidinį laikrodį reagentų buvimo prietaiso viduje trukmei stebėti. Nuskaičius LYS 2 arba WB, leidžiama užtrukti 1 valandą, kol bus užbaigtas įdėjimo procesas ir nuspaustas mygtukas „Start“. Kortelėje Workplace rodomas atvirkštinio skaičiavimo laikmatis. Sistema neleis pradėti tyrimo, jei pasibaigs leistinas buvimo prietaiso viduje laikas.*

Pastaba: *norėdami užtikrinti tikslų MGP perkėlimą, iš karto prieš pildami į reagento talpą suplakite arba smarkiai supurtykite MGP buteliuką.*

- Įdėkite amplifikacijos / aptikimo reagentų mėgintuvėlius [MMX R2, MMX R1 ir RNR QS], kontrolių mėgintuvėlius [L(+)C, H(+)C ir (-)C] ir bendrųjų reagentų mėgintuvėlius [P 2 ir SD 2, jei reikia] tiesiai į reagentų stovą.

Pastaba: *siekiant išvengti nepageidaujamo tyrimo nutraukimo bei užteršimo, reagentų mėgintuvėlius reikia lengvai suduoti pirštu, kad nesusidarytų burbuliukai / plėvelė ant skysčio. Kontrolės turėtų būti atsukamos pradedant nuo artimiausių (nuo 24 iki 1 padėties). Atidarius teigiamas kontroles, pakeiskite laboratorines pirštines.*

- Pradėkite mėginio paruošimą.

12. Sėkmingai paruošus mėginius, sistema leidžia naudoti mygtukus „Sample Preparation results“ (Mėginių paruošimo rezultatai) ir „Unload“ (Išimti). Jei norite peržiūrėti rezultatus, pasirinkite mygtuką „Sample Preparation results“ (Mėginių paruošimo rezultatai), tada – „Unload“ (Išimti), kad išimtumėte plokštelių stovą. Arba pasirinkite „Unload“ (Išimti), kad išimtumėte plokštelių stovą neperžiūrėję rezultatų. Daugiau išsamios informacijos žr. **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadove.
13. Išėmę mikrošulinėlių plokštelę, sekite **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadove pateiktas plokštelės sandarinimo ir perkėlimo į **cobas® z 480** analizatorių instrukcijas.
14. Įkelkite mikrošulinėlių plokštelę į analizatorių ir pradėkite amplifikacijos ir aptikimo vykdymą, kaip nurodyta **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove.

Pastaba: **cobas® 4800** sistema turi vidinį laikrodį stebėjimui, kiek laiko praėjo po paruoštų mėginių pridėjimo į suaktyvintą pagrindinį reakcijos mišinį. Amplifikacija ir aptikimas turi būti pradėti kiek įmanoma greičiau, bet ne vėliau nei per 40 minučių užbaigus **cobas® x 480** Instrumento darbą. Kortelėje Workplace rodomas atvirkštinio skaičiavimo laikmatis. Pasibaigus leistinam laikui, sistema tyrimą nutraukia.

15. Išimkite mėginius, panaudotus reagentus ir gilių šulinėlių plokštelę, kaip nurodyta **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadove.
16. Baigę amplifikacijos ir aptikimo vykdymą, sekite **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove pateiktas rezultatų peržiūros ir patvirtinimo instrukcijas. Jei naudojama LIS, išsiųskite rezultatus į LIS.
17. Vykdykite **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadove pateiktas mikrošulinėlių plokštelės išėmimo iš **cobas® z 480** analizatoriaus instrukcijas.

HIV-1 kiekybinio tyrimo, atliekamo kartu su HIV-1 kokybiniu tyrimu (HIV-1-qual-DBS), darbo eiga

1. Atlikite sistemos paleidimo ir priežiūros procedūras, vykdydami **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadovo nurodymus.
2. Atlikite priežiūros veiksmus, vykdydami **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadovo nurodymus.
3. Surinkite visus reikalingus reagentus ir priemones. Visi reagentai, išskyrus MMX R2 ir MMX R1, prieš įdedant į **cobas® x 480** instrumentą, turi būti kambario temperatūros. MMX R2 ir MMX R1 reagentus galima paimti tiesiai iš 2–8 °C temperatūros laikymo vietos, nes, kol bus naudojami, jie sušils iki kambario temperatūros **cobas® x 480** instrumente.

Pastaba: **visi reagentai ir reagentų talpos yra pažymėti brūkšniniais kodais ir skirti naudoti vieną kartą. cobas® 4800** programinė įranga seka reagentų ir reagentų talpų naudojimą ir atmeta anksčiau naudotus reagentus arba reagentų talpas.

4. Pradėkite naują tyrimą ir pasirinkite HIV-1 ir HIV-1-qual-DBS tyrimų tipus.
HIV-1 tyrimo tipas reiškia HIV-1 kiekybinį tyrimą, o HIV-1-qual-DBS reiškia HIV-1 kokybinį tyrimą.
HIV-1, HIV-1-qual-DBS, CMV, HCV ir HCV GT tipų tyrimus galima atlikti sujungiant kelis skirtingus tyrimus. Vienu sykiu galima sujungti iki keturių tyrimų.
Šiame skyriuje aprašomas mišriuoju būdu atliekamas tyrimas, sujungiant tik HIV-1 ir HIV-1-qual-DBS tyrimus. Informacijos apie bendrąsias sujungtų tyrimų procedūras žr. **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove.
5. HIV-1 ir HIV-1-qual-DBS tyrimams naudojami amplifikacijos / aptikimo bei HBV / HCV / HIV-1 kontroliniai rinkiniai. Kai tyrimas atliekamas mišriuoju būdu, sujungiant HIV-1 ir HIV-1-qual-DBS tyrimus, galima naudoti vieną amplifikacijos / aptikimo rinkinį ir vieną kontrolinį rinkinį. HIV-1 tyrimui būtini kontroliniai intervalai ir kalibravimo koeficientų parametrai. Vykdykite programinės įrangos

vediklio nurodymus ir nuskaitykite kontrolinių intervalų bei kalibravimo koeficientų parametrų kortelių brūkšninį kodą.

Jeigu mišriuoju būdu atliekamam HIV-1 ir HIV-1-qual-DBS tyrimui reikia naudoti kelis amplifikacijos / aptikimo arba kontrolinius rinkinius, įsitikinkite, kad nuskaityti reagentų, kurie bus naudojami HIV-1 tyrime, kontroliniai intervalai ir kalibravimo koeficientų parametrų kortelės. HIV-1-qual-DBS tyrimui naudojamo (-ų) rinkinio (-ių) kortelių nuskaityti nereikia.

Pastaba: *nuskaitykite reagentų, kurių galiojimo laikas nepasibaigęs, parametrų korteles. Programinė įranga parametrų kortelėse netikrina reagento galiojimo pabaigos datos. Prieš nuskaitydami atitinkamą brūkšninio kodo ID, patikrinkite parametrų kortelėje arba ant reagentų rinkinio nurodytą galiojimo pabaigos datą.*

6. Įkelkite mėginius. Galima įkelti tiek pirminius, tiek antrinius mėginių mėgintuvėlius, o mažiausias mėginio tūris priklauso nuo mėgintuvėlio tipo ir dydžio. Išsamesnę informaciją rasite skyriuje „Tinkami mėgintuvėliai“.

Plazmos ir skiestos plazmos mėginius galima įkelti 24 vietų arba 32 vietų mėginių laikikliu. **PSC** ir sauso kraujo lašo (DBS) mėginius galima įkelti tik 32 vietų mėginių laikikliu.

7. Sukurkite darbo eigą. Yra trys būdai sukurti darbo eigą:

- Naudojant mėginių redaktorių, prieš įkeliant mėginių stovą į **cobas**® x 480 instrumentą (mygtukas Editor (rengyklė) pagrindinio meniu dešinėje). Darbo eigas, jei reikia, galima išsaugoti, redaguoti ir įkelti iš naujo. Pasirinktas mėginio tipas turi būti plazma, skiesta plazma, **PSC** arba sauso kraujo lašas (DBS), jei taikoma. Tada norimas rezultatas automatiškai nustatomas kaip HIV-1 plazmai, skiestai plazmai arba **PSC**, o sausam kraujo lašui (DBS) – kaip HIV-1-qual-DBS.
- Vykdamas programinės įrangos vediklio nurodymus, atliekant naują tyrimą ir įkeliant mėginius į **cobas**® x 480 instrumentą. Mėginio brūkšniniai kodai bus automatiškai nuskaityti ir kiekvienam mėginiui turėsite nurodyti mėginio tipą ir norimus rezultatus. Pasirinkdami mėginio tipą, pasirinkite plazmą, skiestą plazmą, **PSC** arba sauso kraujo lašą (DBS), jei taikoma. Pasirinkus mėginio tipą, norimas rezultatas automatiškai nustatomas kaip HIV-1 plazmai, skiestai plazmai arba **PSC**, o sausam kraujo lašui (DBS) – kaip HIV-1-qual-DBS.
- Naudojant įstaigos LIS sistemą.

Pastaba: *pasirinkite tinkamą mėginio tipą. Programinė įranga netikrina, ar pasirinktas mėginio tipas atitinka įkeliamą mėginį. Pavyzdžiui, jei įkeliamas **PSC** mėginys, būtinai pasirinkite **PSC** mėginio tipą (o ne plazmą, skiestą plazmą ar DBS).*

Daugiau išsamios informacijos žr. **cobas**® 4800 sistemos vartotojo vadove. Įkelkite mėginius ir atitinkamai nustatykite / pasirinkite darbo eigą arba naudokite LIS.

8. Įkelkite priemones, kaip nurodo programinės įrangos vediklis. Nedėkite atskirų antgalių į dalinai išnaudotą antgalių stovą ir neišimkite jų, nes programinė įranga seka likusių antgalių skaičių. Jeigu pasirinktam tyrimui antgalių nepakanka, programinė įranga įspės vartotoją.
9. Perkelkite mėginių paruošimo reagentus į brūkšniniais kodais pažymėtas talpas. Reagentų talpos yra dviejų dydžių: 200 ml ir 50 ml. Sekite programinės įrangos vediklio nurodymus tinkamų reagentų talpų pasirinkimui. Reagentų talpų brūkšniniai kodai turi būti nukreipti į dešinę stovo pusę. Mėginių paruošimo reagentus įdėkite naudodami metodą „nuskaityti-nuskaityti-įpilti-įdėti“:
 - Nuskaitykite reagento buteliuko brūkšninį kodą
 - Nuskaitykite reagento talpos brūkšninį kodą
 - Perpilkite reagentą į talpą (prieš pildami, suplakite MGP buteliuką)

- Įkelkite pripildytą reagento talpą į jam skirtą vietą reagentų stovė

Pastaba: *cobas® 4800 sistema turi vidinį laikrodį reagentų buvimo prietaiso viduje trukmei stebėti. Nuskaicius LYS 2 arba WB, leidžiama užtrukti 1 valandą, kol bus užbaigtas įdėjimo procesas ir nuspaustas mygtukas „Start“. Kortelėje Workplace rodomas atvirkštinio skaičiavimo laikmatis. Sistema neleis pradėti tyrimo, jei pasibaigs leistinas buvimo prietaiso viduje laikas.*

Pastaba: *norėdami užtikrinti tikslių MGP perkėlimą, iš karto prieš pildami į reagento talpą suplakite arba smarkiai supurtykite MGP buteliuką.*

10. Įdėkite amplifikacijos / aptikimo reagentų mėgintuvėlius [MMX R2, MMX R1 ir RNR QS], kontrolių mėgintuvėlius [L(+)C, H(+)C ir (–)C, skirtus HIV-1 tyrimui, ir L(+)C ir (–)C, skirtus HIV-1-qual-DBS tyrimui] ir bendrųjų reagentų mėgintuvėlius [P 2 ir SD 2, jei reikia] tiesiai į reagentų stovą.

Ir HIV-1 tyrimui, ir HIV-1-qual-DBS tyrimui reikia jiems skirto amplifikacijos / aptikimo reagentų mėgintuvėlių ir kontrolių mėgintuvėlių komplekto, o kiekvienas komplektas gali būti sudaromas iš to paties rinkinio arba iš skirtingų rinkinių.

Atliekant HIV-1-qual-DBS tyrimą, programinė įranga nurodo naudotojui įkelti QS. Šis QS naudojamas kaip vidinė kontrolė (IC), o tyrimo rezultatų ataskaitoje pristatomas kaip IC.

Be to, atliekant HIV-1-qual-DBS tyrimą, programinė įranga nurodo naudotojui įkelti L(+)C. Šis L(+)C naudojamas kaip teigiama kontrolė ir tyrimo rezultatų ataskaitoje pristatomas kaip teigiama kontrolė (Positive Control). H(+)C nereikia HIV-1-qual-DBS tyrimui.

Pastaba: *siekiant išvengti nepageidaujamo tyrimo nutraukimo bei užteršimo, reagentų mėgintuvėlius reikia lengvai suduoti pirštu, kad nesusidarytų burbuliukai / plėvelė ant skysčio. Kontrolės turėtų būti atsukamos pradedant nuo artimiausių (nuo 24 iki 1 padėties). Atidarius teigiamas kontroles, pakeiskite laboratorines pirštines.*

11. Pradėkite mėginio paruošimą.
12. Sėkmingai paruošus mėginius, sistema leidžia naudoti mygtukus „Sample Preparation results“ (Mėginių paruošimo rezultatai) ir „Unload“ (Išimti). Jei norite peržiūrėti rezultatus, pasirinkite mygtuką „Sample Preparation results“ (Mėginių paruošimo rezultatai), tada – „Unload“ (Išimti), kad išimtumėte plokštelių stovą. Arba pasirinkite „Unload“ (Išimti), kad išimtumėte plokštelių stovą neperžiūrėję rezultatų. Žr. **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadovą.
13. Išėmę mikrošulinėlių plokštelę, sekite **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadove pateiktas plokštelės sandarinimo ir perkėlimo į **cobas® z 480** analizatorių instrukcijas.
14. Įkelkite mikrošulinėlių plokštelę į analizatorių ir pradėkite amplifikacijos ir aptikimo vykdymą, kaip nurodyta **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove.

Pastaba: *cobas® 4800 sistema turi vidinį laikrodį stebėjimui, kiek laiko praėjo po paruoštų mėginių pridėjimo į suaktyvintą pagrindinį reakcijos mišinį. Amplifikacija ir aptikimas turi būti pradėti kiek įmanoma greičiau, bet ne vėliau nei per 40 minučių užbaigus cobas® x 480 Instrumento darbą. Kortelėje Workplace rodomas atvirkštinio skaičiavimo laikmatis. Pasibaigus leistinam laikui, sistema tyrimą nutraukia.*

15. Išimkite mėginius, panaudotus reagentus ir gilių šulinėlių plokštelę, kaip nurodyta **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadove.
16. Baigę amplifikacijos ir aptikimo vykdymą, sekite **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove pateiktas rezultatų peržiūros ir patvirtinimo instrukcijas. Jei naudojama LIS, išsiųskite rezultatus į LIS.
17. Vykdykite **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadove pateiktas mikrošulinėlių plokštelės išėmimo iš **cobas® z 480** analizatoriaus instrukcijas.

cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo rezultatai

cobas® 4800 sistema automatiškai nustato ŽIV-1 RNR koncentraciją mėginiuose ir kontrolėse. ŽIV-1 RNR koncentracija išreiškiama kopijomis mililitre (kop./ml) arba tarptautiniais vienetais mililitre (TV/ml).

cobas® HIV-1 tyrimo perskaičiavimo koeficientas yra 0,6 kop./TV.

cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo kokybės kontrolė ir rezultatų patikimumas

- Kiekvienoje partijoje apdorojama viena neigiama kontrolė (–)C ir dvi teigiamos kontrolės: silpnai teigiama kontrolė HBV/HCV/HIV-1 L(+)C ir stipriai teigiama kontrolė HBV/HCV/HIV-1 H(+)C.
- Partijos rezultatų patikimumą patikrinkite naudodami **cobas® 4800** programinę įrangą ir (arba) ataskaitoje.
- cobas® 4800** programinė įranga rezultatų nepatikimumą automatiškai nustato pagal neigiamų ir teigiamų kontrolių klaidas.

cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo kontrolių rezultatų aiškinimas

1 lentelė. Neigiamos ir teigiamos kontrolių rezultatų aiškinimas

Neigiama kontrolė	Rezultatas	Aiškinimas
(–)C	Target Not Detected	Kontrolės rezultatas patikimas. ŽIV-1 RNR neaptikta.
	Invalid	Nepatikimas rezultatas arba neigiamos kontrolės suskaičiuotas titro rezultatas nėra neigiamas.
Teigiama kontrolė	Rezultatas	Aiškinimas
HBV/HCV/HIV-1 L(+)C	Titer	Kontrolės rezultatas patikimas. Suskaičiuotas titras patenka į kontrolės intervalą.
	Invalid	Nepatikimas rezultatas arba silpnai teigiamos kontrolės apskaičiuotas titro rezultatas yra už priskirtos skalės ribų.
HBV/HCV/HIV-1 H(+)C	Titer	Kontrolės rezultatas patikimas. Suskaičiuotas titras patenka į kontrolės intervalą.
	Invalid	Rezultatas netinkamas vertinti arba stipriai teigiamos kontrolės apskaičiuotas titro rezultatas yra už priskirtos skalės ribų.

cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo rezultatų aiškinimas

Pastaba: visus tyrimų ir partijų patvirtinimus nustato cobas® 4800 programinė įranga.

Pastaba: patvirtintą partiją gali sudaryti ir patikimi, ir nepatikimi mėginių rezultatai.

Patvirtintos partijos mėginių rezultatai aiškinami, kaip parodyta 2 lentelėje.

2 lentelė. Taikinio rezultatai ir atskirų taikinio rezultatų aiškinimas

HIV-1	Rezultatų ataskaita ir aiškinimas
Target Not Detected	ŽIV RNR neaptikta. Rezultatai pranešami taip: „HIV not detected“.
< Titer Min	Apskaičiuota titro reikšmė mažesnė nei tyrimo apatinė kiekybinė riba (LLOQ). Rezultatai pranešami taip: „HIV detected, less than (Titer Min)“. Min. titras = 2,00E+01 kop./ml ir 3,33E+01 TV/ml (400 µl plazmos) Min. titras = 6,00E+01 kop./ml ir 1,00E+02 TV/ml (200 µl skiestos plazmos) Min. titras = 5,99E+02 kop./ml ir 9,98E+02 TV/ml (PSC mėginiai)
Titer	Suskaičiuotas titras patenka į tyrimo linijinį intervalą – didesnis už min. titrą arba jam lygus ir mažesnis už maks. titrą arba jam lygus. Rezultatai pranešami taip: „(Titer) of HIV-1 detected“.
> Titer Max ^a	Apskaičiuota titro reikšmė didesnė nei tyrimo viršutinė kiekybinė riba (ULOQ). Rezultatai pranešami taip: „HIV detected, greater than (Titer Max)“. Maks. titras = 1,00E+07 kop./ml ir 1,67E+07 TV/ml (400 µl plazmos, 200 µl skiestos plazmos ir PSC mėginiai)
Invalid	Taikinio rezultatas yra netinkamas, vidinės kontrolės rezultatas yra netinkamas arba neigiamas; arba išorinės kontrolės rezultatas yra netinkamas

^a Mėginio rezultatas > Titer Max reiškia, kad aptikti ŽIV-1 teigiami mėginiai, kurių titro reikšmė yra didesnė už viršutinę kiekybinę ribą (ULOQ). Jei reikia kiekybinių rezultatų, pradinį mėginį reikia atskiesti neigiamą ŽIV-1 žmogaus kraujo EDTA plazma ir tyrimą pakartoti. Gauti rezultatai dauginami iš atskiedimo koeficiento.

cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo rezultatų žymų sąrašas

Toliau lentelėje išvardytos visos žymos, reikšmingos interpretuojant rezultatus.

3 lentelė. Žymų sąrašas

Žymos kodas	Aprašas	Rekomenduojamas veiksmas
R4800	Taikinio rezultatas yra netinkamas dėl rezultato apskaičiavimo trikdžių.	Taikinio rezultatas yra netinkamas dėl rezultato apskaičiavimo trikdžių. 1. Ištirkite mėginį dar kartą. 2. Jei problema išlieka, kreipkitės į Roche aptarnavimo padalinį.
R4801	Kiekybinio standarto rezultatas yra netinkamas.	Mėginio kiekybinio standarto rezultatas yra netinkamas. 1. Ištirkite mėginį dar kartą. 2. Jei problema išlieka, kreipkitės į Roche aptarnavimo padalinį.
R4802	Išorinės kontrolės rezultatas yra netinkamas.	Išorinės kontrolės rezultatas yra netinkamas. ^a 1. Pakartokite visą tyrimą naudodami naujus reagentus. 2. Jei problema išlieka, kreipkitės į Roche aptarnavimo padalinį.
R4803	Kiekybinio standarto rezultatas yra netinkamas.	Išorinės kontrolės kiekybinio standarto rezultatas yra netinkamas. 1. Pakartokite visą tyrimą naudodami naujus reagentus. 2. Jei problema išlieka, kreipkitės į Roche aptarnavimo padalinį.
R4804	Išorinės kontrolės rezultatas išeina už intervalo ribų.	Išorinė kontrolė nepatenka į diapazoną. ^b 1. Pakartokite visą tyrimą naudodami naujus reagentus. 2. Jei problema išlieka, kreipkitės į Roche aptarnavimo padalinį.
X3	Klaida: aptiktas krešulys, mėginys nebuvo apdorotas.	Įsitikinkite, kad mėginiai buvo apdoroti pagal darbo eigos aprašą. 1. Patikrinkite, ar mėginyje nėra gumulėlių. 2. Ištirkite mėginį dar kartą.
X4	Klaida: įvyko pipetavimo klaida. Mėginys nebuvo apdorotas.	Labiausiai tikėtina priežastis – nepakankamas mėginio tūris arba mechaninis pipetavimo sutrikimas. 1. Įsitikinkite, kad mėginio tūris yra pakankamas. 2. Patikrinkite, ar plokštelė antgalių išmetimo pozicijoje yra tinkamai įstatyta. 3. Ištirkite mėginį dar kartą.

^a Tai mėginio žyma, rodoma, kai išorinė kontrolė turi netinkamą rezultatą (dėl taikinio aptikimo arba titro).

^b Ši žyma apima visus scenarijus, kai išorinė kontrolė yra netinkama (tikslinė analizė arba titras).

Pastaba: visas sistemos žymas žr. cobas® 4800 sistemos vartotojo vadove.

Procedūros apribojimai

1. **cobas®** HIV-1 kiekybinis tyrimas buvo įvertintas tik naudojant kartu su **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 kontroliniu rinkiniu, **cobas®** 4800 sistemos mėginių 2 paruošimo rinkiniu, **cobas®** 4800 sistemos 2 lizės rinkiniu, **cobas®** 4800 sistemos plovimo buferinio tirpalo rinkiniu ir **cobas®** 4800 sistemos 2 mėginio skiedikliu.
2. Norėdami gauti patikimus rezultatus, mėginius rinkite, transportuokite, laikykite ir apdorokite tinkamai. Vykdykite šiame naudojimo instrukcijų dokumente (taip pat vadinamas Pakuotės lapeliu) ir **cobas®** 4800 sistemos vartotojo vadove aprašytas procedūras.
3. **cobas®** HIV-1 kiekybinis tyrimas buvo patvirtintas tik naudojant EDTA plazmą arba **cobas®** plazmos atskyrimo kortelės (**PSC**) sausos plazmos lašą. Kitų tipų mėginių tyrimo rezultatai gali būti netikslūs.
4. ŽIV-1 RNR kiekybinis įvertinimas priklauso nuo viruso dalelių kiekio mėginyje. Jam įtakos gali turėti mėginio paėmimo būdas, su pacientu susiję veiksniai (t. y. amžius, įvairūs simptomai) ir (arba) infekcijos stadija.
5. Retais atvejais mutacijos konservatyviuose virusinio genomo regionuose, kuriuos tiria **cobas®** HIV-1, gali daryti įtaką pradmenų ir/arba zondų prisijungimui, dėl ko kiekybinis viruso įvertinimas gali būti žemesnis nei yra arba virusas gali būti nenustatomas.
6. Tyrimo prognozė priklauso nuo ligos paplitimo konkrečioje populiacijoje.
7. AmpErase fermento pridėjimas į **cobas®** HIV-1 pagrindinį mišinį aktyvina selektyviąją tiriamos nukleorūgščių amplifikaciją. Vis dėlto siekiant neužteršti reagentų ir amplifikacijos mišinių būtina taikyti gerąsias laboratorijos praktikas ir kruopščiai laikytis šiame naudojimo instrukcijų dokumente pateiktų instrukcijų.
8. Šį produktą gali naudoti tik dirbti su PGR technologijomis ir **cobas®** 4800 sistema dirbti apmokytas personalas.
9. Šio produkto naudojimas patvirtintas tik su **cobas®** x 480 instrumentu ir **cobas®** z 480 analizatoriumi. Joks kitas mėginių paruošimo instrumentas ar PGR sistema negali būti naudojama su šiuo produktu.
10. Dėl technologijoms būdingų skirtumų naudotojams rekomenduojama prieš pakeičiant vieną technologiją kita savo laboratorijose atlikti metodų koreliacinę analizę, kad būtų įvertinti technologijų skirtumai. Naudotojai turėtų laikytis savo pačių nustatytų specifinių nurodymų/procedūrų.
11. Dėl kryžminio užteršimo galima gauti klaidingus teigiamus rezultatus. Neklinikinio įvertinimo metu nustatytas kryžminio užteršimo iš mėginio į mėginį **cobas®** HIV-1 dažnis yra 0,0 %. Kryžminis užteršimas nuo vieno tyrimo kitam nebuvo pastebėtas.
12. **cobas®** HIV-1 kiekybinis tyrimas neskirtas naudoti ŽIV-1 patikrinti kraujyje arba kraujo produktuose.

cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo neklinikinis efektyvumo įvertinimas

Pagrindinės EDTA plazmos mėginių eksploatacinės savybės

EDTA plazmos mėginiams taikoma aptikimo riba (LoD)

cobas® HIV-1 aptikimo riba buvo nustatyta analizuojant PSO tarptautinio standarto, skirto ŽIV-1 RNR nukleorūgšties amplifikacijos technologijos tyrimams (2-asis PSO tarptautinis standartas, NIBSC kodas 97/650), M grupės, B potipio, gauto iš NIBSC, ŽIV neigiamoje EDTA plazmoje, serijiniams skiedimams naudojant 400 µl ir 200 µl apdorojamo tūrio mėginius. Mėginių grupės, kurias sudarė šešių skirtingų koncentracijų skiedimai ir neigiamas mėginys, buvo tiriamos naudojant tris **cobas®** HIV-1 reagentų partijas, kartotinius tyrimus, skirtingomis dienomis, tyrimą atliekant skirtingiems operatoriams ir su skirtingais instrumentais.

EDTA plazmos rezultatai iš abiejų mėginio apdorojimo tūrių pateikti 4 lentelėje ir 5 lentelėje. Tyrimas parodė, kad **cobas®** HIV-1 tyrimo ŽIV-1 RNR aptikimo koeficientas buvo $\geq 95\%$, kaip nustatyta pagal PROBIT, kai koncentracija yra 14,2 kop./ml (23,7 TV/ml) apdorojant 400 µl mėginio tūrio ir kai koncentracija yra 43,9 kop./ml (73,4 TV/ml) apdorojant 200 µl mėginio tūrio.

4 lentelė. Aptikimo riba EDTA plazmoje (400 µl)

Įvedama titro koncentracija (ŽIV-1 RNR kop./ml)	Įvedama titro koncentracija (ŽIV-1 RNR TV/ml)	Tinkamus vertinti rezultatus turinčių pakartojimų skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koeficientas
60,0	100,0	252	252	100,0 %
30,0	50,0	251	251	100,0 %
20,0	33,3	252	247	98,0 %
10,0	16,7	252	227	90,1 %
5,0	8,3	252	160	63,5 %
2,0	3,3	252	86	34,1 %
0,0	0,0	71	0	0,0 %
LoD pagal PROBIT esant 95 % atitikimo koef.		14,2 kop./ml; 95 % patikimumo intervalas: 12,5–16,6 kop./ml 23,7 TV/ml; 95 % patikimumo intervalas: 20,8–27,7 TV/ml		

5 lentelė. Aptikimo riba EDTA plazmoje (200 µl)

Įvedama titro koncentracija (ŽIV-1 RNR kop./ml)	Įvedama titro koncentracija (ŽIV-1 RNR TV/ml)	Tinkamus vertinti rezultatus turinčių pakartojimų skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koeficientas
100,0	166,7	251	251	100,0 %
60,0	100,0	251	249	99,2 %
30,0	50,0	251	227	90,4 %
15,0	25,0	250	172	68,8 %
7,0	11,7	250	110	44,0 %
3,5	5,8	250	83	33,2 %
0,0	0,0	68	0	0,0 %
LoD pagal PROBIT esant 95 % atitikimo koef.		43,9 kop./ml; 95 % patikimumo intervalas: 37,7–52,7 kop./ml 73,4 TV/ml; 95 % patikimumo intervalas: 62,9–88,1 TV/ml		

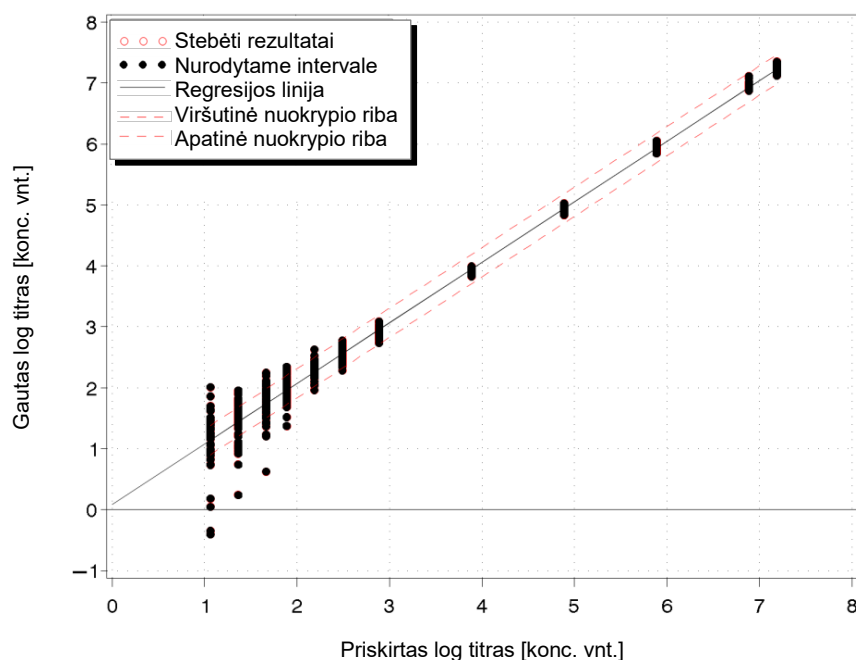
EDTA plazmos mėginiams taikomas linijinis intervalas

cobas® HIV-1 linijiskumas buvo nustatytas analizuojant skiedimų seriją, sudarytą iš 12 grupės narių (apdorojant 400 µl mėginio tūrio) ir 11 grupės narių (apdorojant 200 µl mėginio tūrio), kuriuose dominavo ŽIV-1 M grupės B potipis, per visą tyrimo linijinį intervalą. Grupės nariai buvo paruošti naudojant didesnio titro ŽIV-1 RNR teigiamos ląstelių kultūros supernatanto mėginį.

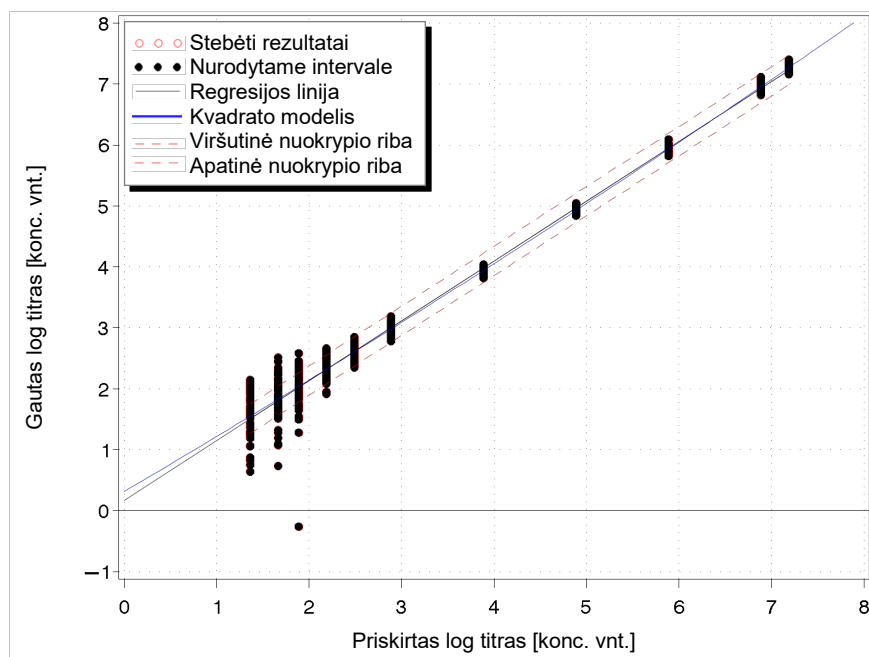
Apdorojant 400 µl mėginio tūrio, **cobas®** HIV-1 rezultatai buvo tiesiniai nuo 20,0 kop./ml iki 1,00E+07 kop./ml (nuo 33,3 TV/ml iki 1,67E+07 TV/ml), o didžiausias nuokrypis nuo geriau tinkančios netiesinės regresijos buvo mažesnis nei $\pm 0,07 \log_{10}$ (žr. 15 pav.). Linijiniame intervale tyrimo tikslumas buvo $\pm 0,18 \log_{10}$.

Apdorojant 200 µl mėginio tūrio, **cobas®** HIV-1 rezultatai buvo tiesiniai nuo 60,0 kop./ml iki 1,00E+07 kop./ml (nuo 100,0 TV/ml iki 1,67E+07 TV/ml), o didžiausias nuokrypis nuo geriau tinkančios netiesinės regresijos buvo mažesnis nei $\pm 0,08 \log_{10}$ (žr. 16 pav.). Linijiniame intervale tyrimo tikslumas buvo $\pm 0,19 \log_{10}$.

15 pav. Aptikimo riba linijiniame intervale EDTA plazmoje (400 µl)



16 pav. Aptikimo riba linijiniame intervale EDTA plazmoje (200 µl)



Tikslumas – laboratorijoje naudojant EDTA plazmos mėginius

cobas® HIV-1 tikslumas buvo nustatytas analizuojant ŽIV-1 stipriai teigiamo mėginio (M grupės B potipio; kultūroje auginto viruso) serijinius skiedimus ŽIV neigiamoje EDTA plazmoje. Buvo ištirti septyni skiedimo lygiai (400 µl apdorojamas mėginio tūris) ir penki skiedimo lygiai (200 µl apdorojamas mėginio tūris), atliekant po 16 kiekvieno lygio ir mėginio apdorojamo tūrio pakartojimų trijose **cobas® HIV-1** reagentų partijose, 15 dienų laikotarpyje naudojant tris instrumentus ir tyrimą atliekant 4 operatoriams. Rezultatai pateikti 6 lentelėje ir 7 lentelėje.

cobas® HIV-1 parodė puikų tikslumą visose trijose reagentų partijose, tirtose naudojant koncentracijų intervalą nuo $1,0\text{E}+02$ kop./ml iki $2,00\text{E}+07$ kop./ml apdorojant 400 µl mėginio tūrio ir nuo $1,00\text{E}+04$ kop./ml iki $2,00\text{E}+07$ kop./ml apdorojant 200 µl mėginio tūrio.

6 lentelė. cobas® HIV-1 tikslumas laboratorijoje (EDTA plazmos mėginiai, mėginio apdorojamas tūris – 400 µl)^a

Nominali koncentracija (kop./ml)	Priskirta koncentracija (kop./ml)	Šaltinio medžiaga	EDTA plazma			
			1 partija	2 partija	3 partija	Visos partijos
			SD	SD	SD	Jungtinis SD
$2,0\text{E}+07$	$1,54\text{E}+07$	Ląstelių kultūra	0,05	0,05	0,04	0,05
$1,0\text{E}+06$	$7,70\text{E}+05$	Ląstelių kultūra	0,05	0,05	0,05	0,05
$1,0\text{E}+05$	$7,70\text{E}+04$	Ląstelių kultūra	0,05	0,05	0,05	0,05
$1,0\text{E}+04$	$7,70\text{E}+03$	Ląstelių kultūra	0,04	0,06	0,07	0,06
$1,0\text{E}+03$	$7,70\text{E}+02$	Ląstelių kultūra	0,09	0,10	0,07	0,09
$4,0\text{E}+02$	$3,08\text{E}+02$	Ląstelių kultūra	0,08	0,10	0,09	0,09
$1,0\text{E}+02$	$7,70\text{E}+01$	Ląstelių kultūra	0,18	0,24	0,15	0,19

^a Titro duomenys laikomi logaritmiškai įprastai pasiskirstę ir analizuojami pagal $\log_{10}$ transformaciją. Standartinio nuokrypio (SD) stulpeliuose pateikta kiekvienos iš trijų reagentų partijų logaritmuojant transformuoto titro bendra suma.

7 lentelė. cobas® HIV-1 tikslumas laboratorijoje (EDTA plazmos mėginiai, mėginio apdorojamas tūris – 200 µl)^a

Nominali koncentracija (kop./ml)	Priskirta koncentracija (kop./ml)	Šaltinio medžiaga	EDTA plazma			
			1 partija SD	2 partija SD	3 partija SD	Visos partijos Jungtinis SD
2,0E+07	1,54E+07	Kultūrinis virusas	0,04	0,04	0,04	0,04
1,0E+07	7,70E+06	Kultūrinis virusas	0,04	0,04	0,04	0,04
1,0E+06	7,70E+05	Kultūrinis virusas	0,03	0,04	0,05	0,04
1,0E+05	7,70E+04	Kultūrinis virusas	0,04	0,05	0,03	0,04
1,0E+04	7,70E+03	Kultūrinis virusas	0,05	0,04	0,04	0,04

^a Titro duomenys laikomi logaritmiškai įprastai pasiskirstę ir analizuojami pagal log₁₀ transformaciją. Standartinio nuokrypio (SD) stulpeliuose pateikta kiekvienos iš trijų reagentų partijų logaritmuojant transformuoto titro bendra suma.

Grupės / potipio patvirtinimas naudojant EDTA plazmos mėginius

cobas® HIV-1 efektyvumas tiriant ŽIV-1 M grupės potipius, O grupę ir N grupę buvo įvertintas:

- Patvirtinant M grupės potipių, O grupės ir N grupės aptikimo ribą;
- Patvirtinant M grupės potipių, O grupės ir N grupės linijškumą;

M grupės potipių, O grupės ir N grupės aptikimo ribos įvertinimas

Kultūroje auginto ŽIV-1 mėginiai ŽIV-1 M (A, C, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG), ŽIV-1O ir ŽIV-1N buvo praskiesti EDTA plazma iki dominuojančios grupės / potipio (ŽIV-1 M (B potipis) LoD koncentracijos, atsižvelgiant į 95 % atitikimo koeficiento LoD analizę (20,0 kop./ml). Atitikimo koeficiento analizė buvo atlikta naudojant 42 kiekvienos grupės / potipio pakartojimus. Šie rezultatai patvirtina, kad **cobas® HIV-1** aptiko ŽIV esant ŽIV-1M (A, C, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG), ŽIV-1O ir ŽIV-1N 20 kop./ml koncentracijai, o viršutinis vienpusis 95 % patikimumo intervalas buvo didesnis nei numatytas 95 % atitikimo koeficientas.

8 lentelė. ŽIV-1 M grupės potipių, O grupės ir N grupės LoD įvertinimas 400 µl EDTA plazmoje

Grupė Potipis	Tirta koncentracija: 20,0 k./ml		
	Teigiamų pakartojimų skaičius	Tinkamus vertinti rezultatus turinčių pakartojimų skaičius	Atitikimo koeficientas % (viršutinis vienpusis 95 % CI)
M A	39	42	92,86 % (98,02 %)
C	42	42	100 % (100 %)
D	41	42	97,62 % (99,88 %)
F	39	42	92,86 % (98,02 %)
G	38	42	90,48 % (96,68 %)
H	41	42	97,62 % (99,88 %)
CRF01_AE	40	42	95,24 % (99,15 %)
CRF02_AG	41	42	97,62 % (99,88 %)
O	39	42	92,86 % (98,02 %)
N	41	42	97,62 % (99,88 %)

M grupės potipių, O grupės ir N grupės linijinio intervalo įvertinimas

cobas® HIV-1 potipių linijinio tyrimo įvertinimui naudotą skiedimo seriją sudarė septyni grupės nariai, per visą linijinį intervalą. Grupės nariai buvo paruošti naudojant didesnio titro ŽIV-1 RNR teigiamos ląstelių kultūros atitinkamos grupės / potipio supernatanto mėginius. Tirtas **cobas®** HIV-1 linijinis intervalas apėmė nuo LLoQ (20,0 kop./ml, apdorojant 400 µl mėginio) iki ULoQ (1,0E+07 kop./ml) ir į jį buvo įtrauktos mažiausiai dvi koncentracijos reikšmės, reikšmingos medicininių sprendimų priėmimui. EDTA plazmoje buvo atlikta po dvyliką kiekvienos koncentracijos tyrimo pakartojimų.

Buvo patvirtintas **cobas®** HIV-1 M grupės potipių, O grupės ir N grupės linijinis intervalas. Didžiausias nuokrypis tarp linijinės regresijos ir geriau tinkančios netiesinės regresijos buvo mažesnis nei 0,12 log₁₀.

Analitinis specifiškumas

cobas® HIV-1 analitinis specifiškumas buvo vertinamas skiedžiant patogenų grupę ŽIV RNR teigiama ir ŽIV RNR neigiama EDTA plazma (9 lentelė). Patogenų buvo pridėta į neigiamą EDTA plazmą ir tirta su ŽIV RNR ir be jos. Nė vienas iš ne ŽIV patogenų netrukdė tyrimo efektyvumui. Neigiami rezultatai naudojant **cobas®** HIV-1 buvo gauti su visais patogenų mėginiais be tiriamo ŽIV-1, teigiami rezultatai buvo gauti su visais patogenų mėginiais su tiriamu ŽIV-1. Be to, visų teigiamų ŽIV-1 mėginių su potencialiai kryžminės reakcijos sukeliančiais organizmais vidutinis log₁₀ buvo ±0,32 log₁₀ ribose lyginant su pridėto teigiamo mėginio vidutiniu log₁₀ titru.

9 lentelė. Patogenai, kurių kryžminės reakcijos buvo tirtos

Virusai		Bakterijos	Mielės
5 tipo adenovirusas	Paprastosios pūslelinės viruso 1 ir 2 tipai	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida albicans</i>
Citomegalovirusas	Žmogaus papilomos virusas	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Dengė karštligės viruso 1, 2, 3 ir 4 tipai	Gripo A tipo virusas		
Epšteino–Baro virusas	Murray Valley encefalito virusas		
FSME virusas (atmaina HYPR)	Sent Luiso encefalito virusas		
Hepatito A virusas	Varicella-Zoster virusas		
Hepatito B virusas	Vakarų Nilo virusas		
Hepatito C virusas	Geltonosios karštinės virusas		
Žmogaus T ląstelių limfotropinio viruso 1 ir 2 tipai	Zika virusas		
Žmogaus pūslelinės 6 tipo virusas	ŽIV-2		

Analitinis specifiškumas – interferuojančios medžiagos

Didesni trigliceridų (27,9–29,0 g/l), konjuguoto bilirubino (0,18–0,22 g/l), nekonjuguoto bilirubino (0,19–0,2 g/l), albumino (57,8–60,6 g/l), hemoglobino (1,8–2,3 g/l) ir žmogaus DNR (2 mg/l) kiekiai mėginiuose buvo ištirti, juose esant ŽIV RNR ir be jos. Buvo parodyta, kad tirtos medžiagos nedaro įtakos **cobas®** HIV-1 tyrimo efektyvumui. Taip pat buvo ištirtas autoimuninių ligų – sisteminės raudonosios vilkligės (SRV) ir reumatoidinio artrito (RA), antinuklelinių antikūnų (ANA) – žymenų buvimas.

Papildomai buvo ištirtos, 10 lentelėje išvardytos vaistinės medžiagos naudojant tris kartus didesnę jų koncentraciją nei nustatyta C_{maks}, esant ŽIV RNR ir be jos.

Parodyta, kad jokios potencialios interferuojančios medžiagos netrukdė tyrimo efektyvumui. Neigiami rezultatai naudojant **cobas®** HIV-1 buvo gauti su visais mėginiais be tiriamo ŽIV, teigiami rezultatai buvo gauti su visais mėginiais su tiriamu ŽIV-1. Be to, visų teigiamų ŽIV-1 mėginių su potencialiai trukdančiomis medžiagomis vidutinis log₁₀ titras buvo ±0,20 log₁₀ ribose lyginant su pridėto teigiamo mėginio vidutiniu log₁₀ titru.

10 lentelė. Vaistinės medžiagos tirtos dėl interferencijos kiekybiškai tiriant ŽIV RNR, naudojant cobas® HIV-1

Vaisto klasė	Bendrinis vaisto pavadinimas	
Imunomodulatoriai	Peginterferonas α -2a	Ribavirinas
	Peginterferonas α -2b	
ŽIV patekimo inhibitorius	Maravirokas	
ŽIV integrazės inhibitoriai	Elvitegraviras / Cobicistatas	Raltegraviras
Nenukleozidiniai ŽIV atvirkštinės transkriptazės inhibitoriai	Efavirenzas	Nevirapinas
	Etravirinas	Rilpivirinas
ŽIV proteazių inhibitoriai	Atazanaviras	Nelfinaviras
	Darunaviras	Ritonaviras
	Fosamprenaviras	Sakvinaviras
	Lopinaviras	Tipranaviras
HCV proteazių inhibitoriai	Bocepreviras	Telapreviras
	Simepreviras	
Atvirkštinės transkriptazės arba DNR polimerazės inhibitoriai	Abakaviras	Gancikloviras
	Acicloviras	Lamivudinas
	Adefoviro dipivoksilas	Sofosbuviras
	Cidofoviras	Telbivudinas
	Emtricitabinas	Tenofoviras
	Entekaviras	Valgancikloviras
	Foskarnetas	Zidovudinas
Junginiai oportunistinėms infekcijoms gydyti	Azitromicinas	Pirazinamidas
	Klaritromicinas	Rifabutinas
	Etambutolis	Rifampicinas
	Flukonazolis	Sulfametoksazolis
	Izoniazidas	Trimetoprimas

Visos sistemos sutrikimas naudojant EDTA plazmos mėginius

cobas® HIV-1 visos sistemos sutrikimo koeficientas buvo nustatytas atliekant 100 EDTA plazmos, į kurią pridėta ŽIV-1 M grupės B potipio virusų, tyrimo pakartojimų. Šie mėginiai buvo tirti esant apytiksliai $3 \times \text{LoD}$ koncentracijai.

Šio tyrimo rezultatai patvirtino, kad visi pakartotiniai tyrimo mėginiai turėjo patikimus rezultatus ir buvo teigiami tiriamam ŽIV-1, taigi bendras visos sistemos sutrikimo koeficientas buvo 0,0 %. Dvišalis 95 % tikslumo patikimumo intervalas buvo 0,0 % apatinei ribai ir 3,6 % viršutinei ribai [0 %: 3,6 %].

Kryžminis užteršimas naudojant EDTA plazmos mėginius

cobas® HIV-1 kryžminio užteršimo koeficientas buvo nustatytas atliekant 230 ŽIV neigiamų EDTA plazmos mėginių tyrimo pakartojimų ir 235 aukšto titro $1,9\text{E}+07$ kop./ml ŽIV-1 mėginių tyrimo pakartojimus. Iš viso buvo atliktos penkios tyrimų procedūros, pakaitomis tiriant teigiamus ir neigiamus mėginius.

Visų 230 neigiamų mėginių pakartojimų kryžminio užteršimo koeficientas buvo 0,0 %, o vienpusis viršutinis 95 % patikimumo intervalas – 1,3 %.

PSC sausos plazmos lašo mėginių pagrindinės eksploatacinės savybės

Aptikimo riba (LoD) naudojant PSC

cobas® HIV-1 aptikimo riba kartu su **PSC** buvo nustatyta išanalizavus plazmos titrus, priskirtus ŽIV-1 M grupės ląstelių kultūros supernatanto skiediniams, žmogaus neapdorotame kraujyje, kuriame nebuvo ŽIV. Iš penkių koncentracijos lygių ir neigiamo mėginio sudaryti rinkiniai buvo ištirti naudojant tris **PSC** partijas ir tris **cobas®** HIV-1 tyrimo reagentų partijas, tyrimus vykdant keletą dienų, atliekant kelis tyrimų ciklus, pasitelkiant įvairius operatorius ir prietaisus. Aukščiausio titro mėginys iš rinkinio buvo nucentrifuguotas ir plazmai priskirtas titras taikant kalibratoriaus serijos metodą (CBM) tiriant su **cobas®** HIV-1 tyrimu pagal 3-įjį ŽIV-1 PSO standartą, ŽIV-1 grupė M, potipis B, skirtas paruošti aukšto ir žemo lygio kalibratoriams.

Bendrieji trijų **PSC** partijų, neigiamų donorų ir skiedimo serijų su atskiromis plazmos titrų užduotimis (CBM) rezultatai pateikti 11 lentelėje. Tyrimas rodo, kad **cobas®** HIV-1 kartu su **PSC** aptiko ŽIV-1 RNR, kai koncentracija siekė 598,6 kop./ml (997,7 TV/ml), o sutapimo dažnis, nustatytas atlikus Probit, siekė 95 %.

11 lentelė. Aptikimo riba kartu su PSC

Priskirta plazmos titro koncentracija (ŽIV-1 RNR kop./ml)	Tinkamus vertinti rezultatus turinčių pakartojimų skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koeficientas
2356,6	63	63	100,0 %
1970,4	63	63	100,0 %
2262,4	63	63	100,0 %
1177,4	63	63	100,0 %
984,5	63	62	98,4 %
1130,3	63	63	100,0 %
783,8	63	60	95,2 %
655,3	63	63	100,0 %
752,4	62	61	98,4 %
391,9	63	58	92,1 %
327,7	63	54	85,7 %
376,2	62	41	66,1 %
195,9	63	33	52,4 %
163,8	63	32	50,8 %
188,1	63	25	39,7 %
0	144	1	0,7 %
LoD pagal PROBIT esant 95 % atitikimo koef.	598,6 kop./ml; 95 % patikimumo intervalas: 526,4–707,0 kop./ml 997,7 TV/ml; 95 % patikimumo intervalas: 877,3–1178,3 TV/ml		

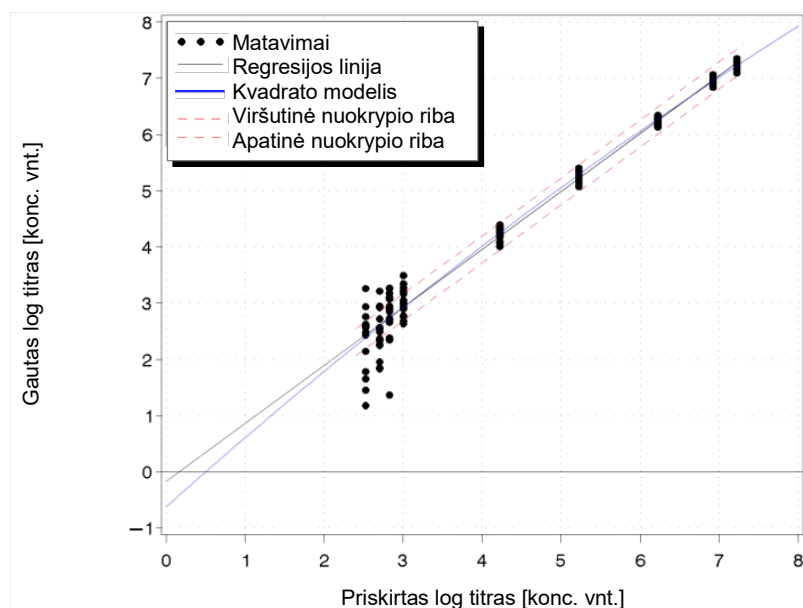
Linijinis intervalas taikant PSC

cobas® HIV-1 ir **PSC** derinio linijškumo tyrimas buvo atliktas naudojant skiedimo serijas, kurių kiekvieną sudarė 9 skydo nariai, apimančias dominuojančio ŽIV-1 M grupės B potipio linijinę skalę. Skydo nariai buvo paruošti iš ŽIV-1 RNR didelio titro teigiamo ląstelių kultūros supernatanto mėginio. Vertinimas atliktas vadovaujantis CLSI gairėmis EP06-A.²¹ Ištirti dviejų partijų **PSC** ir dviejų partijų reagentai naudojant dvi **cobas®** 4800 sistemas, dirbant vienam operatoriui. Su kiekvienu rinkinio mėginiu ir reagentų / **PSC** partija atlikta po 20 pakartotinių tyrimų.

Vienas mėginys iš rinkinio buvo nucentrifuguotas ir plazmai priskirtas titras taikant kalibratoriaus serijos metodą (CBM) tiriant su **cobas**® HIV-1 tyrimu pagal 3-įjį ŽIV-1 PSO standartą, ŽIV-1 grupė M, potipis B, skirtas paruošti aukšto ir žemo lygio kalibratoriams.

Atsižvelgiant į **PSC**, **cobas**® HIV-1 derinys yra linijinis nuo 599 k./ml iki $1,00E+07$ k./ml (nuo 998 TV/ml iki $1,67E+07$ TV/ml) ir rodo absoliutų nuokrypį nuo patikimesnio sujungimo ne linijinės regresijos, nesiekiančios $\pm 0,07 \log_{10}$ **PSC**, ribose (žr. 17 pav.). Linijinėje skalėje tyrimo tikslumas buvo su $\pm 0,04 \log_{10}$ nuokrypiu nuo linijinės regresijos.

17 pav. Aptikimo riba linijiniame intervale naudojant PSC



Tikslumas – laboratorijoje naudojant PSC

cobas® HIV-1 ir **PSC** derinio tikslumas buvo nustatytas išanalizavus mėginio, kuriame aiškiai buvo ŽIV-1 (ląstelių kultūros supernatanto mėginio su ŽIV-1 RNR), skiedinį neapdorotame kraujyje, kuriame ŽIV nebuvo. Buvo ištirti penki skiedimo lygiai atliekant 48 pakartojimus kiekvienam lygiui naudojant dviejų partijų **PSC** ir dviejų partijų **cobas**® HIV-1 tyrimo reagentus, du instrumentus, tyrimus per 12 dienų atliekant dviem operatoriams. Kiekvienas mėginys buvo tiriamas laikantis visų **PSC** darbo eigos ir **cobas**® HIV-1 tyrimo procedūrų, naudojant **cobas**® 4800 sistemas. Čia pateikiami tikslumo rezultatai atspindi visus tyrimo procedūros aspektus. Rezultatai pateikti 12 lentelėje.

cobas® HIV-1 ir **PSC** derinys parodė didelį dviejų **PSC** partijų ir reagentų, ištirtų koncentracijos diapazone nuo $1,50+03$ kop./ml iki $1,00E+07$ kop./ml, tikslumą.

12 lentelė. Kartu naudojamų cobas® HIV-1 ir PSC tikslumas laboratorijoje

Nominali koncentracija (kop./ml)	Vidutinis gautas log ₁₀ titras	Šaltinio medžiaga	PSC		
			1 partija	2 partija	Visos partijos
			SD	SD	Jungtinis SD
1,0E+07	6,98	Ląstelių kultūra	0,08	0,07	0,08
1,0E+06	5,92	Ląstelių kultūra	0,09	0,09	0,09
1,0E+05	4,88	Ląstelių kultūra	0,09	0,11	0,10
1,0E+04	3,97	Ląstelių kultūra	0,17	0,14	0,16
1,5E+03	3,19	Ląstelių kultūra	0,26	0,19	0,23

Visos sistemos sutrikimas naudojant PSC

cobas® HIV-1 visos sistemos kartu su **PSC** klaidų koeficientas buvo nustatytas atliekant 100 kraujo su mėginių, į kuriuos pridėta ŽIV-1 M grupės B potipio virusų, tyrimo pakartojimų. Šie mėginiai buvo tirti esant apytiksliai $3 \times \text{LoD}$ koncentracijai.

Šio tyrimo rezultatai patvirtino, kad visi pakartotiniai tyrimo mėginiai turėjo patikimus rezultatus ir buvo teigiami tiriamam ŽIV-1, taigi bendras visos sistemos sutrikimo koeficientas buvo 0,0 %. Dvišalis 95 % tikslumo patikimumo intervalas buvo 0,0 % apatinei ribai ir 3,6 % viršutinei ribai [0 %: 3,6 %].

cobas® HIV-1 kiekybinio tyrimo klinikinis efektyvumo įvertinimas

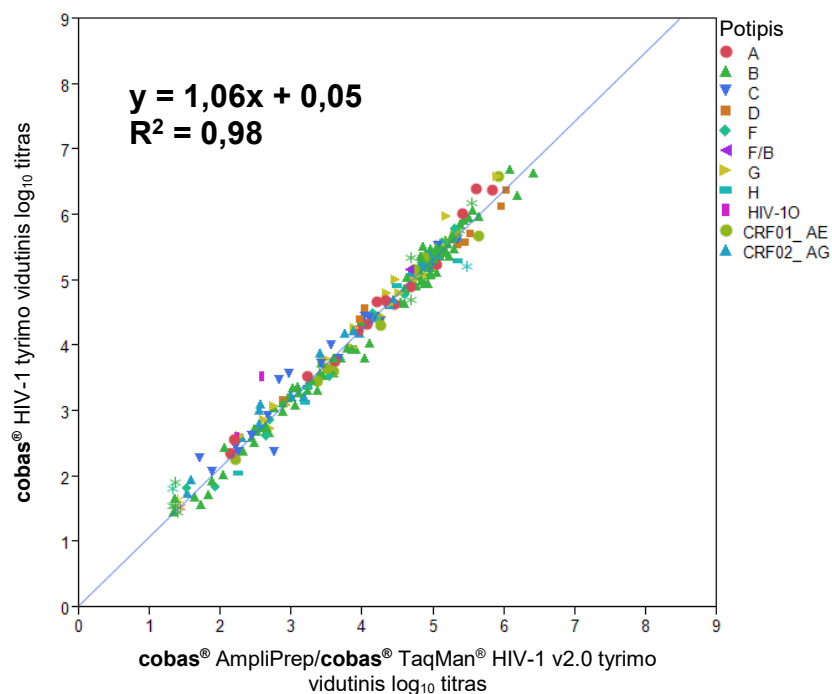
EDTA plazmos mėginiams taikoma metodų koreliacija

cobas® HIV-1 efektyvumo įvertinimas, palyginti su **COBAS® AmpliPrep / COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0** tyrimu

cobas® HIV-1 ir **COBAS® AmpliPrep / COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0** tyrimo (**TaqMan® HIV-1** tyrimas, v2.0) efektyvumas buvo lyginamas analizuojant 243 ŽIV-1 infekuotų pacientų EDTA plazmos mėginius. Mėginiai, turintys ŽIV-1 M (A–D, F–H, F/B, CRF01_AE, CRF02_AG) ir ŽIV-1 O, tiriami po du kartus išorinėje laboratorijoje. Demingo regresija buvo atlikta, atsižvelgiant į logaritmuojant transformuotus titrus.

Demingo regresijos rezultatai pateikti 18 pav. * simbolis paveiksluose reiškia vieną rezultato nustatymą. Spalva reiškia potipį.

18 pav. cobas® HIV-1 ir TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo EDTA plazmos mėginiuose regresijos analizė



EDTA plazmos mėginių specifiškumas

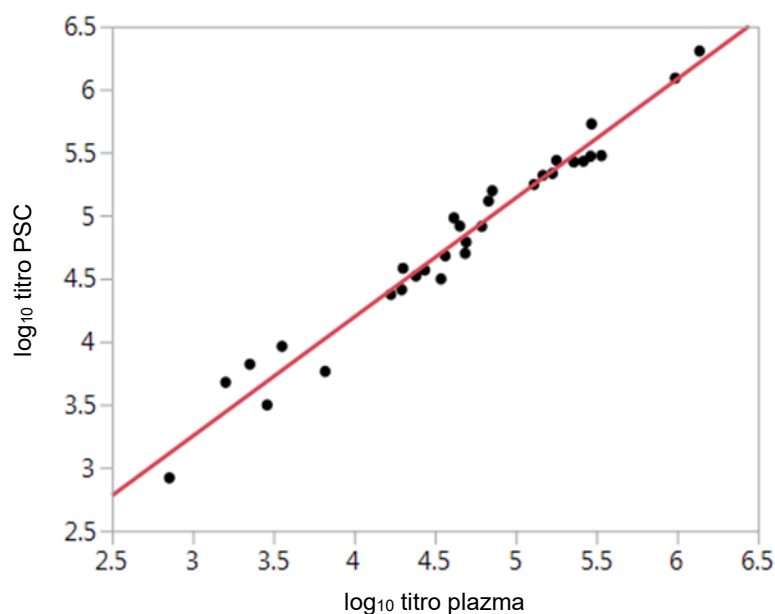
cobas® HIV-1 specifiškumas buvo nustatytas analizuojant atskirų donorų ŽIV neigiamos EDTA plazmos mėginius. Buvo ištirta šeši šimtai keturiolika atskirų EDTA plazmos mėginių, naudojant tris **cobas® HIV-1** reagentų partijas. Visi mėginiai buvo ŽIV-1 RNR neigiami. Tyrimo grupėje **cobas® HIV-1** specifiškumas buvo 100,0 % [95 % vienpusio patikimumo intervalo (Clopper Pearson) apatinė riba buvo 99,5 %].

PSC sausos plazmos lašo mėginių eksploatacinės savybės, palyginti su EDTA plazmos mėginiais

PSC sausos plazmos lašo mėginių eksploatacinės ypatybės buvo palygintos su centrifuguotos EDTA plazmos mėginių eksploatacinėmis ypatybėmis, ištyrus 31 mėginį, paimtą iš pacientų, užsikrėtusių ŽIV-1. Buvo tirta po vieną kiekvieno mėginio bandinį (**PSC** sausos plazmos lašas ir EDTA plazma). Titrai, neatitinkantys kiekybinės analizės skalės ribų, nebuvo įtraukti į analizę. Demingo regresija buvo atlikta, atsižvelgiant į logaritmuojant transformuotus titrus.

Demingo regresijos rezultatai pateikti 19 pav. ir 13 lentelėje.

19 pav. Demingo regresija



Tinkamumo santrauka	
Kvadratinė šaknis	0,97
Pakoreguota kvadratinė šaknis	0,97
Vidutinė kvadratinė paklaida	0,14
Atsako vidurkis	4,81
Stebėti rezultatai (arba svertinė suma)	31,00

13 lentelė. Statistinių duomenų santrauka

Matricos (plazmos tipo) lygiavertiškumas	Mėginių su tinkamu titru skaičius	Blando ir Altmano analizė		Demingo regresijos analizė		
		Vidutinis log ₁₀ skirtumas	95 % CI [apat./viršut.]	Nuolydis	Atkarpa	Kvadratinė šaknis
PSC lyginant skysta plazma	31	0,15	[0,10; 0,21]	0,94	0,42	0,97

cobas® HIV-1 tyrimo, skirto ŽIV-1 kokybiniam nustatymui sauso kraujo lašuose, santrauka ir aiškinimas

Kontekstas

ŽIV yra etiologinis įgyto imunodeficito sindromo (AIDS) agentas. Pasaulyje yra daugiau nei 35 mln. gyventojų, užsikrėtusių ²² ŽIV. Po serokonversijos infekuotų asmenų būklė pasiekia kliniškai stabilią, santykinai besimptomę fazę, kuri gali trukti kelerius ar daugiau metų. Be antiretrovirusinio gydymo, asmenys paprastai susergera AIDS, kuris pasireiškia CD4+ ląstelių skaičiaus mažėjimu imuninėje sistemoje, imlumu oportunistinėms infekcijoms ir pagaliau mirtimi.²²

HIV-1 kokybinio tyrimo pagrindimas

Istoriškai ŽIV tyrimai buvo grindžiami pacientų antikūnų reakcija į virusą. Nors šie antikūnai neveiksmingi kovojant su virusu, jų turi beveik visi lėtine infekcija sergantys pacientai.

Nukleorūgščių amplifikacijos testai gali diagnozuoti ŽIV infekciją per pirmuosius 18 gyvenimo mėnesių, kuomet kūdikio kraujyje dar yra motinos antikūnų, apsunkinančių serologinių testų interpretavimą. ŽIV-1 nustatymas sausame kraujo laše naudojant nukleorūgščių amplifikacijos technologijas, tokias kaip polimerazės grandininė reakcija (PGR), gali įrodyti esamą infekciją.

HIV-1 kokybinio tyrimo aiškinimas

cobas® HIV-1 galima naudoti kaip kokybinį nukleorūgščių tyrimą, atliekamą su **cobas®** 4800 sistema.

cobas® HIV-1 kokybinis tyrimas leidžia nustatyti ŽIV-1 nukleorūgštis infekuotų pacientų sauso kraujo laše (DBS). Aptikimui, neišskiriant grupių M, N ir O potipių, naudojami du zondai.

RNR-QS, pateikiama kartu su rinkiniu, veikia kaip vidinė kontrolė, skirta visam mėginio paruošimo ir PGR amplifikacijos procesui stebėti naudojant kokybinį DBS tyrimo metodą. Papildomai tyrime naudojamos dvi išorinės kontrolės: teigiama mažo titro kontrolė ir neigiama kontrolė (teigiama didelio titro kontrolė nereikalinga **cobas®** HIV-1 kokybiniam tyrimui).

Procedūros principai

cobas® HIV-1 kokybinis tyrimas pagrįstas visiškai automatizuotu mėginių paruošimu (nukleorūgščių išgavimu ir išgryninimu), po kurio atliekama PGR amplifikacija ir aptikimas. **cobas®** 4800 sistemą sudaro **cobas®** x 480 mėginio paruošimo instrumentas ir **cobas®** z 480 realiojo laiko PGR analizatorius. **cobas®** 4800 programinė įranga atlieka automatizuotą duomenų valdymą ir visų tyrimų rezultatus suskirsto kaip aptiktus, neaptiktus arba netinkamus. Rezultatus galima tiesiogiai peržiūrėti sistemos ekrane, eksportuoti arba išspausdinti kaip ataskaitą.

Nukleorūgštys iš pacientų mėginių, išorinių kontrolių ir RNR QS molekulių (kurios naudojamos kaip mėginio paruošimo ir amplifikacijos / aptikimo proceso kontrolė) išgaunamos vienu metu. Apibendrinant virusų nukleorūgštys išskiriamos į mėginį pridėjus proteinazės ir lizės reagento. Išlaisvintos nukleorūgštys prisijungia prie pridėtų magnetinių stiklo dalelių silicio dioksido paviršiaus. Vėlesniame etape plovimo reagentais pašalinamos neprisijungusios medžiagos ir nešvarumai, pvz., denatūruoti baltymai, ląstelių liekanos ir galimi PGR inhibitoriai, o nuo magnetinių stiklo dalelių aukštoje temperatūroje eliucijos buferiniu tirpalu nuplaunamos išgrynintos nukleorūgštys.

Atrankinė tiriamų nukleorūgščių amplifikacija iš mėginio gaunama naudojant konkretaus tiriamo viruso tiesioginius ir atvirkštinius pradmenis, kurie parenkami labai konservatyviuose ŽIV regionuose. ŽIV-1 gag genas ir ŽIV-1 LTR regionas (dvigubas taikinyš) amplifikuojami naudojant **cobas®** HIV-1. Atrankinė RNR QS amplifikacija (kuri naudojama DBS ir pristatoma kaip vidinė kontrolė) atliekama naudojant sekai būdingus tiesioginius ir atvirkštinius pradmenis, kurie parenkami taip, kad neturėtų homologijų su ŽIV genomu. Atvirkštinei transkripcijai ir PGR amplifikacijai naudojamas šilumai atsparios DNR polimerazės fermentas. Tiriamos ir RNR QS sekos amplifikuojamos vienu metu naudojant universalųjį PGR amplifikacijos protokolą su iš anksto apibrėžtais temperatūros etapais bei ciklų skaičiumi. Į pagrindinį mišinį įeina deoksiuridino trifosfatas (dUTP), o ne deoksitimidino trifosfatas (dTTP), kuris inkorporuojamas į iš naujo susintetintą DNR (amplifikacijos produktą).^{14–16} AmpErase fermentas, įdėtas į PGR mišinį pirmojo terminio ciklo metu, pašalina bet kokius užteršiančius ankstesnių PGR procesų amplifikacijos produktus. Tačiau bet kokie iš naujo susiformavę amplifikacijos produktai nepašalinami, nes AmpErase fermentas tampa neaktyvus aukštesnėje nei 55 °C temperatūroje.

cobas® HIV-1 pagrindiniame mišinyje yra du aptikimo zondai būdingi ŽIV-1 tiriamoms sekoms ir vienas – RNR QS. Zondai pažymėti taikiniui specifiskomis fluorescencinėmis signalinėmis dažomosiomis medžiagomis, leidžiančiomis vienu metu aptikti ŽIV-1 taikinius ir RNR QS dviejuose skirtinguose aptikimo kanaluose.^{17, 18} Prie tikslinės sekos neprisijungusių, nepažeistų zondu fluorescencinį signalą slopina slopinamasis dažiklis. Vykstant PGR amplifikacijai, zondams prisijungus prie specifinės viengrandės DNR sekos, DNR polimerazė, dėl savo 5'–3' egzonukleazinio aktyvumo zondus perkerpa, dėl ko atskiriami signaliniai ir slopinamieji dažikliai ir sugeneruojamas fluorescencinis signalas. Su kiekvienu PGR ciklu sukurama vis daugiau suskaidytų zondu ir stiprėja kaupiamasis signalinio dažiklio signalas. PGR produktai aptinkami ir atskiriami realiuoju laiku išmatuojant atpalaiduotų virusų taikinių ir RNR QS signalinių dažomųjų medžiagų fluorescenciją.

cobas® HIV-1 kokybiniame tyrime naudojamos medžiagos ir reagentai

Reagentai

Visi neatidaryti reagentai ir kontrolės turi būti laikomi, kaip rekomenduojama lentelėje Reagentų laikymo ir naudojimo reikalavimai.

Rinkinys	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® HIV-1 120 tyrimų (P/N: 08792992190)	MMX R1 (cobas® pagrindinio mišinio 1 reagentas) Mangano acetatas, kalio hidroksidas, < 0,1 % natrio azidas	10 × 1,75 ml	Nėra
	HIV-1 MMX R2 (cobas® HIV-1 pagrindinio mišinio 2 reagentas) Tricino buferis, kalio acetatas, 18 % dimetil-sulfoksidas, glicerolis, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01 % ŽIV pradmenys, < 0,01 % kiekybinio standarto tiesioginiai ir atvirkštiniai pradmenys, < 0,01 % fluorescencine žyme pažymėti oligonukleotidų zondai, specifiniai ŽIV ir kiekybiniam standartui, < 0,01 % oligonukleotidinis aptameras, < 0,01 % Z05D DNR polimerazė (mikrobinė), < 0,01 % fermentas AmpErase (uracil-N-glikozilazė) (mikrobinis), < 0,1 % natrio azidas	10 × 0,5 ml	Nėra
	RNA QS, naudojamas kaip vidinė kontrolė (IC) (cobas® RNR kiekybinis standartas) Tris buferis, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % ne ŽIV kilmės apsaugotos RNR konstruktas su pradmeniui ir zondui specifinės sekos regionais (neinfekcinė RNR MS2 bakteriofage), < 0,1 % natrio azidas	10 × 1,75 ml	Nėra

^a Produkto saugos žymėjimas atliekamas vadovaujantis ES GHS gairėmis.

Rinkinyvis	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit 10 rinkinių (P/N: 06979572190)	HBV/HCV/HIV-1 L(+)C, naudojamas kaip teigiama kontrolė (cobas® HBV/HCV/HIV-1 silpnai teigiama kontrolė) < 0,001 % sintetinė (apsaugota) ŽIV-1 M grupės RNR, įkapsuluota MS2 bakteriofago apvalkalo baltyme, < 0,001 % sintetinė (plazmidė) HBV DNR, įkapsuluota Lambda bakteriofago apvalkalo baltyme, < 0,001 % sintetinė (apsaugota) HCV RNR, įkapsuluota MS2 bakteriofago apvalkalo baltyme, įprasta žmogaus kraujo plazma, nereaktyvi pagal licencijuotus ŽIV-1/2 antikūnų, HCV antikūnų, HBsAg, HBc antikūnų tyrimus; ŽIV-1 RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR neaptinkama PGR metodais 0,1 % ProClin® 300 konservantas ^b	10 × 0,75 ml	  ATSARGIAI H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. P261: Stengtis neįkvėpti dulkių / dūmų / dujų / rūko / garų / aerozolio. P272: Užterštų darbo drabužių negalima išnešti iš darbo vietos. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P362 + P364: Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl apsivelkant. P501: Turinį / talpyklą išpilti (išmesti) patvirtintoje atliekų šalinimo įmonėje. 55965-84-9 Reakcijos masė: 5-chloro-2-metil-4-izotiazolin-3-onas [EB nr. 247-500-7] ir 2-metil-2H-izotiazol-3-onas [EB nr. 220-239-6] (3:1).
	HBV/HCV/HIV-1 H(+)C, nenaudojamas DBS (cobas® HBV/HCV/HIV-1 stipriai teigiama kontrolė) < 0,001 % sintetinė (apsaugota) ŽIV-1 M grupės RNR, įkapsuluota MS2 bakteriofago apvalkalo baltyme, < 0,001 % sintetinė (plazmidė) HBV DNR, įkapsuluota Lambda bakteriofago apvalkalo baltyme, < 0,001 % sintetinė (apsaugota) HCV RNR, įkapsuluota MS2 bakteriofago apvalkalo baltyme, įprasta žmogaus kraujo plazma, nereaktyvi pagal licencijuotus ŽIV-1/2 antikūnų, HCV antikūnų, HBsAg, HBc antikūnų tyrimus; ŽIV-1 RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR neaptinkama PGR metodais 0,1 % ProClin® 300 konservantas ^b	10 × 0,75 ml	  ATSARGIAI H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. P261: Stengtis neįkvėpti dulkių / dūmų / dujų / rūko / garų / aerozolio. P272: Užterštų darbo drabužių negalima išnešti iš darbo vietos. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P362 + P364: Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl apsivelkant. P501: Turinį / talpyklą išpilti (išmesti) patvirtintoje atliekų šalinimo įmonėje. 55965-84-9 Reakcijos masė: 5-chloro-2-metil-4-izotiazolin-3-onas [EB nr. 247-500-7] ir 2-metil-2H-izotiazol-3-onas [EB nr. 220-239-6] (3:1).

Rinkiny	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit 10 rinkinių (P/N: 06979572190)	(–) C (cobas® neigiama kontrolė) Įprasta žmogaus kraujo plazma, nereaktyvi pagal licencijuotus ŽIV-1/2 antikūnų, HCV antikūnų, HBsAg, HBc antikūnų tyrimus; ŽIV-1 RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR ir HBV DNR neaptinkama PGR metodais < 0,1 % ProClin® 300 konservantas ^b	10 × 0,75 ml	  ATSARGIAI H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. P261: Stengtis neįkvėpti dulkių / dūmų / dujų / rūko / garų / aerozolio. P272: Užterštų darbo drabužių negalima išnešti iš darbo vietos. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P362 + P364: Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl apsivelkant. P501: Turinį / talpyklą išpilti (išmesti) patvirtintoje atliekų šalinimo įmonėje. 55965-84-9 Reakcijos masė: 5-chloro-2-metil-4-izotiazolin-3-onas [EB nr. 247-500-7] ir 2-metil-2H-izotiazol-3-onas [EB nr. 220-239-6] (3:1).

^a Produkto saugos žymėjimas atliekamas vadovaujantis ES GHS gairėmis.

^b Pavojiinga medžiaga.

Rinkiny	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 240 tyrimų (P/N: 06979513190)	MGP 2 (cobas® 4800 MGP 2-as reagentas) Magnetinės stiklo dalelės, Tris buferinis tirpalas, 0,1 % metil-4 hidroksibenzoatas, < 0,1 % natrio azidas	10 × 8 ml	Nėra
	EB 2 (cobas® 4800 eliacijos 2 buferinis tirpalas) Tris buferinis tirpalas, 0,2 % metil-4 hidroksibenzoatas	10 × 17 ml	Nėra
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 960 tyrimų (P/N: 06979521190)	MGP 2 (cobas® 4800 MGP 2-as reagentas) Magnetinės stiklo dalelės, Tris buferinis tirpalas, 0,1 % metil-4 hidroksibenzoatas, < 0,1 % natrio azidas	10 × 16 ml	Nėra
	EB 2 (cobas® 4800 eliacijos 2 buferinis tirpalas) Tris buferinis tirpalas, 0,2 % metil-4 hidroksibenzoatas	10 × 17 ml	Nėra

Rinkinyys	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 tyrimų (P/N: 05235863190)	WB (cobas® 4800 sistemos plovimo buferis tirpalas) Natrio citrato dihidratas, 0,05 % N-metilizotiazolono HCl	10 × 55 ml	Nėra
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 tyrimų (P/N: 05235871190)	WB (cobas® 4800 sistemos plovimo buferis tirpalas) Natrio citrato dihidratas, 0,05 % N-metilizotiazolono HCl	10 × 200 ml	Nėra
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2 240 tyrimų (P/N: 06979556190)	SD 2 (cobas® 4800 sistemos 2 mėginio skiediklis) Tris buferinis tirpalas, 0,1 % metil-4 hidroksibenzoatas, < 0,1 % natrio azidas	10 × 8 ml	Nėra

^a Produkto saugos žymėjimas atliekamas vadovaujantis ES GHS gairėmis.

Rinkinyys	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 240 tyrimų (P/N: 06979530190)	P 2 cobas® 4800 proteazė 2 Tris buferis, < 0,05 % EDTA, kalcio chloridas, kalcio acetatas, 8 % (masė / tūris) proteinazė ^b	10 × 1,0 ml	 PAVOJINGA H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. H334: Įkvėpus gali sukelti alerginę reakciją, astmos simptomus arba apsunkinti kvėpavimą. P261: Stengtis neįkvėpti garų arba aerozolio. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P284: Naudoti kvėpavimo takų apsaugos priemones. P304 + P340: ĮKVĖPUS: išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P342 + P311: Jeigu pasireiškia respiraciniai simptomai: skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. 39450-01-6 Proteinazė, <i>Tritirachium album</i> serinas

Rinkinys	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 240 tyrimų (P/N: 06979530190)	LYS 2 (cobas® 4800 lizės buferinis tirpalas 2) 43 % (masė / masė) guanidino tiocianatas ^b , 5 % (masė / tūris) polidokanolis ^b , 2 % (masė / tūris) ditioneitolis ^b , natrio citrato dihidratas	10 × 27 ml	 PAVOJINGA H302: Kenksminga prarijus. H314: Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. H411: Toksiška vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus. EUH032: Kontaktuojama su rūgštimis išskiria labai toksiškas dujas. EUH071: Ėsdina kvėpavimo takus. P273: Saugoti, kad nepatektų į aplinką. P280: Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones / naudoti klausos apsaugos priemones. P303 + P361 + P353: PATEKUS ANT ODOS (arba plaukų): nusivilkite visus užterštus drabužius. Nuplaukite odą vandeniu. P304 + P340 + P310: ĮKVĖPUS: išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. P305 + P351 + P338 + P310: PATEKUS Į AKIS: kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. P391: Surinkti išteklėjusią medžiagą. 593-84-0 Guanidino tiocianatas 9002-92-0 Polidokanolis 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diolis
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 960 tyrimų (P/N: 06979548190)	P 2 cobas® 4800 proteazė 2 Tris buferis, < 0,05 % EDTA, kalcio-chloridas, kalcio acetatas, 8 % (masė / tūris) proteinazė ^b	10 × 1,0 ml	 PAVOJINGA H317: Gali sukelti alerginę odos reakciją. H334: Įkvėpus gali sukelti alerginę reakciją, astmos simptomus arba apsunkinti kvėpavimą. P261: Stengtis neįkvėpti garų arba aerozolio. P280: Mūvėti apsaugines pirštines. P284: Naudoti kvėpavimo takų apsaugos priemones. P304 + P340: ĮKVĖPUS: išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. P333 + P313: Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. P342 + P311: Jeigu pasireiškia respiraciniai simptomai: skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. 39450-01-6 Proteinazė, <i>Tritirachium album</i> serinas

Rinkinys	Komponentai ir reagentų sudėtinės medžiagos	Kiekis rinkinyje	Saugos simbolis ir įspėjimas ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 960 tyrimų (P/N: 06979548190)	LYS 2 (cobas® 4800 lizės buferinis tirpalas 2) 43 % (masė / masė) guanidino tiocianatas ^b , 5 % (masė / tūris) polidokanolis ^b , 2 % (masė / tūris) diťiotreitolis ^b , natrio citrato dihidratas	10 × 84 ml	 PAVOJINGA H302: Kenksminga prarijus. H314: Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. H411: Toksiška vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus. EUH032: Kontaktuojama su rūgštimis išskiria labai toksiškas dujas. EUH071: Ėsdina kvėpavimo takus. P273: Saugoti, kad nepatektų į aplinką. P280: Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones / naudoti klausos apsaugos priemones. P303 + P361 + P353: PATEKUS ANT ODOS (arba plaukų): nusivirkite visus užterštus drabužius. Nuplaukite odą vandeniu. P304 + P340 + P310: ĮKVĖPUS: išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. P305 + P351 + P338 + P310: PATEKUS Į AKIS: kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. P391: Surinkti ištekėjusią medžiagą. 593-84-0 Guanidino tiocianatas 9002-92-0 Polidokanolis 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diolis

^a Produkto saugos žymėjimas atliekamas vadovaujantis ES GHS gairėmis.

^b Pavojinga medžiaga.

cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent

Pastaba. Šis reagentas yra pasirinktinis ir turėtų būti naudojamas tik su išdžiovinto kraujo lašo (angl. DBS) mėginiais.

cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (P/N 08064695190)	SPER (cobas® mėginio išankstinio išskyrimo reagentas) 28 % (masė / masė) guanidino tiocianatas^b, 6 % (masė / tūris) polidokanolis^b, 1 % (masė / tūris) ditiotreitolis, natrio citrato dihidratas	15 × 40 ml	 PAVOJINGA H302: Kenksminga prarijus. H314: Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. H412: Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus. EUH032: Kontaktuojama su rūgštimis išskiria labai toksiškas dujas. P273: Saugoti, kad nepatektų į aplinką. P280: Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones. P301 + P330 + P331: PRARIJUS: išskalauti burną. NESKATINTI vėmimo. P303 + P361 + P353: PATEKUS ANT ODOS (arba plaukų): nusivilkite visus užterštus drabužius. Nuplaukite odą vandeniu. P304 + P340 + P312: ĮKVĖPUS: išnešti nukentėjusįjį į gryną orą; jam būtina patogi padėtis, leidžianti laisvai kvėpuoti. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. P305 + P351 + P338 + P310: PATEKUS Į AKIS: kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. Nedelsiant skambinti į APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ / kreiptis į gydytoją. 593-84-0 Guanidino tiocianatas 9002-92-0 Polidokanolis
--	--	-------------------	--

^a Produkto saugos žymėjimas atliekamas vadovaujantis ES GHS gairėmis.

^b Pavojinga medžiaga.

Reagentų laikymo ir naudojimo reikalavimai

Reagentai	Laikymo temperatūra	Laikymo laikas
cobas® HIV-1	2–8 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	2–8 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2–8 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	15–25 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2	2–8 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.
cobas® 4800 System Lysis Kit 2	2–8 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent	2–8 °C	Lieka stabilus iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos.

Neužšaldykite reagentų.

Atidarytas cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent yra stabilus 30 dienų laikant 2–8 °C temperatūroje, įskaitant 13 kumuliacinių valandų 30 °C temperatūroje, arba iki tinkamumo termino pabaigos; taikoma ankstesnė data.

Papildomos reikalingos medžiagos

Medžiagos	P/N
cobas® 4800 sistemos išskyrimo (gilių šulinėlių) plokštelė, 2,0 ml	06884008001
cobas® 4800 sistemos AD (mikrošulinėlių) plokštelė, 0,3 ml	05232724001
Sandarinio plėvelės uždėjimo priemonė	04900383001
CORE antgaliai, 1 000 µl, dėklas su 96 antgaliais	04639642001
200 ml reagentų rezervuaras	05232759001
50 ml reagentų rezervuaras	05232732001
24 vietų laikiklis	04639502001
32 vietų laikiklis	04639529001
Kietųjų atliekų maišas	05530873001 (mažas) arba 04691989001 (didelis)
Hamilton STAR plastikinis nuleistuvus	04639669001
Laboratorinės pirštinės be pudros	Tinka bet kokios vienkartinės pirštinės be pudros.
Sūkurinis maišytuvas (vienam mėgintuvėliui)	Tinka bet koks sūkurinis maišytuvas.
Centrifuga, turinti svyruojančių laikiklių rotorių, min. RCF 1500	Tinka bet kokia atitinkama centrifuga.
Sterilios ar vienkartinės chirurginės žnyplės arba pincetas ^a	Tinka bet koks pincetas.
Sauso kraujo lašo kortelė	Whatman 903® filtro kortelė, Munktell mėginių surinkimo kortelė TFN arba ekvivalentiško modelio (12–13 mm skersmens lašas)
Mėginio maišelis (plastikinis skaidrus, pakartotinai sandariai užsegamas) ir silicio dioksido sausiklių paketėliai (iki ≥ 0,5 gramų)	Nėra
Pipetė (pvz., Multistepper pipetė)	Nėra

Medžiagos	P/N
Thermomixer	pvz., Eppendorf Thermomixer® R 5355 arba C, arba ekvivalentiško modelio, su termobloku, skirtu 24 šaldymo mėgintuvėliams
Mėgintuvėliai, 5 ml, vidinio sriegio, 12,5 mm skersmens, polipropileno su kamšteliais	(pvz., Greiner Bio-one Cryo.s™)

^a Siekdami apsaugoti nuo kryžminio užteršimo, kiekvienam pacientui naudokite tik vieną porą chirurginių žnyplių! Rekomenduojama naudoti metalines chirurgines žnyples, kurios viena kartą panaudojus apdorojamos autoklave, ir vienkartinį pincetą.

Norėdami gauti daugiau informacijos apie atskirai parduodamas medžiagas, kreipkitės į vietinį Roche atstovą.

cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo supaprastintų terminų žodynėlis

Naudojimo instrukcijų turinyje pateikiami tokie supaprastinti terminai, nurodantys kai kurias šiame skyriuje išvardytas medžiagas ir reagentus.

Supaprastintas terminas	Medžiaga / reagentas
(-)C	cobas® neigiama kontrolė
Amplifikacijos / aptikimo rinkinys	cobas® HIV-1
Kontrolinis rinkinys	cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit
DBS	Sauso kraujo lašas
Gilių šulinėlių plokštelė	cobas® 4800 sistemos išskyrimo (gilių šulinėlių) plokštelė, 2,0 ml
EB 2	cobas® 4800 eliacijos 2 buferinis tirpalas
HBV / HCV / HIV-1 kontrolinis rinkinys	cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit
H(+)C	cobas® HBV/HCV/HIV-1 stipriai teigiama kontrolė
Stipriai teigiamas bandinys	cobas® HBV/HCV/HIV-1 stipriai teigiama kontrolė
L(+)C	cobas® HBV/HCV/HIV-1 silpnai teigiama kontrolė
Silpnai teigiamas bandinys	cobas® HBV/HCV/HIV-1 silpnai teigiama kontrolė
LYS 2	cobas® 4800 lizės buferinis tirpalas 2
Mikrošulinėlių plokštelė	cobas® 4800 sistemos AD (mikrošulinėlių) plokštelė, 0,3 ml
MGP 2	cobas® 4800 MGP 2 reagentas
MMX R1	cobas® pagrindinio mišinio 1 reagentas
MMX R2	cobas® HIV-1 pagrindinio mišinio 2 reagentas
Neigiama kontrolė	cobas® neigiama kontrolė
P 2	cobas® 4800 proteazė 2
PSC	cobas® plazmos atskyrimo kortelė
QS (pristatomas kaip IC)	cobas® RNR kiekybinis standartas
SD 2	cobas® 4800 System Specimen Diluent 2
SPER	cobas® mėginio išankstinio išskyrimo reagentas
WB	cobas® 4800 sistemos plovimo buferinis tirpalas

cobas® HIV-1 kokybiniam tyrimui būtini, bet nepateikiami instrumentai ir programinė įranga

Būtini instrumentai ir programinė įranga, nepateikiami
cobas® 4800 System cobas® x 480 Instrumentas cobas® z 480 Analizatorius Valdymo įtaisas
cobas® 4800 sistemos programinės įrangos (pagrindinė) 2.2.0 ar naujesnė versija
cobas® 4800 sistemos cobas® HIV-1-qual-DBS AP 1.1.0 arba naujesnė versija

Pastaba: kreipkitės į vietinį Roche atstovą dėl išsamaus užsakymo sąrašo, kuriame nurodyti instrumentuose tinkami naudoti mėginių dėklai, antgalių dėklai, reagentų dėklai ir dėklų laikikliai.

cobas® HIV-1 kokybiniam tyrimui tinkami mėgintuvėliai

Tinkami šie mėgintuvėliai:

Antriniai mėgintuvėliai, skirti DBS mėginiams

Nominalus skersmuo (mm)	Įkeliamo SPER tūris (400 µl apdorojimo tūris)
12,5	700 µl

Užsakymo informacijos apie konkretų mėginio mėgintuvėlį kreipkitės į vietinį Roche atstovą. Mėgintuvėlius, skirtus DBS mėginiams, galima sudėti tik 32 vietų mėginių laikikliu.

cobas® HIV-1 kokybiniam tyrimui taikomos atsargumo priemonės ir naudojimo reikalavimai

Perspėjimai ir atsargumo priemonės

Kaip ir bet kuriam tyrimui, šiam tyrimui tinkamai atlikti reikalinga gera laboratorinė praktika. Dėl šio tyrimo didelio analitinio jautrumo reikia imtis atsargumo priemonių, kad nebūtų užteršti reagentai, mėginiai ir amplifikacijos mišiniai.

- Skirta tik *in vitro* diagnostikai.
- Su visais paciento mėginiais reikia elgtis kaip su užkrečiamais, taikant gerąsias laboratorines procedūras, aprašytas dokumente Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories ir CLSI dokumente M29-A4.^{19, 20} Šią procedūrą turi atlikti tik su biologiškai pavojingomis medžiagomis mokantis elgtis ir **cobas® HIV-1-qual-DBS** ir **cobas® 4800** sistema mokantis naudotis personalas.
- Visas iš žmogaus išskirtas medžiagas reikia laikyti potencialiai užkrečiamomis, todėl reikia taikyti universalias atsargumo priemones.
- **cobas® HBV/HCV/HIV-1** kontrolių rinkinyje yra iš žmogaus kraujo išskirtos plazmos. Pradinė medžiaga buvo ištirta naudojant patvirtintą antikūnų tyrimą ir nustatyta, kad ji nereaguoja į HCV antikūnus, ŽIV-1/2 antikūnus, HBsAg ir HBc antikūnus. Ištyrus pagal PGR metodus, nebuvo rasta aptinkamų ŽIV-1 RNR, ŽIV-2 RNR, HCV RNR arba HBV DNR. Nėra žinomų tyrimo metodų, galinčių visiškai užtikrinti, kad produktai, išskirti iš žmogaus kraujo, neperduos infekcijos.
- Saugokite MGP nuo magnetinių laukų šaltinių poveikio.
- **Neužšaldykite pirminiuose mėgintuvėliuose laikomų viso kraujo ar kitų mėginių.**

- **cobas®** Specimen Pre-Extraction Reagent yra jautrus šviesai ir gabenamas nuo šviesos apsaugančiuose buteliukuose.
- Norėdami užtikrinti didžiausią tyrimo efektyvumą, naudokite tik pateikiamus arba nurodytus reikalingus reikmenis.
- Saugos duomenų lapus (SDS) galite gauti iš vietinio Roche atstovo.
- Kad tyrimas būtų atliktas tinkamai, kruopščiai atlikite procedūras ir laikykitės pateiktų rekomendacijų. Bet koks nukrypimas nuo procedūrų ir rekomendacijų gali turėti įtakos optimaliam tyrimo atlikimui.
- Jei naudojant ir apdorojant mėginius nebus imtasi apsaugos priemonių dėl mėginių kryžminio užteršimo, galima gauti klaidingai teigiamus rezultatus.
- Papildomų įspėjimų, atsargumo priemonių ir procedūrų, mažinančių **cobas®** x 480 instrumento arba **cobas®** z 480 analizatoriaus užteršimo riziką, ieškokite **cobas®** 4800 sistemos vartotojo vadove. Jei įtariate užteršimą, išvalykite ir atlikite savaitinius priežiūros darbus, kaip aprašyta atitinkamame **cobas®** 4800 sistemos vartotojo vadove.
- Jeigu naudojant šį tyrimą pasitaikytų rimtų incidentų, praneškite apie juos vietinei kompetentingai įstaigai ir gamintojui.

Pastaba: konkrečias instrukcijas žr. „Mėginių rinkimas, transportavimas ir laikymas“.

Gera laboratorinė praktika

- Nepipetuokite burna.
- Nevalgykite, negerkite ir nerūkykite laboratorijos darbo vietose.
- Baigę dirbti su mėginiais bei rinkinio reagentais ir nusimovę laboratorines pirštines, kruopščiai nusiplaukite rankas.
- Dirbdami su reagentais, užsidėkite akinius, apsirenkite specialiais laboratoriniais drabužiais ir mūvėkite vienkartinės laboratorines pirštines. Stenkitės, kad šių medžiagų nepatektų ant odos, į akis ar ant gleivinių. Jei medžiagų vis dėlto pateko, nedelsdami nuplaukite dideliu vandens kiekiu. Jei nesiimsite veiksmų, gali atsirasti nudegimų. Išpylę kurį nors reagentą, prieš išvalydami vietą sausu audiniu, pirmiausia užpilkite ant jos vandens.
- Švariai nuvalykite ir dezinfekuokite visus laboratorijos darbo vietų paviršius, naudodami šviežiai paruoštą 0,5 % natrio hipochlorito tirpalą, sumaišytą su distiliuotu ar dejonizuotu vandeniu (buityje naudojamą baliklį atskiedus santykiu 1:10). Tada nušluostykite paviršių 70 % etanolio.
- Palaikykite laboratorijoje nuolatinę temperatūrą, atitinkančią sistemos aplinkos reikalavimus, nurodytus **cobas®** 4800 sistemos vartotojo vadove.

Reagentų naudojimas

- Visus reagentus, kontroles ir mėginius naudokite laikydamiesi geros laboratorinės praktikos, kad išvengtumėte mėginių ar kontrolių pernašos.
- Prieš naudodami vizualiai patikrinkite visus reagentų buteliukus, kad įsitikintumėte, jog nėra išsiliejimo požymių. Jei pastebėjote kokių nors skysčio išsiliejimo žymių, tos medžiagos tyrimams nenaudokite.
- **cobas®** 4800 lizės 2 buferinio tirpalo ir **cobas®** mėginio išankstinio išskyrimo reagento sudėtyje yra potencialiai pavojingos medžiagos guanidino tiocianato. Stenkitės, kad šių reagentų nepatektų ant odos, į akis ar ant gleivinių. Jei medžiagų vis dėlto pateko, nedelsdami nuplaukite dideliu vandens kiekiu, nes to nepadarius gali atsirasti nudegimų.
- **cobas®** HIV-1, **cobas®** 4800 mėginių paruošimo rinkinio 2 ir **cobas®** 4800 sistemos mėginio 2 skiediklio sudėtyje yra konservanto natrio azido. Stenkitės, kad šių reagentų nepatektų ant odos, į akis ar ant

gleivinių. Jei medžiagų vis dėlto pateko, nedelsdami nuplaukite dideliu vandens kiekiu, nes to nepadarius gali atsirasti nudegimų. Išpylę kurį nors reagentą, prieš išvalydami vietą sausu audiniu, pirmiausia užpilkite ant jos vandens.

- Saugokitės, kad **cobas®** 4800 lizės 2 buferinis tirpalas arba **cobas®** mėginio išankstinio išskyrimo reagentas, kuriame yra guanidino tiocianato, neturėtų sąlyčio su natrio hipochlorito (baliklio) tirpalu. Toks mišinys gali išskirti labai nuodingas dujas.

Užteršimas

- Mūvėkite laboratorines pirštines ir jas keiskite tarp mėginių ir **cobas®** HIV-1 reagentų apdorojimų, kad išvengtumėte užkrėtimo. Dirbdami su mėginiais ir kontrolėmis nesilieskite prie jų nešvariomis laboratorinėmis pirštinėmis. Dirbdami su mėginiais ir reagentų rinkiniais, mūvėkite laboratorines pirštines, apsirenkite laboratoriniais drabužiais ir užsidėkite akių apsaugas.
- Neužterškite reagentų mikrobais ir ribonukleazėmis.
- Jei ruošiant mėginius nebus užtikrinta, kad mėginiai neužterš vieni kitų, galima gauti klaidingai teigiamus rezultatus.

Sąžiningumo principai

- Nenaudokite rinkinių, jei baigėsi jų galiojimo laikas.
- Nepilkite kelių reagentų į tą pačią talpą.
- Nenaudokite vienkartinių priemonių, jei baigėsi jų galiojimo laikas.
- Visos vienkartinės priemonės skirtos naudoti tik vieną kartą. Nenaudokite pakartotinai.
- Visa įranga turi būti naudojama pagal gamintojo instrukcijas.

Atliekų šalinimas

- **cobas®** HIV-1, **cobas®** 4800 mėginių paruošimo 2 rinkinio ir **cobas®** 4800 sistemos mėginio 2 skiediklio sudėtyje yra konservanto natrio azido (žr. **Perspėjimai ir atsargumo priemonės**). Natrio azidas gali reaguoti su vandentiekio švino ir vario įranga ir sudaryti labai sprogus metalo azidų junginius. Į laboratorijoje esančias kriaukles išpildami tirpalus, kuriuose yra natrio azido, paleiskite stiprią šalto vandens srovę, kad nesusidarytų azidų sancaupų.
- Nepanaudotų reagentų ir jų atliekų šalinimas turi būti atliekamas atsižvelgiant į šalies, federalinius, valstijos ir vietinius reikalavimus.

Pastaba: informaciją apie skystų atliekų šalinimą žr. **cobas® 4800 sistemos vartotojo vadove.**

Išliejimas ir valymas

- **cobas®** 4800 lizės 2 buferinio tirpalo ir **cobas®** mėginio išankstinio išskyrimo reagento sudėtyje yra guanidino tiocianato. Išlietą guanidino tiocianato turintį skystį valykite tinkamu laboratoriniu valomuoju tirpalu ir vandeniu. Neleiskite medžiagai susiliesti su dezinfekantais, kurių sudėtyje yra natrio hipochlorito, pvz., balikliu. Toks mišinys gali išskirti labai nuodingas dujas.
- Jeigu iš žmogaus išskirta medžiaga išsipila, nedelsdami dezinfekuokite šviežiai paruoštu 0,5 % natrio hipochlorito tirpalu, sumaišytu su distiliuotu ar dejonizuotu vandeniu (buityje naudojamą baliklį atskiedus santykiu 1:10), arba vadovaukitės atitinkamomis vietinėmis procedūromis.
- Išsiliejus **cobas®** mėginio išankstinio išskyrimo reagentą (kuriame yra guanidino tiocianato) ištirpintiems sauso kraujo lašo mėginiams, neleiskite medžiagai susiliesti su dezinfekantais, kurių sudėtyje yra natrio

hipochlorito, pvz., balikliu. Toks mišinys gali išskirti labai nuodingas dujas. PIRMIAUSIA paveiktą vietą nuvalykite laboratoriniu valomuoju tirpalu ir vandeniu, tada 0,5 % natrio hipochlorito tirpalu.

- Jei skystis išliejamas ant **cobas®** x 480 instrumento, nuvalykite vykdydami atitinkamame **cobas®** 4800 sistemos vartotojo vadove pateiktus nurodymus.
- **cobas®** x 480 instrumentui arba **cobas®** z 480 analizatoriui valyti nenaudokite natrio hipochlorito tirpalo (baliklio). **cobas®** x 480 instrumentą arba **cobas®** z 480 analizatorių valykite laikydamiesi procedūrų, aprašytų atitinkamame **cobas®** 4800 sistemos vartotojo vadove.

Mėginių rinkimas, transportavimas ir laikymas

Pastaba: visus mėginius apdorokite taip, lyg jie galėtų perduoti infekciją.

Visus mėginius laikykite nurodytoje temperatūroje.

Aukšta temperatūra turi įtakos mėginių stabilumui.

Sauso kraujo lašai

- Patikrinkite DBS kortelės galiojimo laiką ir atlikite tyrimą tik tada, jei nepasibaigė kortelės galiojimo laikas.
- DBS mėginius surinkite taikydami atitinkamas kliniškes procedūras.
- DBS kortelėje ant kiekvieno apibrėžto apskritimo rekomenduojama užlašinti mažiausiai 70 µl kapiliarinio kraujo.
- Įsitikinkite, kad ABI popieriaus pusės yra įmirkusios ir visiškai užpildo apibrėžtą apskritimą.
- Uždėkite DBS kortelę ant džiovinimo dėklo (po vieną kortelę viename lygmenyje) arba ant plokščio paviršiaus ir leiskite DBS kortelei džiuoti kambario temperatūroje (18–25 °C) mažiausiai 4 valandas (ilgiausiai – per naktį), saugodami ją nuo tiesioginių saulės spindulių.
- Jei norite išsamesnės informacijos, žr. naudojamų filtro kortelių pakuotės įdėklą.
- Rekomenduojama paruošti bent 3 popierinius diskus vienam paciento mėginiui.
- Laikykite DBS atskiruose hermetiškai uždaruose maišeliuose su kiekviename maišelyje esančiu sausiklio paketėliu ir saugokite nuo saulės spindulių.
- DBS galima gabenti arba laikyti 15–30 °C temperatūroje ne ilgiau kaip 3 mėnesius.
- Jei mėginiai bus gabenami, juos reikia supakuoti ir sužymėti pagal taikomas šalies ir (arba) tarptautines mėginių ir etiologinių medžiagų transportavimo taisykles.

cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo naudojimo instrukcijos

Sauso kraujo lašo (DBS) mėginio paruošimas ir preanalitinė procedūra

- Atidarykite transportavimo maišelį ir tęskite su kiekvienu mėginio maišeliu tik jei tenkinamos šios sąlygos:
 - Laboratorijos užklauso forma yra visiškai užpildyta.
 - Laboratorijos užklauso formos ir DBS kortelės brūkšniniai kodai sutampa.
 - Mėginio maišelis yra sandariai uždarytas, jame yra DBS kortelė su sausiklio paketėliu.
 - Nurodyta mėginio paėmimo data; mėginys paimtas dar nepasibaigus DBS kortelės galiojimo laikui.
- Prieš naudodami leiskite **cobas®** Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER) sušilti iki kambario temperatūros.

Pastaba: įsitikinkite, kad naudojate tik SPER, o ne kito tipo išankstinio išskyrimo reagentą (pvz., SPEX).

- Išpjaukite vieną DBS iš DBS kortelės.
- Perkelkite lašą į mėgintuvėlį (5 ml, vidinio sriegio, 12,5 mm skersmens, polipropileno [t. y. Cryo.s™]), kiekvienam pacientui naudodami naują sterilių arba vienkartinių chirurginių žnyplių arba pincetų komplektą.
- Įsitikinkite, kad DBS yra mėgintuvėlio apačioje, kaip parodyta 20 pav..
- Pipete 700 µl SPER sulašinkite į mėgintuvėlį su DBS ir užkimškite mėgintuvėlį.

Pastaba: kad tyrimas būtų atliktas tinkamai, svarbu pipete sulašinti 700 µl SPER (t. y. ne daugiau ir ne mažiau kaip 700 µl).

- Įsitikinkite, kad SPER visiškai uždengia DBS.
- Uždengtus mėgintuvėlius sudėkite į iš anksto pašildytą Thermomixer (pvz., Eppendorf Thermomixer® R 5355 arba C, arba ekvivalentiško modelio) su termobloku, skirtu 24 šaldymo mėgintuvėliams, inkubuokite 10 minučių 56 °C temperatūroje ir centrifuguodami 1 000 apm greičiu iš sauso neapdoroto kraujo išskirkite virusą.
- Atidenkite mėgintuvėlius ir įsitikinkite, kad DBS yra prigludęs prie mėgintuvėlio sienelės (21 pav.), kad pipetė neužsikimštų.
- Naudodami sterilią pipetę, nuo skysčio paviršiaus pašalinkite galimą skysčio plėvelę (22 pav.) (kad būtų išvengta aukšto skysčio lygmens aptikimo).
- Mėgintuvėlius įkelkite į cobas® 4800 sistemas.

20 pav. DBS mėgintuvėlyje



Tinka

21 pav. DBS vieta



Tinka



Tinka



Potenciali pipetės
užsikimšimo rizika

22 pav. Skysčio plėvelė



Galima aukšto skysčio lygmens
aptikimo rizika

cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo atlikimas

cobas® HIV-1 kokybiniam tyrimui naudojamas mėginio tipas ir apdorojimo tūris

cobas® HIV-1 kokybiniam tyrimui tinka vienintelis mėginio tipas: DBS. Apdorojimo tūris yra toks:

Tinkamas mėginio tipas ir apdorojimo tūris

Mėginio tipas	Apdorojimo tūris [µL]
DBS	400

cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo apimtis

Bendri mėginių paruošimo reagentai (cobas® 4800 sistemos mėginių paruošimo rinkinys 2, cobas® 4800 sistemos lizės rinkinys 2 ir cobas® 4800 sistemos plovimo buferinio tirpalo rinkinys) siūlomi dviejų dydžių rinkiniuose, kurių pakanka 10 tyrimų po 24 arba 96 mėginių, įskaitant kontroles ir mėginius. cobas® HIV-1 siūlomas vieno dydžio rinkinys, kurio pakanka iki 120 (10×12) mėginių, įskaitant kontroles ir mėginius. Kiekvieno tyrimo metu turi būti naudojama viena HBV / HCV / HIV-1 silpnai teigiama kontrolė ir viena neigiama kontrolė (HBV / HCV / HIV-1 stipriai teigiama kontrolė nereikalinga DBS). Vieno tyrimo vykdymo metu daugiausiai galima ištirti 94 mėginius ir 2 kontroles.

Pastaba: siekiant optimaliai naudoti reagentus, bendruosius mėginių paruošimo reagentus galima naudoti tiriant 1-22 mėginį (10×24 dydžio tyrimo rinkinyje) arba tiriant 1-94 mėginius (10×96 dydžio tyrimo rinkinyje). Kartu naudoti skirtingų dydžių cobas® 4800 sistemos plovimo buferinio tirpalo rinkinio, cobas® 4800 sistemos mėginių paruošimo rinkinio 2 ir cobas® 4800 sistemos lizės rinkinio 2 negalima. Pavyzdžiui, jeigu tyrimo pradžioje nuskaitomas 96 tyrimų plovimo buferinio tirpalo reagento butelis, būtina naudoti 96 tyrimų rinkinio dydžio reagentus iš kitų mėginio paruošimo reagentų rinkinių.

cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo procedūros

cobas® HIV-1 kokybinis tyrimas vykdomas naudojant visą cobas® 4800 programinės įrangos darbo eigą. Ją sudaro mėginių paruošimas cobas® x 480 instrumentu ir tolimesnė amplifikacija / aptikimas naudojant cobas® z 480 analizatorių.

Norint pradėti cobas® HIV-1 kokybinį tyrimą, reikia pasirinkti tyrimo tipą HIV-1-qual-DBS.

HIV-1 kokybinį tyrimą galima atlikti atskirai kaip vieną partiją arba mišriuoju būdu, sujungiant kelis skirtingus tyrimus, kuriuose naudojamas toks pat automatinis mėginio paruošimo procesas bei amplifikacijos ir aptikimo PGR profilis. Pasirenkant tyrimą, programinė įranga rodys su ŽIV-1 kokybiniu tyrimu (HIV-1-qual-DBS) suderinamus tyrimus, kuriuos galima atlikti sujungiant.

ŽIV-1 kokybinio tyrimo procedūrų apžvalgos gali būti tokios:

- HIV-1 kokybinis tyrimas, atliekamas kaip viena partija, parodytas 23 pav.
- HIV-1 kokybinis tyrimas, atliekamas kartu su HIV-1 kiekybiniu tyrimu, parodytas 14 pav.
- Bendra mišrių serijų apžvalga, įskaitant ŽIV-1 kokybinį tyrimą su bet kuriuo taikomu tyrimu, pateikiama cobas® 4800 sistemos naudotojų pagalbos puslapyje.

23 pav. HIV-1 kokybinio tyrimo (HIV-1-qual-DBS), atliekamo kaip viena partija, apžvalga – reagentai ir darbo eiga

S	
Bendrųjų mėginių paruošimas	
- cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 - MGP 2 - EB 2 - cobas® 4800 System Lysis Kit 2 - P 2 - LYS 2 - cobas® 4800 System Wash Buffer Kit - WB	
Sauso kraujo lašui (DBS):	
- cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent - SPER	
Amplifikacija / aptikimas	
- cobas® HIV-1 - MMx R1 - HIV-1 MMx R2 - RNR QS <i>pristatomas kaip IC</i>	
Kontrolės	
- cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit - L(+)C <i>pristatomas kaip teigiama kontrolė (Positive Control)</i> (-)C	
Darbo eiga	
1	Paleiskite sistemą
2	Atlikite instrumento priežiūros darbus
3	Surinkite mėginius ir reagentus iš jų laikymo vietos
4	Paleiskite tyrimą ir pasirinkite HIV-1-qual-DBS
5	Įkelkite mėginius
6	Sukurkite darbo eigą. - Naudojant LIS: patvirtinkite darbo eigą - Nenaudojant LIS: sukurkite darbo eigą
7	Įkelkite reikmenis
8	Įkelkite mėginio paruošimo reagentus
9	Įkelkite amplifikacijos / aptikimo reagentus ir kontroles <i>programinės įrangos vediklis nurodo įkelti QS, kuris naudojamas kaip vidinė kontrolė (IC).</i> <i>Programinės įrangos vediklis taip pat nurodo įkelti L(+)C ir (-)C iš kontrolinio rinkinio. H(+)C nereikia HIV-1-qual-DBS tyrimui.</i>
10	Pradėkite mėginio paruošimą
11	Išimkite mikrošulinėlių plokštelę
12	Sandariai uždarykite mikrošulinėlių plokštelę
13	Įkelkite sandariai uždarytą mikrošulinėlių plokštelę į analizatorių
14	Išimkite mėginius, panaudotus reagentus ir gilių šulinėlių plokštelę
15	Peržiūrėkite rezultatus Pasirinktina: Jei prijungta LIS, išsiųskite rezultatus į LIS <i>Tyrimo rezultatų ataskaitoje QS pristatomas kaip vidinė kontrolė (IC), o L(+)C – kaip teigiama kontrolė (Positive Control).</i>
16	Išimkite mikrošulinėlių plokštelę iš analizatoriaus.

HIV-1 kokybinio tyrimo (HIV-1-qual-DBS), atliekamo kaip viena partija, darbo eiga išsamiai aprašyta tolesniame skyriuje.

HIV-1 kokybinio tyrimo (HIV-1-qual-DBS), atliekamo kartu su HIV-1 kiekybiniu tyrimu, darbo eiga išsamiai aprašyta skyriuje „HIV-1 kiekybinio tyrimo, atliekamo kartu su HIV-1 kokybiniu tyrimu (HIV-1-qual-DBS), darbo eiga“.

Išsamus HIV-1 kiekybinio tyrimo, atliekamo kaip viena partija, darbo eigos aprašas pateikiamas skyriuje „HIV-1 kiekybinio tyrimo, atliekamo kaip viena partija, darbo eiga“.

HIV-1 kokybinio tyrimo (HIV-1-qual-DBS), atliekamo kaip viena partija, darbo eiga

1. Atlikite sistemos paleidimo ir priežiūros procedūras, vykdydami **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadovo nurodymus.
2. Atlikite priežiūros veiksmus, vykdydami **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadovo nurodymus.
3. Surinkite visus reikalingus reagentus ir priemones. Visi reagentai, išskyrus MMX R2 ir MMX R1, prieš įdedant į **cobas® x 480** instrumentą, turi būti kambario temperatūros. MMX R2 ir MMX R1 reagentus galima paimti tiesiai iš 2–8 °C temperatūros laikymo vietos, nes, kol bus naudojami, jie sušils iki kambario temperatūros **cobas® x 480** instrumente.

Pastaba: visi reagentai ir reagentų talpos yra pažymėti brūkšniniais kodais ir skirti naudoti vieną kartą. **cobas® 4800 programinė įranga seka reagentų ir reagentų talpų naudojimą ir atmets anksčiau naudotus reagentus arba reagentų talpas.**

4. Pradėkite naują tyrimą ir pasirinkite tyrimo tipą HIV-1-qual-DBS.
 5. Įkelkite DBS mėginius. Informacijos apie mėgintuvėlius rasite skyriuje „Tinkami mėgintuvėliai“. DBS mėginius galima įkelti tik 32 vietų mėginių laikikliu.
 6. Sukurkite darbo eigą. Yra trys būdai sukurti darbo eigą:
 - Naudojant mėginių redaktorių, prieš įkeliant mėginių stovą į **cobas® x 480** instrumentą (mygtukas Editor (rengyklė) pagrindinio meniu dešinėje). Darbo eigas, jei reikia, galima išsaugoti, redaguoti ir įkelti iš naujo. Mėginio tipas ir norimas rezultatas automatiškai nustatomi kaip DBS ir HIV-1-qual-DBS.
 - Vykdam programinės įrangos vediklio nurodymus, atliekant naują tyrimą ir įkeliant mėginius į **cobas® x 480** instrumentą. Mėginio brūkšniniai kodai automatiškai nuskaitomi, o mėginio tipas ir norimas rezultatas automatiškai nustatomi kaip DBS ir HIV-1-qual-DBS.
 - Naudojant įstaigos LIS sistemą.
- Daugiau išsamios informacijos žr. **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadove. Įkelkite mėginius ir atitinkamai nustatykite / pasirinkite darbo eigą arba naudokite LIS.
7. Įkelkite priemones, kaip nurodo programinės įrangos vediklis. Nedėkite atskirų antgalių į dalinai išnaudotą antgalių stovą ir neišimkite jų, nes programinė įranga seka likusių antgalių skaičių. Jeigu pasirinktam tyrimui antgalių nepakanka, programinė įranga įspės vartotoją.
 8. Perkelkite mėginių paruošimo reagentus į brūkšniniais kodais pažymėtas talpas. Reagentų talpos yra dviejų dydžių: 200 ml ir 50 ml. Sekite programinės įrangos vediklio nurodymus tinkamų reagentų talpų pasirinkimui. Reagentų talpų brūkšniniai kodai turi būti nukreipti į dešinę stovo pusę. Mėginių paruošimo reagentus įdėkite naudodami metodą „nuskaityti-nuskaityti-įpilti-įdėti“:
 - Nuskaitykite reagento buteliuko brūkšninį kodą
 - Nuskaitykite reagento talpos brūkšninį kodą
 - Perpilkite reagentą į talpą (prieš pildami, suplakite MGP buteliuką)

- Įkelkite pripildytą reagento talpą į jam skirtą vietą reagentų stovė

Pastaba: *cobas® 4800 sistema turi vidinį laikrodį reagentų buvimo prietaiso viduje trukmei stebėti. Nuskaičius LYS 2 arba WB, leidžiama užtrukti 1 valandą, kol bus užbaigtas įdėjimo procesas ir nuspaustas mygtukas „Start“. Kortelėje Workplace rodomas atvirkštinio skaičiavimo laikmatis. Sistema neleis pradėti tyrimo, jei pasibaigs leistinas buvimo prietaiso viduje laikas.*

Pastaba: *norėdami užtikrinti tikslų MGP perkėlimą, iš karto prieš pildami į reagento talpą suplakite arba smarkiai supurtykite MGP buteliuką.*

9. Įdėkite amplifikacijos / aptikimo reagentų mėgintuvėlius [MMX R2, MMX R1 ir RNR QS], kontrolių mėgintuvėlius [L(+)/C ir (–)/C] ir bendrųjų reagentų mėgintuvėlius [P2] tiesiai į reagentų stovą.

Programinės įranga nurodo naudotojui įkelti QS. Šis QS naudojamas kaip vidinė kontrolė (IC), o tyrimo rezultatų ataskaitoje pristatomas kaip IC.

Programinė įranga nurodo naudotojui įkelti L(+)/C. Šis L(+)/C naudojamas kaip teigiama kontrolė ir tyrimo rezultatų ataskaitoje pristatomas kaip teigiama kontrolė (Positive Control). H(+)/C nereikia HIV-1-qual-DBS tyrimui.

Pastaba: *siekiant išvengti nepageidaujamo tyrimo nutraukimo bei užteršimo, reagentų mėgintuvėlius reikia lengvai suduoti pirštu, kad nesusidarytų burbuliukai / plėvelė ant skysčio. Kontrolės turėtų būti atsukamos pradedant nuo artimiausių (nuo 24 iki 1 padėties). Atidarius teigiamas kontroles, pakeiskite laboratorines pirštines.*

10. Pradėkite mėginio paruošimą.
11. Sėkmingai paruošus mėginius, sistema leidžia naudoti mygtukus „Sample Preparation results“ (Mėginių paruošimo rezultatai) ir „Unload“ (Išimti). Jei norite peržiūrėti rezultatus, pasirinkite mygtuką „Sample Preparation results“ (Mėginių paruošimo rezultatai), tada – „Unload“ (Išimti), kad išimtumėte plokštelių stovą. Arba pasirinkite „Unload“ (Išimti), kad išimtumėte plokštelių stovą neperžiūrėję rezultatų. Žr. **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadovą.
12. Išėmę mikrošulinėlių plokštelę, sekite **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadove pateiktas plokštelės sandarinimo ir perkėlimo į **cobas® z 480** analizatorių instrukcijas.
13. Įkelkite mikrošulinėlių plokštelę į analizatorių ir pradėkite amplifikacijos ir aptikimo vykdymą, kaip nurodyta **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove.

Pastaba: *cobas® 4800 sistema turi vidinį laikrodį stebėjimui, kiek laiko praėjo po paruoštų mėginių pridėjimo į suaktyvintą pagrindinį reakcijos mišinį. Amplifikacija ir aptikimas turi būti pradėti kiek įmanoma greičiau, bet ne vėliau nei per 40 minučių užbaigus cobas® x 480 Instrumento darbą. Kortelėje Workplace rodomas atvirkštinio skaičiavimo laikmatis. Pasibaigus leistinam laikui, sistema tyrimą nutraukia.*

14. Išimkite mėginius, panaudotus reagentus ir gilių šulinėlių plokštelę, kaip nurodyta **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadove.
15. Baigę amplifikacijos ir aptikimo vykdymą, sekite **cobas® 4800** sistemos naudotojo vadove pateiktas rezultatų peržiūros ir patvirtinimo instrukcijas. Jei naudojama LIS, išsiųskite rezultatus į LIS.
16. Vykdykite **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadove pateiktas mikrošulinėlių plokštelės išėmimo iš **cobas® z 480** analizatoriaus instrukcijas.

cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo rezultatai

cobas® 4800 sistema aptinka ŽIV-1 mėginiuose bei kontrolėse ir pateikia kokybinį rezultatą, parodydama aptiktą arba neaptiktą ŽIV-1 visoms nukleorūgštims.

HIV-1-qual-DBS darbo eigos metu įkelta silpnai teigiama kontrolė ir QS naudojama ir pristatoma atitinkamai kaip teigiama kontrolė (Positive Control) ir vidinė kontrolė (IC).

Jei reikia nustatyti teigiamos kontrolės ar IC rinkinio partijos numerį, atitinkamą rinkinio partijos numerį galima rasti etiketėse Silpnai teigiama kontrolė ir RNR kiekybinis standartas.

cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo kokybės kontrolė ir rezultatų patikimumas

- Kiekvienoje partijoje apdorojama viena neigiama kontrolė (–)C ir viena teigiama kontrolė HBV/HCV/HIV-1 L(+)C.
- Partijos rezultatų patikimumą patikrinkite naudodami **cobas® 4800** programinę įrangą ir (arba) ataskaitoje.
- cobas® 4800** programinė įranga rezultatų nepatikimumą automatiškai nustato pagal neigiamų ir teigiamų kontrolių klaidas.

cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo kontrolių rezultatų aiškinimas

14 lentelė. Neigiamos ir teigiamos kontrolių rezultatų aiškinimas

Kontrolė	Rezultatas	Aiškinimas
(–)C	Tinka	Kontrolės rezultatas patikimas. ŽIV-1 neaptikta.
	Invalid	Neigiamas kontrolinis mėginys yra nevertinamas.
HBV/HCV/HIV-1 L(+)C, pristatomas kaip teigiama kontrolė (Positive Control)	Valid	Kontrolės rezultatas patikimas.
	Invalid	Teigiamas kontrolinis mėginys yra nevertinamas.

cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo rezultatų aiškinimas

Pastaba: visus tyrimų ir partijų patvirtinimus nustato cobas® 4800 programinė įranga.

Pastaba: patvirtintą partiją gali sudaryti ir patikimi, ir nepatikimi mėginių rezultatai.

Patvirtintos partijos mėginių rezultatai aiškinami, kaip parodyta 15 lentelėje.

15 lentelė. Taikinio rezultatai ir atskirų taikinio rezultatų aiškinimas

HIV-1-qual-DBS	Rezultatų ataskaita ir aiškinimas
Detected	ŽIV-1 aptikta. Ct reikšmė
Not detected	ŽIV-1 neaptikta.
Invalid	Taikinio rezultatas yra netinkamas, taikinio rezultatas yra netinkamas arba neigiamas ir vidinės kontrolės rezultatas yra netinkamas arba neigiamas; arba išorinės kontrolės rezultatas yra netinkamas

Pastaba: Mėginių Ct reikšmės, jei jos yra, pateikiamos rezultatų ataskaitoje ir taip pat eksportuojamos į LIS.

cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo rezultatų žymų sąrašas

Toliau lentelėje išvardytos visos žymos, reikšmingos interpretuojant rezultatus.

16 lentelė. Žymų sąrašas

Žymos kodas	Aprašas	Rekomenduojamas veiksmas
R20	Teigiamas kontrolinis mėginys yra nevertinamas.	Teigiamos kontrolės reikšmės yra netinkamos. 1. Pakartokite visą tyrimą naudodami naujus reagentus. 2. Jei problema išlieka, kreipkitės į Roche aptarnavimo padalinį.
R21	Neigiamas kontrolinis mėginys yra nevertinamas.	Neigiamos kontrolės reikšmės yra netinkamos. Kad išvengtumėte pernašos, laikykitės geros laboratorinės praktikos reikalavimų. 1. Pakartokite visą tyrimą naudodami naujus reagentus. 2. Jei problema išlieka, kreipkitės į Roche aptarnavimo padalinį.
R4807	Mėginio rezultatas yra netinkamas	Taikinio rezultatas yra netinkamas dėl rezultato apskaičiavimo trikdžių. 1. Ištrinkite mėginį dar kartą. 2. Jei problema išlieka, kreipkitės į Roche aptarnavimo padalinį.
R4808	Mėginio vidinės kontrolės rezultatas yra netinkamas arba neigiamas ir mėginio taikinio rezultatas yra netinkamas arba neigiamas	Netinkamo arba neigiamo mėginio taikinio rezultato vidinės kontrolės reikšmės yra netinkamos. 1. Ištrinkite mėginį dar kartą naudodami naujus reagentus. 2. Jei problema išlieka, kreipkitės į Roche aptarnavimo padalinį.
X3	Klaida: aptiktas gumulėlis. Mėginys nebuvo apdorotas.	Įsitikinkite, kad mėginiai buvo apdoroti pagal darbo eigos aprašą. 1. Patikrinkite, ar mėginyje nėra gumulėlių. 2. Ištrinkite mėginį dar kartą.
X4	Klaida: įvyko pipetavimo klaida. Mėginys nebuvo apdorotas.	Labiausiai tikėtina priežastis – nepakankamas mėginio tūris arba mechaninis pipetavimo sutrikimas. 1. Įsitikinkite, kad mėginio tūris yra pakankamas. 2. Patikrinkite, ar plokštelė atgalių išmetimo pozicijoje yra tinkamai įstatyta. 3. Ištrinkite mėginį dar kartą.

Pastaba: visas sistemos žymas žr. **cobas® 4800 sistemos vartotojo vadove**.

Procedūros apribojimai

- cobas® HIV-1** kokybinis tyrimas buvo įvertintas tik naudojant kartu su **cobas® HBV/HCV/HIV-1** kontroliniu rinkiniu, **cobas® 4800** sistemos mėginių 2 paruošimo rinkiniu, **cobas® 4800** sistemos 2 lizės rinkiniu ir **cobas® 4800** sistemos plovimo buferinio tirpalo rinkiniu.
- Norėdami gauti patikimus rezultatus, mėginius rinkite, transportuokite, laikykite ir apdorokite tinkamai. Vykdykite šiame naudojimo instrukcijų dokumente (taip pat vadinamas Pakuotės lapeliu) ir **cobas® 4800** sistemos vartotojo vadove aprašytas procedūras.
- cobas® HIV-1** kokybinis tyrimas buvo patvirtintas naudoti tik su DBS. Kitų tipų mėginių tyrimo rezultatai gali būti netikslūs.
- Retais atvejais mutacijos labai konservatyviuose virusinio genomo regionuose, kuriuos tiria **cobas® HIV-1**, gali daryti įtaką pradmenų ir (arba) zondų prisijungimui, dėl to gali nepasisiekti nustatyti viruso.
- Tyrimo prognozinė reikšmė priklauso nuo ligos paplitimo konkrečioje populiacijoje.

6. AmpErase fermento pridėjimas į **cobas**® HIV-1 pagrindinį mišinį aktyvina selektyviają tiriamos nukleorūgšties amplifikaciją. Vis dėlto siekiant neužteršti reagentų ir amplifikacijos mišinių būtina taikyti gerąsias laboratorijos praktikas ir kruopščiai laikytis šiame naudojimo instrukcijų dokumente pateiktų instrukcijų.
7. Šį produktą gali naudoti tik dirbti su PGR technologijomis ir **cobas**® 4800 sistema dirbti apmokytas personalas.
8. Šio produkto naudojimas patvirtintas tik su **cobas**® x 480 instrumentu ir **cobas**® z 480 analizatoriumi. Joks kitas mėginių paruošimo instrumentas ar PGR sistema negali būti naudojama su šiuo produktu.
9. Dėl technologijoms būdingų skirtumų naudotojams rekomenduojama prieš pakeičiant vieną technologiją kita savo laboratorijose atlikti metodų koreliacinę analizę, kad būtų įvertinti technologijų skirtumai. Naudotojai turėtų laikytis savo pačių nustatytų specifinių nurodymų/procedūrų.
10. Dėl kryžminio užteršimo galima gauti klaidingus teigiamus rezultatus. Neklinikinio įvertinimo metu nustatytas kryžminio užteršimo iš mėginio į mėginį **cobas**® HIV-1 dažnis yra 0,0 %, kai viršutinis vienašalis 95 % patikimumo intervalas siekia 1,3 % (Clopper Pearson). Kryžminis užteršimas nuo vieno tyrimo kitam nebuvo pastebėtas.

cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo neklinikinis efektyvumo įvertinimas

DBS mėginių pagrindinės eksploatacinės ypatybės

Aptikimo riba (LoD) naudojant DBS

cobas® HIV-1 aptikimo riba buvo nustatyta analizuojant PSO tarptautinio standarto, skirto ŽIV-1 RNR nukleorūgšties amplifikacijos technologijos tyrimams (3-iasis PSO tarptautinis standartas, NIBSC kodas 10/152), M grupės B potipio, gauto iš NIBSC, viso kraujo, kuriame ŽIV nebuvo, serijinius skiedimus, naudojant sauso kraujo lašo korteles. Mėginių grupės, kurias sudarė penkių skirtingų koncentracijų skiedimai ir neigiamas mėginys, buvo tiriamos naudojant tris **cobas**® HIV-1 reagentų partijas, dviejų skirtingų tipų DBS korteles, tyrimus vykdant keletą dienų, atliekant kelis tyrimų ciklus, pasitelkiant įvairius operatorius ir instrumentus.

Bendrieji sauso kraujo lašų tyrimo rezultatai pateikti 17 lentelėje. Tyrimas parodė, kad **cobas**® HIV-1 tyrimo ŽIV-1 RNR aptikimo koeficientas buvo ≥ 95 %, kaip nustatyta pagal PROBIT, kai koncentracija sauso kraujo lašuose yra 325,1 kop./ml (541,8 TV/ml).

17 lentelė. Aptikimo riba naudojant sauso kraujo lašus

Įvedama titro koncentracija (ŽIV-1 RNR kop./ml)	Tinkamus vertinti rezultatus turinčių pakartojimų skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Atitikimo koeficientas
969	63	63	100,0 %
	63	63	100,0 %
	62	62	100,0 %
484,5	63	63	100,0 %
	62	59	95,2 %
	63	63	100,0 %
323	63	61	96,8 %
	63	61	96,8 %
	63	59	93,7 %
161,5	63	50	79,4 %
	61	44	72,1 %
	63	45	71,4 %
80,75	63	28	44,4 %
	63	32	50,8 %
	63	26	41,3 %
0	48	0	0,0 %
	48	0	0,0 %
	48	0	0,0 %
LoD pagal PROBIT esant 95 % atitikimo koef.	325,1 kop./ml; 95 % patikimumo intervalas: 284,1–385,8 kop./ml 541,8 TV/ml; 95 % patikimumo intervalas: 473,5–643,0 TV/ml		

Atkartojamumas naudojant DBS

cobas® HIV-1 tyrimo atkartojamumas buvo nustatytas analizuojant Roche ŽIV-1 antrinio standarto serijinius skiedimus neapdorotame kraujyje, kuriame ŽIV nebuvo, naudojant sauso kraujo lašo kortele. Buvo ištirti trys skiedimo lygiai atliekant 2 pakartojimus kiekvienam lygiui naudojant dviejų tipų sauso kraujo lašo kortele ir dviejų partijų **cobas®** HIV-1 tyrimo reagentus, tyrimus per 12 dienų atliekant dviem operatoriams dviem instrumentais. Rezultatai pateikiami 18 lentelėje.

cobas® HIV-1 tyrimas parodė didelį atkartojamumą naudojant dviejų tipų sauso kraujo lašo kortele ir dviejų partijų reagentus trijuose koncentracijos lygiuose.

18 lentelė. cobas® HIV-1 atkartojamumas naudojant DBS

Koncentracija	Partija	Reaktyvūs / tinkami vertinti pakartojimai	Atitikimo koef. [%]	95 % patikimumo intervalo apatinė riba	95 % patikimumo intervalo viršutinė riba
~3 × LoD	1	24/24	100,0 %	85,8 %	100,0 %
	2	24/24	100,0 %	85,8 %	100,0 %
~1 × LoD	1	21/24	87,5 %	67,6 %	97,3 %
	2	21/24	87,5 %	67,6 %	97,3 %
~0,6 × LoD	1	17/24	70,8 %	48,9 %	87,4 %
	2	21/24	87,5 %	67,6 %	97,3 %

Visos sistemos sutrikimas naudojant DBS

cobas® HIV-1 visos sistemos sutrikimo koeficientas naudojant DBS buvo nustatytas atliekant 100 neapdoroto kraujo mėginių, į kuriuos pridėta ŽIV-1 M grupės B potipio virusų, tyrimo pakartojimų. Šie mėginiai buvo tirti esant maždaug $3 \times \text{LoD}$ koncentracijai.

Šio tyrimo rezultatai patvirtino, kad visi pakartotiniai tyrimo mėginiai turėjo patikimus rezultatus ir buvo teigiami tiriamam ŽIV-1, taigi bendras visos sistemos sutrikimo koeficientas naudojant DBS buvo 0,0 %. Dvišalis 95 % tikslumo patikimumo intervalas buvo 0,0 % apatinei ribai ir 3,6 % viršutinei ribai [0 %: 3,6 %].

cobas® HIV-1 kokybinio tyrimo DKL klinikinio efektyvumo įvertinimas

Metodų koreliacija naudojant DKL

cobas® HIV-1 efektyvumo įvertinimas, palyginti su COBAS® AmpliPrep / COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimu

cobas® HIV-1 tyrimo efektyvumas buvo palygintas su COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 kokybiniu tyrimu v2.0, ištyrus klinikinius ankstyvų kūdikių DBS mėginius vienoje išorės laboratorijoje. Ištyrus ŽIV-1 teigiamus ir ŽIV-1 neigiamus DBS mėginius, buvo nustatytas abiejų tyrimų 100 % sutapimas. Tai reiškia, kad **cobas®** HIV-1 tyrimo ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 kokybinio tyrimo v2.0 efektyvumas yra lygiavertis (19 lentelė).

19 lentelė. HIV-1 DBS mėginių koreliacijos rezultatų santrauka

Koreliacija HIV-1 DBS mėginiai		COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 kokybinis tyrimas, v2.0	
		Reaktyvus	Nereaktyvus
cobas® HIV-1	Reaktyvus	99	0
	Nereaktyvus	0	129
Procentinė sutapimo dalis		100 % (95 % CI: 98–100 %)	

Dėl to klinikinis jautrumas yra 100 % (dvišalis 95 % patikimumo intervalas yra 96–100 %) ir klinikinis specifiškumas yra 100 % (dvišalis 95 % patikimumo intervalas yra 97–100 %).

Specifiškumas naudojant DBS

cobas® HIV-1 specifiškumas buvo nustatytas analizuojant atskirų donorų ŽIV neigiamo sauso kraujo lašo mėginius. Iš viso buvo ištirta 620 atskirų DBS mėginių naudojant dviejų partijų **cobas®** HIV-1 reagentus ir dviejų tipų DBS korteles. Nustatyta, kad visi ištirti mėginiai neveikia ŽIV-1 RNR. Pagal šiuos rezultatus **cobas®** HIV-1 tyrimo specifiškumas naudojant DBS buvo 100,0 % [95 % vienpusio patikimumo intervalo (Clopper Pearson) apatinė riba buvo 99,5 %].

Papildoma informacija

EDTA plazmos mėginių tyrimo pagrindinės ypatybės

Mėginio tipas	EDTA plazma
Apdorojamas mėginio tūris	400 µl arba 200 µl
Analitinis jautrumas	14,2 k./ml (400 µl)
	43,9 k./ml (200 µl)
Linijinis intervalas	400 µl: 20,0 kop./ml – 1,0E+07 kop./ml
	200 µl: 60,0 kop./ml – 1,0E+07 kop./ml
Specifiškumas	100 % (vienašalis 95 % patikimumo intervalas: 99,5 %)
Aptinkami genotipai	HIV-1M (A–D, F–H, CRF01_AE, CRF02_AG), HIV-1O, HIV-1N

PSC sausos plazmos lašo mėginių tyrimo pagrindinės ypatybės

Mėginio tipas	Sausos plazmos lašas iš plazmos atskyrimo kortelės
Minimalus reikiamas mėginio tūris	140 µl kraujo
Apdorojamas mėginio tūris	400 µl
Analitinis jautrumas	598,6 k./ml
Linijinis intervalas	599 kop./ml – 1,0E+07 kop./ml

DBS mėginių tyrimo pagrindinės ypatybės

Mėginio tipas	Sauso kraujo lašai
Minimalus reikiamas mėginio tūris	70 µl kraujo
Apdorojamas mėginio tūris	400 µl
Analitinis jautrumas	325,1 k./ml
Specifiškumas	100 % (vienašalis 95 % patikimumo intervalas: 99,5 %)

Trumpas procedūrų vadovas

	Viena partija		Mišri partija
	HIV-1 kiekybinis tyrimas – Plazma – Skiesta plazma – PSC	HIV-1 kokybinis tyrimas – DBS	HIV-1 kiekybinis tyrimas HIV-1 kokybinis tyrimas
1	Paleiskite sistemą		
2	Atlikite instrumento priežiūros darbus		
3	Išimkite mėginius ir reagentus iš jų laikymo vietos		
4	Paleiskite tyrimą ir pasirinkite tyrimo tipą:		
	HIV-1	HIV-1-qual-DBS	HIV-1 HIV-1-qual-DBS
5	Nuskaitykite parametrų korteles (AVC) – MMx kalibravimo koeficientai – Kontroliniai intervalai	Parametrų kortelės nereikalingos	Nuskaitykite parametrų korteles (AVC) – MMx kalibravimo koeficientai – Kontroliniai intervalai
6	Įkelkite mėginius		
7	Sukurkite darbo eigą		
8	Įkelkite reikmenis		
9	Įkelkite mėginio paruošimo reagentus		
10	Įkelkite amplifikacijos / aptikimo reagentus ir kontroles:		
	– MMx1 ir 2 + QS – L(+)C, H(+)C ir (–)C – Bendrieji reagentai	– MMx1 ir 2 + QS – L(+)C ir (–)C – Bendrieji reagentai	– MMx1 ir 2 + QS – L(+)C, H(+)C ir (–)C – Bendrieji reagentai
11	Pradėkite mėginio paruošimą		
12	Išimkite mikrošulinėlių plokštelę		
13	Sandariai uždarykite mikrošulinėlių plokštelę		
14	Įkelkite sandariai uždarytą mikrošulinėlių plokštelę į analizatorių		
15	Išimkite mėginius, panaudotus reagentus ir gilių šulinėlių plokštelę		
16	Peržiūrėkite rezultatus		
17	Išimkite mikrošulinėlių plokštelę iš analizatoriaus.		

Atliekant HIV-1 kokybinį tyrimą (HIV-1-qual-DBS), QS pristatomas kaip vidinė kontrolė (IC), L(+)C – kaip teigiama kontrolė (PC), o H(+)C nereikia.

- Išsami informacija apie tyrimo, atliekamo kaip viena partija, procedūras
 - HIV-1 kiekybinio tyrimo darbo eiga (žr. skyrių HIV-1 kiekybinio tyrimo, atliekamo kaip viena partija, darbo eiga)
 - HIV-1 kokybinio tyrimo darbo eiga (HIV-1-qual-DBS) (žr. skyrių HIV-1 kokybinio tyrimo (HIV-1-qual-DBS), atliekamo kaip viena partija, darbo eiga)
- Išsami informacija apie mišrios partijos HIV-1 tyrimų darbo eigą (žr. skyrių HIV-1 kiekybinio tyrimo, atliekamo kartu su HIV-1 kokybiniu tyrimu (HIV-1-qual-DBS), darbo eiga)

Simboliai

Šie simboliai naudojami Roche PGR diagnostikos produktams žymėti.

20 lentelė. Simboliai, naudojami Roche PGR diagnostikos produktams žymėti

Age/DOB	Amžius arba gimimo data		Priemonė nėra skirta tyrimui šalia paciento	QS IU/PCR	QS TV PGR reakcijos metu; naudokite QS tarptautinius vienetus (TV) PGR reakcijos metu, kai skaičiuojami rezultatai.
	Papildoma programinė įranga		Priemonė nėra skirta savarankiškam išsityrimui	SN	Serijos numeris
Assigned Range [copies/mL]	Priskirta skalė (kop./ml)		Platintojas (Pastaba: po šiuo ženklu gali būti nurodyta atitinkama šalis / regionas.)	Site	Vieta
Assigned Range [IU/mL]	Priskirta skalė (TV/ml)		Nenaudoti pakartotinai	Procedure Standard	Standartinė procedūra
EC REP	Igaliojasis atstovas Europos Bendrijoje		Moteris	STERILE EO	Sterilizuota etileno oksidu
BARCODE	Brūkšnių kodų duomenų lapas		Skirta tik IVD efektyvumui įvertinti		Laikyti tamsoje
LOT	Partijos kodas	GTIN	Visuotinis prekės numeris		Temperatūros ribojimas
	Biologinė rizika		Importuotojas		Tyrimo nustatymų laikmena
REF	Katalogo numeris	IVD	In vitro diagnostikos medicinos priemonė		Šiuo galu į viršų
	CE atitikties ženklavimas; ši priemonė atitinka in vitro diagnostikos medicinos priemonės CE ženklavimo reikalavimus	LLR	Priskirtos skalės apatinė riba	Procedure UltraSensitive	Ypač tiksli procedūra
Collect Date	Paėmimo data		Vyras	UDI	Unikalūs priemonės identifikatoriai
	Žiūrėti naudojimo instrukcijas		Gamintojas	ULR	Priskirtos skalės viršutinė riba
	Yra pakankamai <n> tyrimų	CONTROL -	Neigiama kontrolė	Urine Fill Line	Šlapimo užpildymo linija
CONTENT	Rinkinio sudėtis		Nesterilus	Rx Only	JAV: įspėjimas. Pagal federalinius įstatymus šį prietaisą galima parduoti tik gydytojui arba gydytojo nurodymu.
CONTROL	Kontrolinės medžiagos		Paciento vardas, pavardė		Galiojimo laikas
	Pagaminimo data		Paciento numeris		
	Priemonė tyrimui šalia paciento		Plėšti čia		
	Priemonė skirta savarankiškai išsityrėti	CONTROL +	Teigiama kontrolė		
		QS copies / PCR	QS kopijos PGR reakcijos metu; naudokite QS kopijas PGR reakcijos metu, kai skaičiuojami rezultatai.		

Techninė parama

Dėl techninės pagalbos kreipkitės į vietinį filialą:

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

Gamintojas

21 lentelė. Gamintojas



Pagaminta JAV

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

Pagaminta JAV

Prekių ženklai ir patentai

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

Autorių teisės

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Šaltinių sąrašas

1. Mellors JW, Munoz A, Giorgi JV, et al. Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med.* 1997;126(12):946-954.
2. Mellors JW, Margolick JB, Phair JP, et al. Prognostic value of HIV-1 RNA, CD4 cell count, and CD4 Cell count slope for progression to AIDS and death in untreated HIV-1 infection. *JAMA.* 2007;297(21):2349-2350.
3. Guidelines for the use of antiviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services (DHHS);2015.
4. Cohen MS, Chen YQ, McCauley M, et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. *N Engl J Med.* 2011;365(6):493-505.
5. Phillips AN, Pillay D, Garnett G, et al. Effect on transmission of HIV-1 resistance of timing of implementation of viral load monitoring to determine switches from first to second-line antiretroviral regimens in resource-limited settings. *AIDS.* 2011;25(6):843-850.
6. Sigaloff KC, Hamers RL, Wallis CL, et al. Unnecessary antiretroviral treatment switches and accumulation of HIV resistance mutations; two arguments for viral load monitoring in Africa. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2011;58(1):23-31.
7. European AIDS Clinical Society 2013 Guidelines. <http://www.eacsociety.org/Guidelines.aspx>.
8. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection – Recommendations for a public health approach. World Health Organization HIV/AIDS Programme, Geneva. June 2013.
9. Günthard HF, Aberg JA, Eron JJ, et al.; Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2014 recommendations of the International Antiviral Society – USA panel. *JAMA.* 2014;312:410-425.
10. Do T, Duncan J, Butcher A, Liegler T. Comparative frequencies of HIV low-level viremia between real-time viral load assays at clinically relevant thresholds. *J Clin Virol.* 2011;52 Suppl 1:S83-S89.
11. Paba P, Fabeni L, Ciccozzi M, Perno CF, Ciotti M. Performance evaluation of the COBAS/TaqMan HIV-1 v2.0 in HIV-1 positive patients with low viral load: a comparative study. *J Virol Methods.* 2011;173(2):399-402.
12. Deeks SG. Durable HIV treatment benefit despite low-level viremia: reassessing definitions of success or failure. *JAMA.* 2011;286:224-226.
13. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection – Recommendations for a public health approach. World Health Organization HIV/AIDS Programme, Geneva. 2016.
14. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene.* 1990;93:125-128.
15. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature.* 1995;373:487-493.
16. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell.* 1995;80:869-878.
17. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY).* 1992;10:413-417.
18. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996;6:986-994.
19. 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.
20. 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.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP06-A. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: A statistical approach. CLSI Document EP06-A:Wayne, PA; CLSI, 2003.
22. UNAIDS. Global AIDS Update. Geneva;2016.

Dokumento leidimas

Dokumento leidimo informacija	
Doc Rev. 6.0 12/2024	Peržiūrėta, kad atitiktų IVDR (<i>in vitro</i> diagnostikos reglamento) reikalavimus. Įtrauktas PSO tarptautinio standarto NIBSC kodas. Atnaujintas skyrius Paskirtis siekiant patikslinti, kad kokybiniai vertinimai buvo atlikti tik su kūdikių mėginiais. Įtrauktas skyrius Klinikinio efektyvumo įvertinimas. Atnaujinta PSC metodo lapo ms_09411763190 nuoroda, kad atsispindėtų naujas PSC kortelės M/N. Atnaujinti 2 ir 3 paveikslėliai, kad būtų tenkinami PSC ms_09411763190 reikalavimai. Atnaujinti įspėjimai dėl pavojų. Įtraukta informacija apie SPER atidaryto buteliuko stabilumą. Atnaujintas skyrius Gamintojas. Atnaujinta kompetentingos įstaigos formuluotė. Pridėtas cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit numatytojo naudojimo aprašymas. Į 9 lentelę įtrauktas kryžminis ŽIV-2 reaktantas. Atnaujinta įspėjamoji informacija apie plovimo buferio keliamus pavojus. Iš antraštinio puslapio išbrauktas užrašas „Rx Only“. Atnaujintas suderintų ženklų puslapis. Jei turite klausimų, kreipkitės į vietinį Roche atstovą.

Saugumo ir efektyvumo ataskaitos santrauką galima rasti atvėrus šią nuorodą:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>