

cobas[®] MPX

Multiplexowy test na obecność kwasu nukleinowego wirusów HIV, HCV i HBV

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*



cobas[®] MPX – 192	P/N: 09288538190
cobas[®] MPX – 480	P/N: 09040862190
cobas[®] MPX Control Kit	P/N: 09040846190
cobas[®] NHP Negative Control Kit	P/N: 09051554190
cobas[®] omni MGP Reagent	P/N: 06997546190
cobas[®] omni Specimen Diluent	P/N: 06997511190
cobas[®] omni Lysis Reagent	P/N: 06997538190
cobas[®] omni Wash Reagent	P/N: 06997503190

Spis treści

Przeznaczenie.....	5
Podsumowanie oraz opis testu	5
Odczynniki i materiały.....	9
Odczynniki i kontrole do testu cobas® MPX	9
Odczynniki cobas® omni do przygotowywania próbek.....	13
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników	14
Wymagania dotyczące użytkowania systemu cobas® 5800	14
Wymagania dotyczące użytkowania systemów cobas® 6800/8800	15
Materiały dodatkowe wymagane dla systemu cobas® 5800	16
Materiały dodatkowe wymagane do systemów cobas® 6800/8800	16
Wymagane urządzenia i oprogramowanie	17
Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania	18
Ostrzeżenia i środki ostrożności.....	18
Użytkowanie odczynników	19
Dobra praktyka laboratoryjna	19
Pobieranie, transport, przechowywanie i pulowanie próbek.....	20
Próbki krwi pochodzące od dawców żyjących	20
Próbki krwi od dawców nieżyjących.....	23
Instrukcja obsługi	24
Automatyczne pipetowanie i pulowanie próbek (opcjonalne)	24
Uwagi dotyczące wykonania testu	24
Wykonanie testu cobas® MPX w systemie cobas® 5800	25
Wykonanie testu cobas® MPX w systemach cobas® 6800/8800	26
Wyniki	27
Kontrola jakości i ważność wyników w systemie cobas® 5800	27
Kontrola jakości i ważność wyników w systemach cobas® 6800/8800	28
Interpretacja wyników	29
Dodatkowe informacje dotyczące interpretacji wyników w systemie cobas® 5800	29
Powtarzanie testu dla poszczególnych próbek	30

Ograniczenia metody.....	30
Równoważność/porównanie systemu	30
Ocena skuteczności w badaniach nieklinicznych przeprowadzona w systemach cobas® 6800/8800.....	31
Kluczowe parametry wiarygodności testu	31
Próbki pochodzące od żywych dawców.....	31
Granica wykrywalności (LoD)	31
Odtwarzalność.....	35
Weryfikacja genotypu	37
Panele serokonwersji.....	43
Swoistość analityczna	46
Swoistość analityczna – substancje interferujące	47
Korelacja	48
Błąd całego systemu.....	49
Kontaminacja między próbkami	49
Próbki od dawców nieżyjących	50
Czułość	50
Swoistość.....	51
Odtwarzalność.....	51
Ocena skuteczności w badaniach klinicznych przeprowadzona w systemach cobas® 6800/8800.....	54
Odtwarzalność	54
Swoistość kliniczna	57
Reaktywność w całej populacji dawców krwi.....	57
Reaktywność w populacji dawców osocza wyjściowego.....	58
Badania w populacjach wysokiego ryzyka.....	59
Czułość kliniczna	61
Badania nad populacjami z dodatnim wynikiem NAT	61

Czułość kliniczna w populacji seropoztywnej względem wirusa HIV-1 grupy O oraz HIV-2	62
Populacja seropoztywna względem wirusa HIV-1 grupy O	62
Populacja seropoztywna względem wirusa HIV-2.....	63
Potwierdzenie wyników badań serologicznych	64
Dodatkowe informacje	65
Najważniejsze cechy testu	65
Oznaczenia	66
Pomoc techniczna	67
Wytwórca i importer.....	67
Znaki towarowe i patenty.....	67
Prawo autorskie	67
Piśmiennictwo	68
Wersja dokumentu.....	71

Przeznaczenie

Test **cobas®** MPX do użytku z systemami **cobas®** 5800/6800/8800 jest jakościowym testem *in vitro* służącym do bezpośredniego wykrywania w ludzkim osoczu i surowicy RNA ludzkiego wirusa niedoboru odporności typu 1 (HIV-1) grupy M, RNA wirusa HIV-1 grupy O, RNA ludzkiego wirusa niedoboru odporności typu 2 (HIV-2), RNA wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV) i DNA wirusa zapalenia wątroby typu B.

Test ten służy do wykonywania badań przesiewowych próbek od dawców w celu wykrywania RNA wirusa HIV-1 grupy M, RNA wirusa HIV-1 grupy O, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV oraz DNA wirusa HBV w próbkach osocza i surowicy od pojedynczych dawców, w tym dawców krwi pełnej, składników krwi i od pozostałych dawców żyjących. Test ten jest przeznaczony również do wykonywania badań przesiewowych u dawców narządów i tkanek, gdy próbki dawców są uzyskiwane od dawcy z bijącym sercem oraz od dawców nieżyjących (gdy serce nie bije). Osocze i surowica od wszystkich dawców mogą być badane przesiewowo w formie pojedynczych próbek. Próbki krwi pełnej i jej składników, osocza oraz surowicy można badać pojedynczo lub próbki osocza można badać w pulach składających się z porcji poszczególnych próbek. Próbki od nieżyjących dawców narządów i tkanek (pobierane, gdy nie bije serce) można badać przesiewowo wyłącznie jako pojedyncze próbki.

W przypadku pojedynczych próbek w wynikach podawane są jednocześnie informacje o wykryciu, i rozróżnieniu HIV, HCV i HBV.

Test **cobas®** MPX można uznać za dodatkowy test potwierdzający zakażenie wirusem HIV w przypadku próbek, które powtarzalnie wykazują reaktywność względem przeciwciał przeciwko wirusowi HIV w teście CE-IVD oraz reaktywność w teście **cobas®** MPX.

Test **cobas®** MPX można uznać za dodatkowy test potwierdzający zakażenie wirusem HCV w przypadku próbek, które powtarzalnie wykazują reaktywność względem przeciwciał przeciwko wirusowi HCV w teście CE-IVD oraz reaktywność w teście **cobas®** MPX.

Test **cobas®** MPX można uznać za dodatkowy test potwierdzający zakażenie wirusem HBV w przypadku próbek, które powtarzalnie wykazują reaktywność względem antygenu powierzchniowego wirusa zapalenia wątroby typu B w teście CE-IVD oraz reaktywność w teście **cobas®** MPX.

Test ten nie jest przeznaczony do stosowania jako pomoc w rozpoznawaniu zakażenia wirusami HIV, HCV czy HBV.

Podsumowanie oraz opis testu

Informacje podstawowe: badania przesiewowe krwi pod kątem zakażeń wirusowych przenoszonych podczas transfuzji krwi

Głównym problemem podczas transfuzji krwi i jej składników jest możliwość przeniesienia zakażenia wirusowego, szczególnie ludzkiego wirusa niedoboru odporności typu 1 (HIV-1) i typu 2 (HIV-2), wirusa zapalenia wątroby typu C (HCV) oraz wirusa zapalenia wątroby typu B. Czynniki te są przenoszone przede wszystkim przez narażenie na kontakt z zakażoną krwią lub produktami uzyskiwanymi z krwi i osocza, narażenie na kontakt z określonymi tkankami lub płynami ustrojowymi, przez kontakt seksualny lub od zakażonej matki na noworodka.

Wirus HIV-1 jest rozpowszechniony na całym świecie, a całkowitą liczbę osób zakażonych szacuje się na 1,1% (0,56% w Ameryce Północnej i 0,25% w Europie Zachodniej).¹ U osób zakażonych wirusem HIV-1 może wystąpić krótka, początkowo ostra, grypopodobna choroba związana z wysokimi poziomami wirerii we krwi obwodowej w ciągu 3–6 tygodni od zakażenia. Obecnie występują trzy główne grupy genetyczne wirusa HIV-1: grupa M (główna), grupa N

(nie-M, nie-O) i grupa O (poboczna). Grupa M jest wyraźnie dominująca i dzieli się na 9 podtypów, a także kilka krążących postaci rekombinowanych (CRF).²⁻⁴

Wirus HIV-2 został wyizolowany po raz pierwszy w 1986 roku od pacjentów z Afryki Zachodniej. Zarówno wirus HIV-1, jak i HIV-2 mają te same drogi przenoszenia i wiążą się z podobnymi zakażeniami oportunistycznymi oraz zespołem nabytego niedoboru odporności (AIDS).^{5,6} Częstość zakażenia wirusem HIV-2 w niektórych państwach afrykańskich przekracza 1%, a wirus HIV-2 jest coraz poważniejszym problemem w niektórych częściach Europy i Indii.⁷⁻¹¹ Centrum Kontroli Zachorowań i Profilaktyki (ang. *Centers for Disease Control and Prevention*, CDC) zaleca stały nadzór w celu monitorowania zakażeń wirusem HIV-2 w populacji Stanów Zjednoczonych.¹²

Wirus HCV jest uważany za główny czynnik etiologiczny odpowiedzialny za 90–95% przypadków potransfuzyjnego zapalenia wątroby innego niż typu A oraz B.¹²⁻¹⁵ Zgłaszana częstość zakażenia HCV waha się w granicach 0,5–2,0% w Europie Zachodniej¹⁶ i mieści się w zakresie 6–40% w Egipcie.¹⁷

Dwa miliardy żyjących obecnie ludzi w pewnym momencie swojego życia uległo zakażeniu wirusem HBV. Zakażenie przewlekłe utrzymuje się u około 250 milionów osób, które stają się nosicielami wirusa.¹⁸⁻²⁰ Zakażenie zarówno wirusem HCV, jak i HBV może prowadzić do przewlekłej choroby wątroby i stanowi najczęstszą przyczynę marskości oraz raka wątroby, przyczyniając się do 60–80% przypadków na świecie.²¹

Uzasadnienie badań NAT

Serologiczne testy przesiewowe w znaczący sposób zmniejszyły, ale nie wyeliminowały, ryzyko przeniesienia zakażeń wirusowych podczas transfuzji krwi i produktów krwiopochodnych. Badanie krwi pełnej i osocza dawców pod kątem obecności wirusa HBV rozpoczęto wraz z wprowadzeniem testów wykrywających antygen powierzchniowy wirusa HBV (HBsAg) we wczesnych latach 70. ubiegłego wieku i testów wykrywających przeciwciała anti-HBc w latach 80. ubiegłego wieku. Oprócz badania przesiewowego pod kątem obecności wirusa HBV krew i osocze dawców są rutynowo badane przesiewowo za pomocą testów immunoenzymatycznych (ang. *Enzyme Immunoassay*, EIA) pod kątem obecności przeciwciał skierowanych przeciwko wirusom HIV i HCV.^{22,23} Pozostaje jednak ryzyko przeniesienia zakażenia z donacji krwi, które zostały wykonane w okresie okna serologicznego, którego czas trwania szacuje się na 19, 65 i 36 dni odpowiednio w przypadku wirusa HIV-1, HCV oraz HBV.²⁴ Badania umożliwiające wykrycie obecności kwasów nukleinowych wirusa (RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV) z wykorzystaniem technologii amplifikacji kwasów nukleinowych (ang. *Nucleic Acid Amplification Technology*, NAT) mogą w istotny sposób zmniejszyć to ryzyko.^{25,26} Po wprowadzeniu badań NAT pozostałe ryzyko przeniesienia zakażenia podczas przetoczeń krwi na terenie Stanów Zjednoczonych wynosi 1:1,5 miliona w przypadku wirusa HIV-1, 1:1,2 miliona w przypadku wirusa HCV oraz 1:280 000–1:355 000 w przypadku wirusa HBV.^{27,28} Podobne wartości szacunkowe uzyskano w Niemczech, gdzie badania NAT wprowadzono w 1999 roku, co skutkowało uzyskaniem szacowanego pozostałego ryzyka przeniesienia zakażenia podczas przetoczeń krwi na poziomie 1:4,3 miliona, 1:10,9 miliona i 1:360 000 odpowiednio w przypadku wirusa HIV-1, HCV oraz HBV.²⁴ Dodatkowo w przypadku wirusa HBV badania NAT pozwalają na wykrycie dawców z utajonym zakażeniem wirusem HBV, w przebiegu którego obecne jest DNA wirusa HBV, jednak antygen HBsAg nie jest wykrywalny,²⁹ a także zaszczepionych dawców z subklinicznym zakażeniem.³⁰⁻³²

Objaśnienie testu

Test cobas® MPX to jakościowy test multipleksowy, który jest wykonywany z użyciem w systemach cobas® 5800/6800/8800. Test cobas® MPX umożliwia jednoczesne wykrycie i rozróżnienie RNA wirusa HIV, RNA wirusa HCV oraz DNA wirusa HBV, a także kontroli wewnętrznej w ramach jednego oznaczenia pojedynczej, zakażonej donacji lub puli osocza z poszczególnych donacji. Test nie umożliwia rozróżnienia pomiędzy wirusem HIV-1 grupy M, HIV-1 grupy O oraz HIV-2.

Zasady procedury

Test **cobas®** MPX opiera się na technologii reakcji PCR w czasie rzeczywistym na próbkach przygotowanych w sposób całkowicie zautomatyzowany (ekstrakcja i oczyszczanie kwasów nukleinowych), po czym przeprowadzana jest amplifikacja i detekcja podczas reakcji PCR. System **cobas®** 5800 składa się z jednego, zintegrowanego aparatu. **cobas®** 6800/8800 składa się z modułu podawania próbek, modułu transferu, modułu przetwarzania oraz modułu analitycznego. Automatyczne przetwarzanie danych prowadzone jest przez oprogramowanie systemu **cobas®** 5800 lub **cobas®** 6800/8800, które przypisuje wynik testu (próbka niereaktywna, próbka reaktywna, wynik nieważny) do wszystkich analiz. W przypadku korzystania z systemu **cobas®** 5800, do przeglądania wyników i drukowania raportów zaleca się użycie oprogramowania **cobas®** Synergy, które jest też wymagane do wysyłania wyników do Laboratoryjnego systemu zarządzania informacją (LIMS) lub innego systemu zarządzania wynikami. W przypadku korzystania z systemów **cobas®** 6800/8800 wyniki można analizować bezpośrednio na ekranie systemu, wydrukować w postaci raportu albo wysłać do Laboratoryjnego systemu zarządzania informacją (LIMS) lub innego systemu zarządzania wynikami.

Próbki można badać pojedynczo lub opcjonalnie w puli składającej się z wielu próbek.

W przypadku wykonywania badań w systemie **cobas®** 5800 użycie oprogramowania **cobas®** Synergy jest wymagane nawet, jeśli nie wykonuje się pulowania. Jeśli na etapie przedanalizycznym wykonuje się pulowanie, można użyć oprogramowania **cobas®** Synergy z urządzeniem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD.

W przypadku wykonywania badań w systemach **cobas®** 6800/8800, aparatu **cobas®** p 680 lub oprogramowania **cobas®** Synergy z urządzeniem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet można opcjonalnie użyć na etapie przedanalizycznym, gdy będzie wykonywane pulowanie.

Jednocześnie zachodzi ekstrakcja kwasu nukleinowego z próbki i dodanej kontroli wewnętrznej (IC) armored RNA (która służy jako kontrola procesów przygotowywania próbek i amplifikacji/detekcji). Dodatkowo w teście są wykorzystywane cztery kontrole zewnętrzne: trzy dodatnie i jedna ujemna. Wirusowy kwas nukleinowy jest uwalniany poprzez dodanie do próbki proteinazy i odczynnika lizującego. Uwolniony kwas nukleinowy wiąże się z silikonową powierzchnią dodanych szklanych cząstek magnetycznych. Niezwiązane substancje i zanieczyszczenia, takie jak zdenaturowane białka, pozostałości komórek i potencjalne inhibitory reakcji PCR (np. hemoglobina), są usuwane na kolejnych etapach z użyciem odczynnika płuczącego, a oczyszczony kwas nukleinowy jest następnie wymywany w podwyższonej temperaturze ze szklanych cząstek z użyciem buforu do elucji.

Wybiórcza amplifikacja docelowego kwasu nukleinowego z próbki dawcy jest możliwa poprzez zastosowanie swoistych dla wirusa starterów, przedniego (ang. *forward*) i wstecznego (ang. *reverse*), które są projektowane w obrębie wysoce konserwatywnych obszarów wirusowego kwasu nukleinowego. W przypadku HIV-1 grupa M amplifikowane są dwa regiony genomu wirusa (podwójne sekwencje docelowe). Do odwrotnej transkrypcji oraz amplifikacji wykorzystywana jest termostabilna polimeraza DNA. Odczynnik Master Mix zamiast trifosforanu deoksytymidyny (dTTP) zawiera trifosforan deoksyurydyny (dUTP), który wbudowywany jest do nowo syntetyzowanego DNA (amplikonu).^{33–35}

Jakiegokolwiek zanieczyszczające amplikony z poprzednich reakcji PCR są usuwane podczas podgrzewania w pierwszym etapie cyklu termicznego dzięki aktywności enzymu AmpErase (uracylo-N-glikozylazy), który znajduje się w mieszaninie Master Mix do reakcji PCR. Jednak nowo powstałe amplikony nie są eliminowane, gdyż enzym AmpErase jest inaktywowany w temperaturze przekraczającej 55°C.

Odczynnik Master Mix **cobas®** MPX zawiera sondy wykrywające, które są swoiste dla kwasów nukleinowych wirusa HIV-1 (grupy M oraz O), HIV-2, HCV, HBV i kontroli wewnętrznej. Dołączono sondy wykrywające dla każdej sekwencji docelowej HIV-1 grupy M, wraz z podwójnymi sondami dla HCV. Swoiste dla wirusa HIV, HCV, HBV oraz kontroli wewnętrznej sondy wykrywające są znakowane jednym z czterech unikalnych barwników fluorescencyjnych, pełniących

rolę barwnika reporterowego. Każda sonda jest również wyznakowana piątym barwnikiem pełniącym rolę wygaszacza. Fluorescencja czterech barwników reporterowych jest mierzona przy określonych długościach fali, co umożliwia równoczesną detekcję i rozróżnienie zamplifikowanych sekwencji docelowych wirusów HIV, HCV, HBV oraz kontroli wewnętrznej.^{36, 37} W przypadku niezwiązania z sekwencją docelową sygnał fluorescencyjny nienaruszonych sond jest tłumiony przez barwnik wygaszający. Podczas amplifikacji PCR hybrydyzacja sond do swoistych sekwencji jednoniciowej matrycy DNA powoduje rozszczepienie nici przez polimerazę DNA dzięki jej aktywności nukleolitycznej w kierunku 5' do 3', co powoduje rozdzielenie barwników reporterowych i wygaszających oraz wygenerowanie sygnału fluorescencyjnego. Z każdym cyklem PCR generowana jest zwiększająca się liczba rozszczepionych sond i jednocześnie wzrasta sumaryczny sygnał barwnika reporterowego. Ponieważ fluorescencja czterech swoistych barwników reporterowych jest mierzona przy określonych długościach fali, możliwa jest równoczesna detekcja i rozróżnienie zamplifikowanych sekwencji docelowych wirusów HIV, HCV, HBV oraz kontroli wewnętrznej.

Odczynniki i materiały

Odczynniki i kontrole do testu cobas® MPX

Wszystkie nieotwarte odczynniki i kontrole należy przechowywać zgodnie z zaleceniami, które zawierają tabele od Tabela 1 do Tabela 4.

Tabela 1 Test cobas® MPX

Test cobas® MPX Przechowywać w temperaturze 2–8°C Kaseta na 192 testów (P/N 09288538190) Kaseta na 480 testów (P/N 09040862190)			
Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw 192 testów	Ilość na zestaw 480 testów
Roztwór proteiny (PASE)	Bufor Tris, < 0,05% EDTA, chlorek wapnia, octan wapnia, 8% (udział wagowo-obj.) proteiny, glicerol EUH210: Karta charakterystyki dostępna na żądanie. EUH208: Zawiera subtylizynę z <i>Bacillus subtilis</i> . Może powodować wystąpienie reakcji alergicznej.	22,3 ml	38 ml
Kontrola wewnętrzna (IC)	Bufor Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% konstruktu kontroli wewnętrznej Armored RNA (niezakaźnego RNA w bakteriofagu MS2), < 0,002% poli-rA RNA (syntetycznego), < 0,1% azydku sodu	21,2 ml	38 ml
Bufor do elucji (EB)	Bufor Tris, 0,2% metylo-4-hydroksybenzoetan	21,2 ml	38 ml
Odczynnik MPX Master Mix 1 (MMX-R1)	Octan magnezu, wodorotlenek potasu, < 0,1% azydku sodu	7,5 ml	14,5 ml
Odczynnik MPX Master Mix 2 (MPX MMX-R2)	Bufor trycynowy, octan potasu, glicerol, 18% dimetylosulfotlenku, Tween 20, EDTA, < 0,06% dATP, dGTP, dCTP, < 0,14% dUTP, < 0,01% starterów sensownych i antysensownych dla wirusów HIV-1 z grupy M, HIV-1 z grupy O, HIV-2, HCV, HBV oraz kontroli wewnętrznej, < 0,01% znakowanych fluorescencyjnie sond dla wirusa HIV, HCV i HBV, < 0,01% znakowanej fluorescencyjnie sondy dla kontroli wewnętrznej, < 0,01% aptameru oligonukleotydowego, < 0,01% polimerazy DNA Z05D, < 0,01% enzymu AmpErase (uracylo-N-glikozylazy) (pochodzenia bakteryjnego), < 0,1% azydku sodu	9,7 ml	17,5 ml

Tabela 2 cobas® MPX Control Kit

cobas® MPX Control Kit

Przechowywać w temperaturze 2–8°C
(P/N 09040846190)

Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie*
Multipleksowa kontrola dodatnia MPX (MPX M (+) C)	< 0,001% syntetycznego RNA (Armored) wirusa HIV-1 grupy M opłaskzonego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, < 0,001% syntetycznego (Armored) RNA wirusa HCV opłaskzonego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, < 0,001% syntetycznego (plazmidowego) DNA wirusa HBV opłaskzonego białkiem kapsydowym bakteriofaga Lambda, prawidłowe osocze ludzkie niereaktywne w licencjonowanych testach na obecność przeciwciał przeciwko HCV, przeciwciał przeciwko HIV-1/2, antygenowi HBsAg, przeciwciał przeciwko HBc; RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV niewykrywalnego przy użyciu metod PCR 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**	4 ml (4 × 1 ml)	  OSTRZEŻENIE H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P272: Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wnosić poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Masa reakcyjna 5-chloro-2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu i 2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu (3:1).
Kontrola dodatnia MPX HIV-1 O (MPX O (+) C)	< 0,001% syntetycznego RNA (Armored) wirusa HIV-1 grupy O opłaskzonego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, prawidłowe osocze ludzkie niereaktywne w licencjonowanych testach na obecność przeciwciał przeciwko HCV, przeciwciał przeciwko HIV-1/2, antygenowi HBsAg, przeciwciał przeciwko HBc; RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV niewykrywalnego przy użyciu metod PCR 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**	4 ml (4 × 1 ml)	  OSTRZEŻENIE H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P272: Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wnosić poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Masa reakcyjna 5-chloro-2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu i 2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu (3:1).

Tabela 2 cobas® MPX Control Kit**cobas® MPX Control Kit**

Przechowywać w temperaturze 2–8°C
(P/N 09040846190)

Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie*
Kontrola dodatnia MPX HIV-2 (MPX 2 (+) C)	< 0,001% syntetycznego RNA (Armored) wirusa HIV-2 opłaszczonego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, prawidłowe osocze ludzkie niereaktywne w licencjonowanych testach na obecność przeciwciał przeciwko HCV, przeciwciał przeciwko HIV-1/2, antygenowi HBsAg, przeciwciał przeciwko HBc; RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV niewykrywalnego przy użyciu metod PCR 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**	4 ml (4 × 1 ml)	  OSTRZEŻENIE H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P272: Zanieczyszczoną odzież ochronnej nie wnosić poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Masa reakcyjna 5-chloro-2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu i 2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu (3:1).

* Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

** Substancja niebezpieczna.

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

Przechowywać w temperaturze 2–8°C

(P/N 09051554190)

Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie*
Kontrola ujemna z prawidłowego osocza ludzkiego (NHP-NC)	Prawidłowe osocze ludzkie niereaktywne w licencjonowanych testach na obecność przeciwciał przeciwko HCV, przeciwciał przeciwko HIV-1/2, antygenu HBsAg, przeciwciał przeciwko HBc; RNA wirusa HIV-1, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV niewykrywalnego przy użyciu metod PCR < 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	  OSTRZEŻENIE H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P272: Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wynosić poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Mieszanina: 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolino-3-on [WE nr 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazolo-3-on [WE nr 220-239-6] (3:1).

* Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

** Substancja niebezpieczna.

Odczynniki cobas® omni do przygotowywania próbek

Tabela 4 Odczynniki cobas® omni do przygotowywania próbek*

Odczynniki	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie**
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Przechowywać w 2–8°C (P/N 06997546190)	Szklane cząstki magnetyczne, bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesanu, < 0,1% azydku sodu	480 testów	Nie dotyczy
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Przechowywać w 2–8°C (P/N 06997511190)	Bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesanu, < 0,1% azydku sodu	4 × 875 ml	Nie dotyczy
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Przechowywać w 2–8°C (P/N 06997538190)	42,56% (udział wagowy) tiocyjanian guanidyny***, 5% (udział wagowo-obj.) polidokanol***, 2% (udział wagowo-obj.) ditiotreitol***, dwuwodny cytrynian sodu	4 × 875 ml	 NIEBEZPIECZEŃSTWO H302 + H332: Działa szkodliwie po połknięciu i w następstwie wdychania. H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. H411: Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. EUH032: W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy. P273: Unikać uwolnienia do środowiska. P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy/ochronę słuchu. P303 + P361 + P353 W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): natychmiast zdjąć całą skażoną odzież. Splukać skórę pod strumieniem wody. P304 + P340 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P305 + P351 + P338 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P391: Zebrać wyciek. 593-84-0 Tiocyjanian guanidyny 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diol
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Przechowywać w 15–30°C (P/N 06997503190)	Dwuwodny cytrynian sodu, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesan	4,2 l	Nie dotyczy

* Te odczynniki nie są dołączone do zestawu testu cobas® MPX. Należy zapoznać się z listą wymaganych materiałów dodatkowych (Tabela 10 + Tabela 12).

** Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

*** Substancja niebezpieczna.

Wymagania dotyczące przechowywania odczynników

Odczynniki należy przechowywać i użytkować zgodnie z informacjami, które zawiera Tabela 5, Tabela 6 i Tabela 7.

Jeśli odczynniki nie zostały umieszczone w systemach cobas® 5800/6800/8800, należy przechowywać je w odpowiedniej temperaturze, zgodnie z informacjami, które zawiera Tabela 5.

Tabela 5 Przechowywanie odczynników (umieszczonych poza systemem)

Odczynnik	Temperatura przechowywania
cobas® MPX -192	2–8°C
cobas® MPX - 480	2–8°C
cobas® MPX Control Kit	2–8°C
cobas® NHP Negative Control Kit	2–8°C
cobas® omni Lysis Reagent	2–8°C
cobas® omni MGP Reagent	2–8°C
cobas® omni Specimen Diluent	2–8°C
cobas® omni Wash Reagent	15–30°C

Wymagania dotyczące użytkowania systemu cobas® 5800

Odczynniki umieszczone w systemie cobas® 5800 przechowywane są w odpowiedniej temperaturze, a ich data przydatności do użycia monitorowana jest przez system. System umożliwia wykorzystanie odczynników tylko w przypadku spełnienia wszystkich warunków, które zawiera Tabela 6. System automatycznie uniemożliwia wykorzystanie przeterminowanych odczynników. Tabela 6 pozwala na zrozumienie warunków użytkowania odczynników wymuszanych przez system cobas® 5800.

Tabela 6 Warunki dotyczące daty ważności odczynników wymuszane przez system cobas® 5800

Odczynnik	Data ważności zestawu	Stabilność otwartego zestawu	Liczba przebiegów pracy, do których można wykorzystać zestaw	Stabilność na pokładzie aparatu
cobas® MPX - 192	Nieprzekroczona	90 dni od pierwszego użycia	Maksymalnie 40 przebiegów	Maks. 36 dni
cobas® MPX - 480	Nieprzekroczona	90 dni od pierwszego użycia	Maksymalnie 40 przebiegów	Maks. 36 dni
cobas® MPX Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy	Nie dotyczy	Maks. 36 dni
cobas® NHP Negative Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy	Nie dotyczy	Maks. 36 dni
cobas® omni Lysis Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas® omni MGP Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas® omni Specimen Diluent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas® omni Wash Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy

** Czas jest mierzony od umieszczenia po raz pierwszy odczynnika w systemie cobas® 5800.

Wymagania dotyczące użytkowania systemów cobas® 6800/8800

Odczynniki umieszczone w systemach cobas® 6800/8800 przechowywane są w odpowiedniej temperaturze, a ich data przydatności do użycia monitorowana jest przez system. System umożliwia wykorzystanie odczynników tylko w przypadku spełnienia wszystkich warunków, które zawiera Tabela 7. System automatycznie uniemożliwia wykorzystanie przeterminowanych odczynników. Tabela 7 pozwala na zrozumienie wymuszonych przez systemy cobas® 6800/8800 warunków użytkowania odczynników.

Tabela 7 Warunki dotyczące daty ważności odczynników wymuszane przez systemy cobas® 6800/8800

Odczynnik	Data ważności zestawu	Stabilność otwartego zestawu	Liczba przebiegów pracy, do których można wykorzystać zestaw	Stabilność na pokładzie aparatu (łącznie czas w aparacie poza chłodziarką)
cobas® MPX – 192	Nieprzekroczona	90 dni od pierwszego użycia	Maksymalnie 30 przebiegów	Maksymalnie 40 godzin
cobas® MPX – 480	Nieprzekroczona	90 dni od pierwszego użycia	Maksymalnie 20 przebiegów	Maksymalnie 20 godzin
cobas® MPX Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy*	Nie dotyczy	Maksymalnie 8 godzin
cobas® NHP Negative Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy*	Nie dotyczy	Maksymalnie 10 godzin
cobas® omni Lysis Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas® omni MGP Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas® omni Specimen Diluent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas® omni Wash Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy

* Odczynniki do jednorazowego użycia.

** Czas jest mierzony od umieszczenia po raz pierwszy odczynnika w systemach cobas® 6800/8800.

Materiały dodatkowe wymagane dla systemu cobas® 5800

Tabela 8 Materiały i materiały zużywalne do użytku z systemem **cobas® 5800**

Materiał	P/N
cobas® omni Processing Plate 24	08413975001
cobas® omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas® omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Końcówki CORE TIPS z filtrem, 1 ml	04639642001
Końcówki CORE TIPS z filtrem, 300 µl	07345607001
cobas® omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Worek na odpady stałe lub Worek na odpady stałe z wkładką	07435967001 lub 08030073001

Materiały dodatkowe wymagane do systemów cobas® 6800/8800

Tabela 9 Materiały i materiały zużywalne do użytku z systemami **cobas® 6800/8800**

Materiał	P/N
cobas® omni Processing Plate	05534917001
cobas® omni Amplification Plate	05534941001
cobas® omni Pipette Tips	05534925001
cobas® omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Worek na odpady stałe lub Worek na odpady stałe z wkładką	07435967001 lub 08030073001
Pojemnik na odpady stałe	07094361001

Wymagane urządzenia i oprogramowanie

W systemie **cobas® 5800** należy zainstalować pakiet oprogramowania do analizy **cobas® MPX** dla systemu **cobas® 5800**. Z systemem zostanie dostarczone oprogramowanie x800 Data Manager dla systemu **cobas® 5800**. Należy zainstalować oprogramowanie **cobas® Synergy**.

Na aparacie(-tach) należy zainstalować oprogramowanie **cobas® 6800/8800** oraz pakiet oprogramowania do analizy **cobas® MPX**. Z systemem dostarczany jest serwer Instrument Gateway (IG). W razie potrzeby należy zainstalować oprogramowanie **cobas® Synergy**.

Tabela 10 Urządzenia

Wyposażenie	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System (opcja, na ruchomej platformie)	05524245001 i 06379672001
cobas® 6800 System (nieruchomy)	05524245001 i 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Moduł dostarczania próbek dla systemów cobas® 6800/8800	06301037001
Licencja elektroniczna oprogramowania cobas® Synergy (dla systemu cobas® 5800)	09311246001
Opcje pipetowania i pulowania	P/N
Aparat cobas® p 680 (dla systemów cobas® 6800/8800)	06570577001
Licencja elektroniczna oprogramowania cobas® Synergy z kluczem sprzętowym (systemy cobas® 6800/8800)	09311238001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001
Hamilton MICROLAB® STARlet IVD	04872649001

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z asystentem użytkownika systemu **cobas® 5800** lub asystentem użytkownika systemów **cobas® 6800/8800**. Dodatkowe informacje dotyczące pierwotnych i wtórnych probówek akceptowanych przez aparaty zawiera asystent użytkownika aparatu **cobas® p 680** lub asystent użytkownika oprogramowania **cobas® Synergy**.

Uwaga: szczegółową listę zamówień na statywy próbkowe, statywy na niedrożne końcówki i tace na statywy akceptowane przez aparaty można uzyskać po skontaktowaniu się z przedstawicielem serwisu Roche.

Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania

Ostrzeżenia i środki ostrożności

Podobnie jak w przypadku każdej procedury testowej, dla prawidłowego przeprowadzenia badania kluczowe znaczenie ma zachowanie zasad dobrej praktyki laboratoryjnej. Z uwagi na wysoką czułość niniejszego testu podczas użytkowania odczynników oraz mieszanin do amplifikacji należy zachować szczególną ostrożność, aby zapobiec zanieczyszczeniu.

- Do stosowania wyłącznie w diagnostyce *in vitro*.
- Ze wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak jak z materiałem zakaźnym, stosując procedury dobrej praktyki laboratoryjnej, takie jak określone w dokumentach Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories oraz CLSI Document M29-A4.^{38,39} Procedurę tę może wykonywać wyłącznie personel biegły w obchodzeniu się z materiałem zakaźnym i użytkowaniu testu **cobas® MPX**, systemów **cobas® 5800/6800/8800** oraz aparatu **cobas® p 680** (dla systemów **cobas® 6800/8800**) lub urządzenia Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD z oprogramowaniem **cobas® Synergy** (jeśli ma to zastosowanie).
- Wszystkie materiały pochodzenia ludzkiego należy uważać za potencjalnie zakaźne i postępować z nimi z zastosowaniem ogólnych środków ostrożności. W przypadku rozlania materiału należy natychmiast odkazić świeżo przygotowanym 0,6% roztworem podchlorynu sodu w destylowanej lub dejonizowanej wodzie lub postępować zgodnie z procedurami przyjętymi w danym ośrodku.
- **cobas® MPX Control Kit** oraz **cobas® NHP Negative Control Kit** zawierają osocze uzyskane z krwi ludzkiej. Materiał źródłowy był badany z wykorzystaniem licencjonowanych testów z użyciem przeciwciał i nie wykazywał obecności przeciwciał przeciwko wirusom HCV, HIV-1/2, antygenowi HBsAg ani przeciwciał przeciwko antygenowi HBc. Badanie prawidłowego osocza ludzkiego z użyciem metod PCR również nie wykazało obecności RNA wirusa HIV-1 (grup M i O), RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV ani DNA wirusa HBV. Żadna ze znanych metod badania nie może zaoferować całkowitej pewności, że produkty otrzymane z ludzkiej krwi nie będą przenosić czynników zakaźnych.
- Nie zamrażać krwi pełnej.
- Zaleca się używanie jałowych jednorazowych pipet oraz końcówek pipet wolnych od nukleazy. W celu zagwarantowania optymalnego działania testu należy stosować wyłącznie dostarczone lub wymienione potrzebne materiały zużywalne.
- Ściśle przestrzegać podanych procedur i wytycznych w celu zapewnienia prawidłowego wykonania testu. Wszelkie odchylenia od procedur i wytycznych mogą mieć wpływ na optymalną skuteczność testu.
- Odsetek nieważnych wyników może wzrosnąć w przypadku naruszenia powierzchni styku warstwy komórek i osocza lub w przypadku dyfuzji materiału po odwirowaniu.
- Jeżeli w trakcie pracy z próbkami i na etapie ich przygotowywania nie stosuje się odpowiedniej kontroli kontaminacji pomiędzy próbkami, może dojść do uzyskania fałszywie dodatnich wyników.
- Należy poinformować lokalny właściwy organ oraz producenta o wszelkich poważnych zdarzeniach, które mogą wystąpić podczas stosowania tego testu.

Użytkowanie odczynników

- Aby uniknąć zanieczyszczenia pomiędzy próbkami lub kontrolami, ze wszystkimi odczynnikami, kontrolami i próbkami należy postępować zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej.
- Przed użyciem należy ocenić wzrokowo każdą kasetę odczynnikową, rozcieńczalnik, odczynnik do lizy i odczynnik płuczący, aby upewnić się, że nie ma jakiegokolwiek wycieku. W razie wystąpienia wycieku nie wolno używać tego materiału do badania.
- **cobas® omni** Lysis Reagent zawiera izotiocyanian guanidyny, potencjalnie niebezpieczną substancję chemiczną. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia.
- Zestawy testu **cobas® MPX**, **cobas® omni** MGP Reagent oraz **cobas® omni** Specimen Diluent zawierają azcydek sodu jako substancję konserwującą. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia. Jeżeli dojdzie do rozlania wymienionych odczynników, przed wytarciem należy rozcieńczyć je wodą.
- Nie wolno dopuszczać do kontaktu **cobas® omni** Lysis Reagent, zawierającego tiocyanian guanidyny, z roztworem podchlorynu sodu (wybielaczem). Połączenie to może skutkować wytworzeniem silnie trującego gazu.
- Karty charakterystyki są dostępne na żądanie w lokalnym przedstawicielstwie firmy Roche.
- Wszystkie materiały, które przypadkowo weszły w kontakt z próbkami i odczynnikami, należy utylizować zgodnie z przepisami krajowymi i lokalnymi.

Dobra praktyka laboratoryjna

- Nie należy pipetować za pomocą ust.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić tytoniu w obszarach roboczych.
- Podczas pracy z próbkami i odczynnikami należy nosić rękawiczki laboratoryjne, fartuch oraz osłonę oczu. W celu uniknięcia zanieczyszczenia należy zmieniać rękawice pomiędzy obchodzeniem się z próbkami i użytkowaniem zestawów testów **cobas® MPX** oraz odczynników **cobas® omni**. Podczas pracy z próbkami i kontrolami należy unikać zanieczyszczenia rękawiczek.
- Po zakończeniu pracy z próbkami i zestawami odczynnikowymi oraz po zdjęciu rękawiczek należy dokładnie umyć ręce.
- Dokładnie oczyścić i odkazić wszystkie laboratoryjne powierzchnie robocze świeżo przygotowanym roztworem 0,6% podchlorynu sodu w wodzie dejonizowanej lub destylowanej. Następnie przetrzeć powierzchnię 70% etanolem.
- Jeśli na powierzchni aparatu **cobas® 5800** dojdzie do rozlania płynu, należy postępować zgodnie z instrukcjami zamieszczonymi w asystencie użytkownika systemu **cobas® 5800** w celu prawidłowego wyczyszczenia i odkażenia powierzchni aparatu(-ów).
- Jeśli dojdzie do rozlania płynu na powierzchni aparatu **cobas® 6800/8800**, należy postępować zgodnie z instrukcjami zamieszczonymi w asystencie użytkownika systemu **cobas® 6800/8800** w celu prawidłowego wyczyszczenia i odkażenia powierzchni aparatu(-ów).

Pobieranie, transport, przechowywanie i pulowanie próbek

Uwaga: ze wszystkimi próbkami należy obchodzić się jak z materiałem potencjalnie zakaźnym.

Wszystkie próbki dawców należy przechowywać w określonych temperaturach.

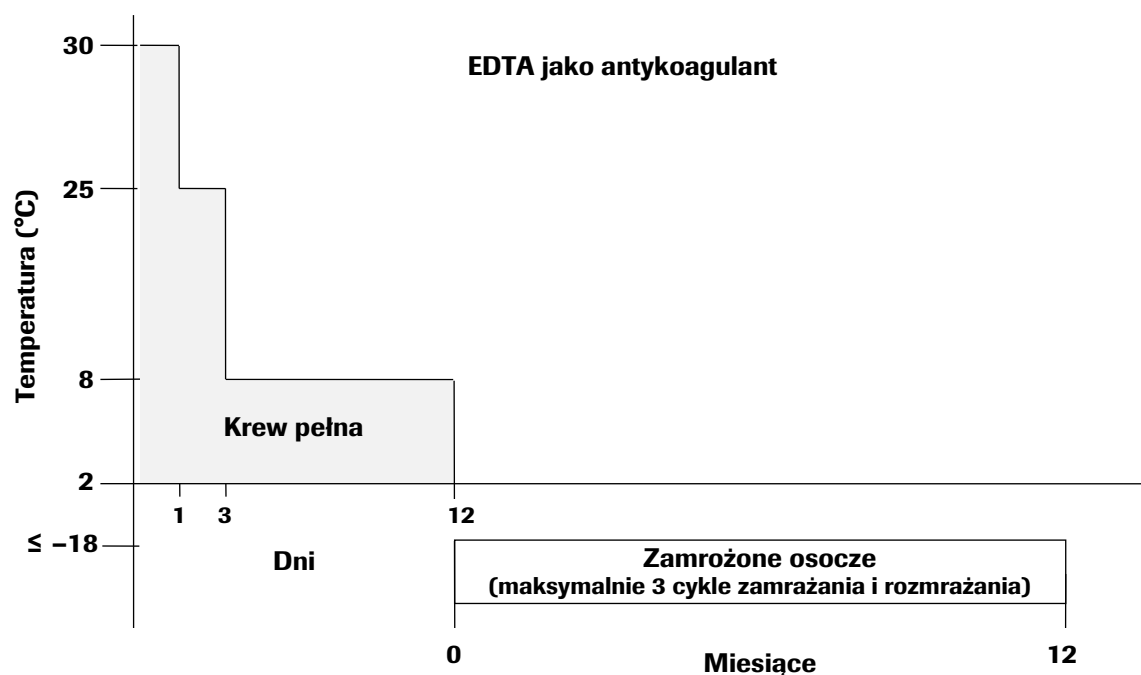
Podwyższona temperatura wpływa na stabilność próbek.

- Zaleca się, aby próbki surowicy były oznaczane w ciągu 8 godzin od odwirowania przy $1600 \times g$ przez 20 minut lub w ciągu 24 godzin od odwirowania przy wysokiej prędkości (np. $2600 \times g$ przez 20 minut).

Próbki krwi pochodzące od dawców żyjących

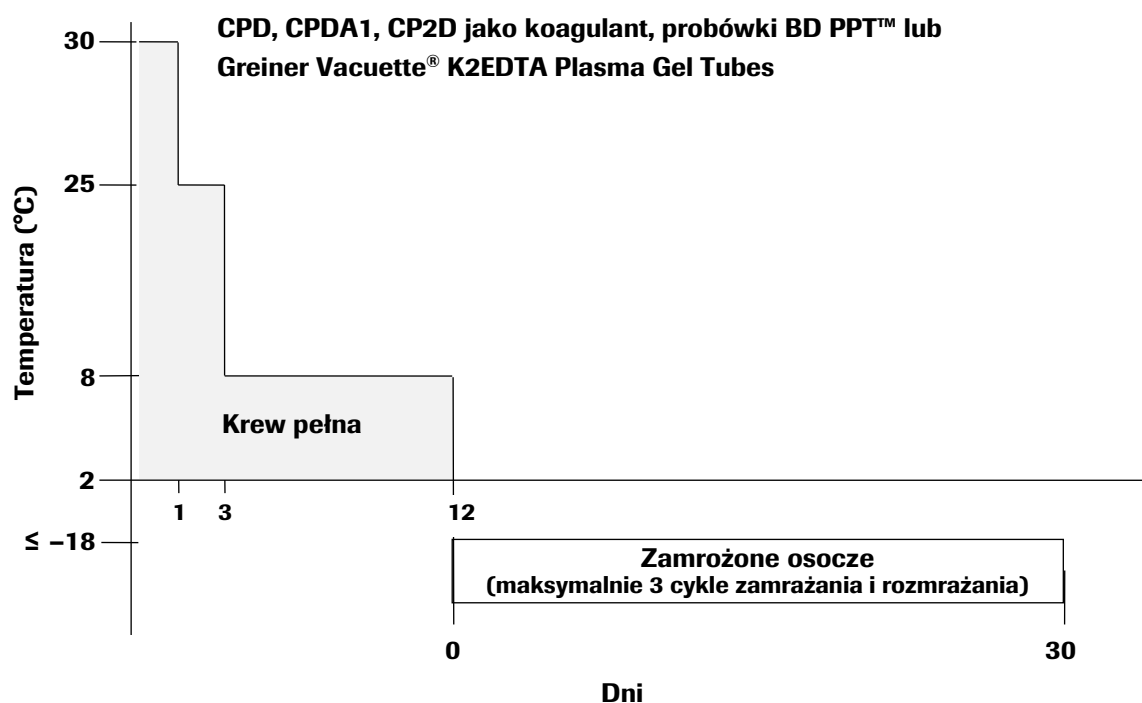
- W teście cobas® MPX można wykorzystać osocze pobrane na EDTA, CPD, CPDA1, CP2D oraz 4% cytrynian sodu jako antykoagulant oraz surowicę pobraną do próbek z aktywatorem krzepnięcia. Należy postępować zgodnie z instrukcjami producenta próbki/worka do pobierania próbek podczas ich używania i wirowania.
- Krew pobrana na EDTA, w próbkach Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) lub Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tubes może być poddana dodatkowemu wirowaniu przy $600 \times g$ przez 5 minut przed załadowaniem, opcjonalnym pulowaniem lub ponownym badaniem.
- Probki krwi pobrane do próbek zawierających EDTA jako antykoagulant można przechowywać przez maksymalnie 12 dni w temperaturze w następujących warunkach:
 - Probki należy odwirować w ciągu 72 godzin po pobraniu.
 - W przypadku przechowywania w temperaturze powyżej 8°C próbki można przechowywać przez 72 godziny w temperaturze nieprzekraczającej 25°C i przez 24 godziny w okresie 72 godzin w temperaturze nieprzekraczającej 30°C.

W innych niż opisane sytuacjach próbki przechowuje się w temperaturze 2–8°C. Dodatkowo osocze oddzielone od elementów morfotycznych można przechowywać przez maksymalnie 12 miesięcy w temperaturze $\leq -18^{\circ}\text{C}$ z trzema cyklami zamrażania/rozmrężania. Patrz Rys. 1.

Rys. 1 Warunki przechowywania próbek pochodzących od dawców żyjących w antykoagulancie EDTA

- Krew pobraną na CPD, CPDA1, CP2D jako antykoagulant, do probówek EDTA Plasma Preparation Tubes firmy Becton-Dickinson (BD PPT™) lub Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tubes można przechowywać przez maksymalnie 12 dni w następujących warunkach:
 - Próbki należy odwirować w ciągu 72 godzin po pobraniu.
 - W przypadku przechowywania w temperaturze powyżej 8°C próbki można przechowywać przez 72 godziny w temperaturze nieprzekraczającej 25°C i przez 24 godziny w okresie 72 godzin w temperaturze nieprzekraczającej 30°C.

W innych niż opisane sytuacjach próbki przechowuje się w temperaturze 2–8°C. Dodatkowo osocze oddzielone od elementów morfotycznych można przechowywać przez maksymalnie 30 dni w temperaturze $\leq -18^{\circ}\text{C}$ z trzema cyklami zamrażania/rozmarzania. Patrz Rys. 2.

Rys. 2 Warunki przechowywania próbek pochodzących od dawców żyjących

- Krew pobraną do probówek z aktywatorem krzepnięcia można przechowywać przez maksymalnie 7 dni w temperaturze 2–8°C w następujących warunkach:
 - Próbkę należy odwirować w ciągu 72 godzin po pobraniu.
 - W przypadku przechowywania w temperaturze powyżej 8°C próbki można przechowywać przez 72 godziny w temperaturze nieprzekraczającej 25°C i przez 24 godziny w okresie 72 godzin w temperaturze nieprzekraczającej 30°C.

W innych niż opisane sytuacjach próbki przechowuje się w temperaturze 2–8°C. Dodatkowo surowicę oddzieloną od elementów morfotycznych można przechowywać przez maksymalnie 30 dni w temperaturze ≤ –18°C z trzema cyklami zamrażania/rozmrażania.

- Osocze pobrane do probówek zawierających 4% cytrynian sodu jako antykoagulant można przechowywać przez maksymalnie 30 dni w temperaturze 2–8°C w następujących warunkach:
 - W przypadku przechowywania w temperaturze powyżej 8°C próbki można przechowywać przez 72 godziny w temperaturze nieprzekraczającej 25°C i przez 24 godziny w okresie 72 godzin w temperaturze nieprzekraczającej 30°C.

Ponadto osocze pobrane do probówek zawierających 4% cytrynian sodu jako antykoagulant można przechowywać przez maksymalnie 12 miesięcy w temperaturze ≤ –18°C z dwoma cyklami zamrażania/rozmrażania lub

- Osocze pobrane do probówek zawierających 4% cytrynian sodu jako antykoagulant można przechowywać przez maksymalnie 18 dni w temperaturze 2–8°C w następujących warunkach:
 - W przypadku przechowywania w temperaturze powyżej 8°C próbki można przechowywać przez 72 godziny w temperaturze nieprzekraczającej 25°C i przez 24 godziny w okresie 72 godzin w temperaturze nieprzekraczającej 30°C.

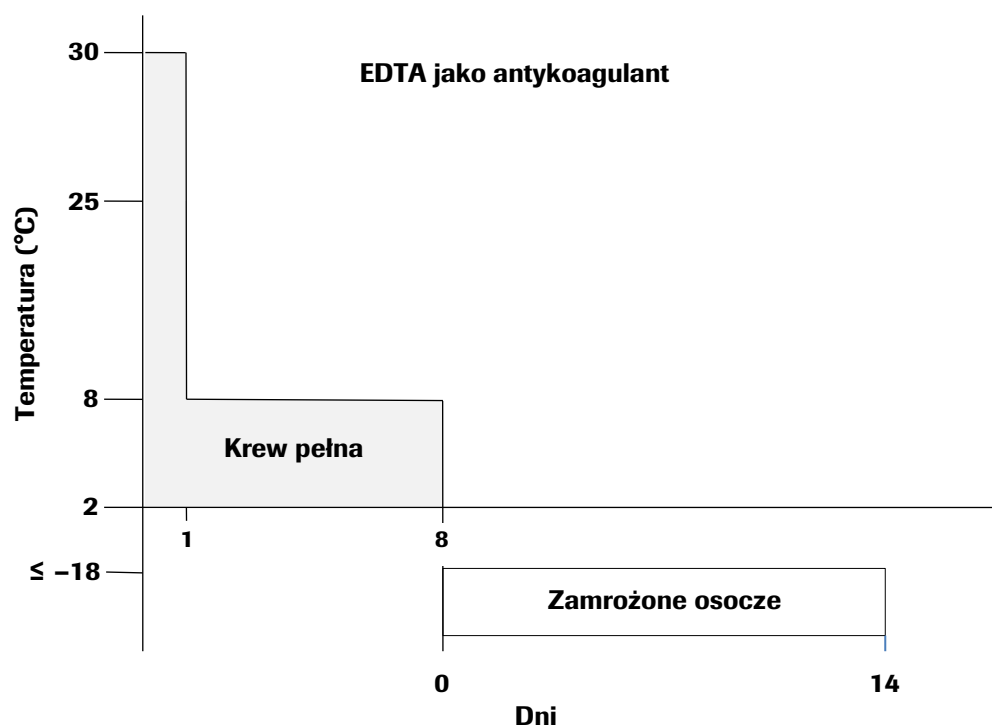
Ponadto osocze pobrane do probówek zawierających 4% cytrynian sodu jako antykoagulant można przechowywać przez maksymalnie 12 miesięcy w temperaturze ≤ –18°C z trzema cyklami zamrażania/rozmrażania.

Próbki krwi od dawców nieżyjących

- W teście cobas® MPX można wykorzystać próbki krwi pochodzące od dawców nieżyjących pobrane do probówek z EDTA jako antykoagulantem i (lub) probówek z aktywatorem krzepnięcia. Należy postępować zgodnie z instrukcjami producenta probówki/worka do pobierania próbek podczas ich używania i wirowania.
- Probki krwi od dawców nieżyjących pobrane do probówek zawierających EDTA jako antykoagulant można przechowywać przez maksymalnie 8 dni w temperaturze 2–8°C w następujących warunkach:
 - Probki należy odwirować w ciągu 72 godzin po pobraniu.
 - W przypadku przechowywania w temperaturze powyżej 8°C próbki można przechowywać w temperaturze nieprzekraczającej 30°C przez 24 godziny w okresie 72 godzin.

W innych niż opisane sytuacjach próbki osocza od dawców nieżyjących pobrane na EDTA i oddzielone od elementów morfotycznych można przechowywać przez maksymalnie 14 dni w temperaturze $\leq -18^{\circ}\text{C}$. Patrz Rys. 3.

Rys. 3 Warunki przechowywania próbek pochodzących od dawców nieżyjących



- Probki krwi pobrane od dawców nieżyjących do probówek z aktywatorem krzepnięcia można przechowywać przez maksymalnie 5 dni w temperaturze 2–8°C w następujących warunkach:
 - Probki należy odwirować w ciągu 72 godzin po pobraniu.
 - W przypadku przechowywania w temperaturze powyżej 8°C próbki można przechowywać przez 24 godziny w temperaturze nieprzekraczającej 30°C w okresie 72 godzin.
- Jeśli próbki od dawców żyjących i (lub) nieżyjących mają być przesyłane, należy je opakować i oznaczyć zgodnie z odpowiednimi krajowymi i (lub) międzynarodowymi przepisami dotyczącymi transportu próbek oraz czynników etiologicznych.

Instrukcja obsługi

Automatyczne pipetowanie i pulowanie próbek (opcjonalne)

Z urządzeniem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD można użyć aparatu **cobas® p 680** lub oprogramowania **cobas® Synergy** jako opcjonalnego elementu systemów **cobas® 6800/8800** do automatycznego pipetowania i pulowania porcji wielu próbek pierwotnych w celu uzyskania próbki spulowanej.

Oprogramowanie **cobas® Synergy** z urządzeniem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD należy stosować jako akcesorium do systemów **cobas® 5800** do automatycznego pipetowania i pulowania porcji wielu próbek pierwotnych w celu uzyskania próbki spulowanej.

Więcej informacji można znaleźć w asystencie użytkownika aparatu **cobas® p 680** lub oprogramowania **cobas® Synergy**.

Uwagi dotyczące wykonania testu

- Nie należy używać odczynników testu **cobas® MPX**, **cobas® MPX Control Kit**, **cobas® NHP Negative Control Kit** i odczynników **cobas® omni** po upływie ich daty ważności.
- Nie wykorzystywać ponownie materiałów zużywalnych. Są one przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku.
- Informacje na temat właściwej konserwacji aparatów, patrz asystent użytkownika systemu **cobas® 5800**.
- Informacje na temat właściwej konserwacji aparatów, patrz asystent użytkownika systemów **cobas® 6800/8800**.

Wykonanie testu cobas® MPX w systemie cobas® 5800

Procedurę wykonywania testu opisano szczegółowo w asystencie użytkownika systemu **cobas® 5800**. Na Rys. 4 podsumowano tę procedurę. Szczegółowe informacje na temat opcjonalnych procedur dotyczących pulowania, patrz asystent użytkownika oprogramowania **cobas® Synergy**.

Rys. 4 Procedura testu **cobas® MPX** w systemie **cobas® 5800**

1	Pipetowanie i pulowanie
2	Ładowanie statywów z próbkami do systemu: • Załaduj statywy z próbkami do systemu • Zleć testy ręcznie, jeśli brak zleceń z systemu LIS
3	Po poproszeniu przez system uzupełnij odczynniki i materiały zużywalne przez system: • Załaduj swoistą dla testu kasetę (kasety) na odczynniki • Załaduj mini statywy z kontrolami • Załaduj końcówki do przetwarzania • Załaduj końcówki do elucji • Załaduj płytki do przetwarzania • Załaduj płytki na odpady płynne • Załaduj płytki amplifikacyjne • Załaduj kasetę MGP • Uzupełnij rozcieńczalnik próbki • Uzupełnij odczynnik lizujący • Uzupełnij odczynnik płuczący
4	Rozpocznij przebieg, wybierając ręcznie przycisk Start w interfejsie użytkownika. Wszystkie kolejne przebiegi rozpoczną się automatycznie, o ile nie zostaną ręcznie odłożone.
5	Przeanalizowanie wyników.
6	Wyjmij próbówki próbkowe. Oczyść aparat: • Opróżnij kasety na odczynniki • Opróżnij mini statywy z kontrolami • Opróżnij szufladę na płytki amplifikacyjne • Usuń odpady płynne • Usuń odpady stałe

Wykonanie testu cobas® MPX w systemach cobas® 6800/8800

Procedura testu jest szczegółowo opisana w asystencie użytkownika systemów cobas® 6800/8800. Szczegóły opcjonalnych procedur pulowania, patrz podręcznik operatora aparatu cobas® p 680 lub asystent użytkownika oprogramowania cobas® Synergy. Na Rys. 5 podsumowano tę procedurę.

Rys. 5 Procedura testu cobas® MPX w systemach cobas® 6800/8800

1	Pipetowanie i pulowanie
2	Utworzenie zlecenia
3	Po poproszeniu przez system uzupełnij odczynniki i materiały zużywalne przez system: • Uzupełnij odczynnik płuczący, odczynnik do lizy oraz rozcieńczalnik • Uzupełnij płytki do przetwarzania oraz płytki amplifikacyjne • Uzupełnij szklane cząstki magnetyczne • Uzupełnij odczynniki specyficzne dla testu • Uzupełnij kasety z kontrolami • Uzupełnij statywy na końcówki • Wymień statyw na niedrożne końcówki
4	Rozpoczęcie przebiegu: • Umieść statyw z próbkami • Wybierz przycisk rozpoczęcia w interfejsie
5	Sprawdź i wyeksportuj wyniki
6	Wyładowanie materiałów zużywalnych: • Wyjmij płytki do amplifikacji z modułu analitycznego • Wyjmij puste kasety z kontrolami • Usuń odpady stałe • Usuń odpady płynne

Wyniki

Systemy cobas® 5800 i cobas® 6800/8800 automatycznie wykrywają i rozróżniają RNA wirusa HIV, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV równocześnie w próbkach i kontrolach.

Kontrola jakości i ważność wyników w systemie cobas® 5800

System cobas® 5800 zostanie dostarczony z domyślnymi ustawieniami oznaczania zestawu kontroli (dodatnich i ujemnych) z każdym przebiegiem, ale można go skonfigurować do rzadszego wykonywania kontroli, w zależności od procedur laboratorium i/lub miejscowych przepisów. W tym celu należy skontaktować się z pomocą techniczną firmy Roche lub zmianę może wykonać pracownik serwisu firmy Roche.

- Jedna kontrola ujemna [(-) C] i trzy kontrole dodatnie [MPX M (+) C, MPX O (+) C oraz MPX 2 (+) C] przetwarzane są przynajmniej co 24 godziny lub z każdą nową serią zestawu.
- W celu zagwarantowania ważności kontroli należy sprawdzić w systemie cobas® 5800 i/lub w raporcie obecność flag oraz powiązane z nimi wyniki.
- Powiązane próbki są ważne, jeśli nie ma oflagowań dla wszystkich czterech kontroli.

Wyniki są unieważniane automatycznie przez system cobas® 5800 na podstawie uzyskania niepomysłnych wyników kontroli ujemnej lub kontroli dodatniej.

Wyniki kontroli w systemie cobas® 5800

Wyniki kontroli przedstawia aplikacja „Controls” oprogramowania cobas® 5800.

- Kontrole oznaczone są „Valid” (Ważne) w kolumnie „Control result” (Wynik kontroli), jeśli wszystkie sekwencje docelowe kontroli zostały zgłoszone jako ważne. Kontrole oznaczone są „Invalid” (Nieważne) w kolumnie „Control result”, jeśli jedna lub wszystkie sekwencje docelowe kontroli zostały zgłoszone jako nieważne.
- Kontrole oznaczone jako „Invalid” w kolumnie „Flags” (Flagi) oznaczone są flagą. Więcej informacji na temat powodu zgłoszenia kontroli jako nieważnej, włącznie z informacją o fladze, dostępnych będzie w widoku szczegółowym.
- Jeśli nieważna jest jedna z kontroli dodatnich, należy powtórzyć oznaczenie wszystkich kontroli dodatnich i powiązanych z nimi próbek. Jeśli nieważna jest kontrola ujemna, należy powtórzyć oznaczenie wszystkich kontroli i powiązanych z nimi próbek.

Tabela 11 Oflagowania kontroli ujemnych i dodatnich w systemie cobas® 5800

Kontrola ujemna	Oflagowanie	Wynik kontroli	Interpretacja
(-) C	Wyświetlana jest flaga	Invalid	Cała partia zostanie unieważniona, jeśli wynik dla kontroli (-) C będzie nieważny.
Kontrola dodatnia	Oflagowanie	Wynik kontroli	Interpretacja
MPX M (+) C	Wyświetlana jest flaga	Invalid	Cała partia zostanie unieważniona, jeśli wynik dla kontroli MPX M (+) C będzie nieważny.
MPX O (+) C	Wyświetlana jest flaga	Invalid	Cała partia zostanie unieważniona, jeśli wynik dla kontroli MPX O (+) C będzie nieważny.
MPX 2 (+) C	Wyświetlana jest flaga	Invalid	Cała partia zostanie unieważniona, jeśli wynik dla kontroli MPX 2 (+) C będzie nieważny.

Kontrola jakości i ważność wyników w systemach cobas® 6800/8800

- W każdej partii przetwarzana jest jedna kontrola ujemna [(-) C] i trzy kontrole dodatnie [MPX M (+) C, MPX O (+) C oraz MPX 2 (+) C].
- W celu zagwarantowania ważności partii należy sprawdzić w oprogramowaniu cobas® 6800/8800 i/lub w raporcie obecność flag oraz powiązane z nimi wyniki.
- Partia jest ważna, jeśli nie ma oflagowań dla wszystkich czterech kontroli.

Wyniki zostaną automatycznie unieważnione przez oprogramowanie cobas® 6800/8800 na podstawie uzyskania niepomysłnych wyników kontroli ujemnej i kontroli dodatnich.

Oflagowanie kontroli w systemach cobas® 6800/8800

Tabela 12 Oflagowania kontroli ujemnej i kontroli dodatnich

Kontrola ujemna	Oflagowanie	Wynik	Interpretacja
(-) C	Q02	Invalid	Cała partia zostanie unieważniona, jeśli wynik dla kontroli (-) C będzie nieważny.
Kontrola dodatnia	Oflagowanie	Wynik	Interpretacja
MPX M (+) C	Q02	Invalid	Cała partia zostanie unieważniona, jeśli wynik dla kontroli MPX M (+) C będzie nieważny.
MPX O (+) C	Q02	Invalid	Cała partia zostanie unieważniona, jeśli wynik dla kontroli MPX O (+) C będzie nieważny.
MPX 2 (+) C	Q02	Invalid	Cała partia zostanie unieważniona, jeśli wynik dla kontroli MPX 2 (+) C będzie nieważny.

Jeśli partia zostanie unieważniona, należy powtórzyć badanie całej partii z uwzględnieniem próbek i kontroli.

Interpretacja wyników

W przypadku ważnej partii kontroli należy sprawdzić w oprogramowaniu systemów **cobas®** 5800/6800/8800 i/lub raportach poszczególne próbki pod kątem obecności flag. Wyniki należy interpretować w następujący sposób:

- Ważna partia może zawierać ważne i nieważne wyniki próbek dawców w zależności od oflagowań uzyskanych w przypadku poszczególnych próbek.
- Wyniki próbek są ważne jedynie wtedy, gdy odpowiednie kontrole dodatnie oraz kontrola ujemna danej partii dały ważny wynik.

Dla każdej próbki mierzone są jednocześnie cztery parametry: HIV, HCV, HBV oraz kontrola wewnętrzna. Ostateczne wyniki testu **cobas®** MPX dla próbek są przedstawiane przez oprogramowanie. W systemach **cobas®** 5800/6800/8800 zostaną wyświetlone wyniki poszczególnych materiałów docelowych, które należy interpretować w następujący sposób:

Tabela 13 Interpretacja wyników dla poszczególnych targetów

Wyniki targetu	Interpretacja
HIV Non-Reactive	Nie wykryto sygnału materiału docelowego dla wirusa HIV przy obecności sygnału kontroli wewnętrznej.
HIV Reactive	Wykryto sygnał materiału docelowego dla wirusa HIV przy obecności lub braku sygnału kontroli wewnętrznej.
HCV Non-Reactive	Nie wykryto sygnału materiału docelowego dla wirusa HCV przy obecności sygnału kontroli wewnętrznej.
HCV Reactive	Wykryto sygnał materiału docelowego dla wirusa HCV przy obecności lub braku sygnału kontroli wewnętrznej.
HBV Non-Reactive	Nie wykryto sygnału materiału docelowego dla wirusa HBV przy obecności sygnału kontroli wewnętrznej.
HBV Reactive	Wykryto sygnał materiału docelowego dla wirusa HBV przy obecności lub braku sygnału kontroli wewnętrznej.
Invalid	Nie wykryto sygnału targetu ani kontroli wewnętrznej.

W przypadku korzystania z oprogramowania **cobas® Synergy** z wynikiem końcowym obliczenia należy zapoznać się przez oprogramowanie **cobas® Synergy**.

Dodatkowe informacje dotyczące interpretacji wyników w systemie **cobas®** 5800

Wyniki próbek wyświetlane są w systemie **cobas®** 5800. Zaleca się przegląd wyników w oprogramowaniu **cobas® Synergy**.

- Próbki powiązane z ważną partią kontroli (zgodnie z definicją w konfiguracji systemu) wyświetlane są jako „Valid” (Ważne) w kolumnie „Control result” (Wynik kontroli). Próbki powiązane z błędną partią kontroli wyświetlane są jako „Invalid” (Nieważne) w kolumnie „Control result”.
- Jeśli powiązane kontrole wyniku próbki są nieważne, do wyniku próbki zostanie dodana określona flaga:
 - Q05D: niepowodzenie weryfikacji wyniku z powodu nieważnej kontroli dodatniej
 - Q06D: niepowodzenie weryfikacji wyniku z powodu nieważnej kontroli ujemnej
- Wartości w kolumnie „Results” (Wyniki) dla poszczególnych wyników docelowych próbek powinny być interpretowane zgodnie z tym, co przedstawia Tabela 13 powyżej.
 - System **cobas®** 5800 wyświetli wyniki poszczególnych materiałów docelowych. Wynik ogólny zostanie wyświetlony tylko w widoku wyniku oprogramowania **cobas® Synergy**.
 - Więcej szczegółowych informacji dotyczących wyników próbek i flag, patrz asystent użytkownika systemu **cobas®** 5800.

Powtarzanie testu dla poszczególnych próbek

Próbki z końcowym wynikiem nieważnym dla jednego z materiałów docelowych wymagają powtórzenia testu niezależnie od uzyskania wyników ważnych dla pozostałych materiałów docelowych.

W przypadku próbek krwi pobranych na EDTA jako antykoagulant, do probówek Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) lub Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tubes w zmniejszeniu częstości uzyskiwania powtarzających się nieważnych wyników może pomóc dodatkowe odwirowanie przy 600 × g przez 5 minut.

Ograniczenia metody

- Test **cobas®** MPX został oceniony jedynie pod kątem stosowania z zestawem kontroli **cobas®** MPX Control Kit, **cobas®** NHP Negative Control Kit, odczynnikami **cobas® omni** MGP Reagent, **cobas® omni** Lysis Reagent, **cobas® omni** Specimen Diluent oraz **cobas® omni** Wash Reagent do użytku w systemach **cobas®** 5800 i **cobas®** 6800/8800.
- Uzyskanie wiarygodnych wyników zależy od prawidłowych procedur pobierania, przechowywania i dalszego postępowania z próbkami.
- Do przeprowadzenia tego testu nie należy wykorzystywać heparynizowanego osocza, gdyż heparyna hamuje przebieg reakcji PCR.
- Wykrycie RNA wirusa HIV-1 grupy M, RNA wirusa HIV-1 grupy O, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV oraz DNA wirusa HBV zależy od liczby cząstek wirusa obecnych w próbce i mogą na nie wpływać metody pobierania, przechowywania i wykorzystywania próbek, czynniki związane z pacjentem (tj. wiek, występowanie objawów) i (lub) faza zakażenia oraz wielkość puli.
- Mutacje w obrębie wysoko konserwatywnych regionów genomu wirusowego, z którymi wiążą się startery i/lub sondy używane w teście **cobas®** MPX – chociaż rzadkie – mogą wpływać na wiązanie starterów i/lub sond oraz spowodować niewykrycie wirusa.
- Z uwagi na różnice pomiędzy metodami zaleca się, aby przed zmianą użytkownik przeprowadził w laboratorium badania korelacji stosowanych metod w celu określenia występujących pomiędzy nimi różnic jakościowych. Użytkownicy powinni postępować zgodnie z własnymi określonymi zasadami/procedurami.

Równoważność/porównanie systemu

Równoważność systemów **cobas®** 5800 i **cobas®** 6800/8800 wykazano przez badanie równoważności.

Wyniki przedstawione w niniejszej instrukcji obsługi oparte są na równoważnym działaniu wszystkich systemów.

Ocena skuteczności w badaniach nieklinicznych przeprowadzona w systemach cobas® 6800/8800

Kluczowe parametry wiarygodności testu

Próbki pochodzące od żywych dawców

Granica wykrywalności (LoD)

Międzynarodowe standardy WHO / pierwszorzędowe standardy firmy Roche

Granice wykrywalności (LoD) testu cobas® MPX dla RNA wirusa HIV-1 grupy M, RNA wirusa HIV-1 grupy O, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV i DNA wirusa HBV określono z wykorzystaniem następujących standardów:

- międzynarodowy standard WHO nr 3 dla RNA wirusa HIV-1 grupy M (kod NIBSC 10/152);
- międzynarodowy standard WHO dla RNA wirusa HIV-2 (kod NIBSC 08/150)⁴⁰;
- pierwszorzędowe standardy firmy Roche dla RNA wirusa HIV-1 grupy O;
- międzynarodowy standard WHO nr 2 dla RNA wirusa HCV (kod NIBSC 96/798);
- międzynarodowy standard WHO nr 3 dla DNA wirusa HBV (kod NIBSC 10/264).

Nie są aktualnie dostępne żadne międzynarodowe standardy dla RNA wirusa HIV-1 grupy O. Standard firmy Roche dla RNA wirusa HIV-1 grupy O jest oparty na panelu CBER HIV-1 Subtype RNA Reference Panel #1 Lot 01.

Pierwszorzędowe standardy firmy Roche dla RNA wirusa HIV-1 grupy O zostały przygotowane z dostępnych na rynku hodowli podstawowych wirusa, P/N 2420 (nr kat. 500493, SeraCare Life Sciences).

W przypadku międzynarodowego standardu WHO dla wirusa HIV-1 grupy M, HCV oraz HBV, HIV-2 i pierwszorzędowych standardów firmy Roche dla wirusa HIV-1 grupy O 3 niezależne serie rozcieńczeń każdego elementu standardu wirusa HIV-1 grupy M, HCV i HBV we wspólnej mieszaninie, a także rozcieńczenia odrębnych mieszanin dla wirusa HIV-1 grupy O oraz HIV-2 przygotowano z wykorzystaniem prawidłowego osocza ludzkiego niezawierającego wirusów (HIV, HBV oraz HCV) i pobranego na EDTA. Wszystkie serie rozcieńczeń badano przy użyciu 3 różnych serii zestawu testowego cobas® MPX z około 63 powtórzeniami na serię, co dało w sumie około 189 powtórzeń na stężenie. W przypadku międzynarodowego standardu WHO dla wirusa HIV-2 wykonano 33 powtórzenia na serię z 3 niezależnych rozcieńczeń i z użyciem 3 serii odczynników, co dało łączną liczbę 99 powtórzeń na stężenie. W przypadku każdego wirusa przeprowadzono analizę 95% PROBIT (Tabela 14) i 50% PROBIT (Tabela 15) z wykorzystaniem połączonych danych z serii rozcieńczeń i serii odczynników w celu oszacowania wartości LoD wraz z dolną i górną granicą 95% przedziałów ufności. Częstość wyników reaktywnych obserwowanych w badaniach LoD dla każdego wirusa, zobacz Tabela 16 do Tabela 20.

Tabela 14 Wyniki analizy 95% PROBIT z wykorzystaniem danych LoD uzyskanych podczas oznaczeń standardów wirusowych w osoczu pobranym na EDTA i surowicy

Matryce	Oznaczany składnik	Jednostki miary	LoD	Dolna granica 95% przedziału ufności	Górna granica 95% przedziału ufności
Osocze krwi pobranej na EDTA	HIV-1 grupa M	IU/ml	25,7	21,1	32,8
	HIV-1 grupa O	kopii/ml	8,2	7,0	10,0
	HIV-2	IU/ml	4,0	3,3	5,2
	HCV	IU/ml	7,0	5,9	8,6
	HBV	IU/ml	1,4	1,2	1,7
Surowica	HIV-1 grupa M	IU/ml	23,7	20,0	29,1
	HIV-1 grupa O	kopii/ml	12,2	10,3	14,9
	HIV-2	IU/ml	4,4	3,5	5,8
	HCV	IU/ml	8,1	6,8	10,1
	HBV	IU/ml	1,3	1,1	1,5

Tabela 15 Wyniki analizy 50% PROBIT z wykorzystaniem danych LoD uzyskanych podczas oznaczeń standardów wirusowych w osoczu pobranym na EDTA i surowicy

Matryce	Oznaczany składnik	Jednostki miary	LoD	Dolna granica 95% przedziału ufności	Górna granica 95% przedziału ufności
Osocze krwi pobranej na EDTA	HIV-1 grupa M	IU/ml	3,8	3,4	4,3
	HIV-1 grupa O	kopii/ml	1,7	1,5	1,9
	HIV-2	IU/ml	0,9	0,8	1,1
	HCV	IU/ml	1,3	1,1	1,4
	HBV	IU/ml	0,3	0,3	0,3
Surowica	HIV-1 grupa M	IU/ml	4,6	4,1	5,1
	HIV-1 grupa O	kopii/ml	2,5	2,2	2,7
	HIV-2	IU/ml	0,9	0,8	1,1
	HCV	IU/ml	1,4	1,3	1,6
	HBV	IU/ml	0,3	0,3	0,3

Tabela 16 Zestawienie częstości wyników reaktywnych dla wirusa HIV-1 grupy M w osoczu pobranym na EDTA i surowicy

Matryce	Stężenie RNA wirusa HIV-1 grupy M (IU/ml)	Liczba reaktywnych próbek	Liczba ważnych powtórzeń testu	% wyników reaktywnych	Dolny zakres 95% przedziału ufności (jednostronny)
Osocze krwi pobranej na EDTA	30	186	188	98,9%	96,7%
	15	170	189	89,9%	85,6%
	7,5	124	189	65,6%	59,5%
	4,5	96	189	50,8%	44,6%
	1,5	50	189	26,5%	21,2%
Surowica	30	186	189	98,4%	95,9%
	15	170	189	89,9%	85,6%
	7,5	123	189	65,1%	59,0%
	4,5	85	189	45,0%	38,8%
	1,5	31	189	16,4%	12,1%

Tabela 17 Zestawienie częstości wyników reaktywnych dla wirusa HIV-1 grupy O w osoczu pobranym na EDTA i surowicy

Matryce	Stężenie RNA wirusa HIV-1 grupy O (kopie/ml)	Liczba reaktywnych próbek	Liczba ważnych powtórzeń testu	% wyników reaktywnych	Dolny zakres 95% przedziału ufności (jednostronny)
Osocze krwi pobranej na EDTA	18	187	187	100,0%	98,4%
	9	181	187	96,8%	93,8%
	4,5	162	189	85,7%	80,8%
	2,7	117	189	61,9%	55,7%
	0,9	57	189	30,2%	24,7%
Surowica	18	186	187	99,5%	97,5%
	9	173	188	92,0%	88,0%
	4,5	142	189	75,1%	69,4%
	2,7	79	189	41,8%	35,8%
	0,9	39	189	20,6%	15,9%

Tabela 18 Zestawienie częstości wyników reaktywnych dla wirusa HIV-2 w osoczu pobranym na EDTA i surowicy

Matryce	Stężenie RNA wirusa HIV-2 (IU/ml)	Liczba reaktywnych próbek	Liczba ważnych powtórzeń testu	% wyników reaktywnych	Dolny zakres 95% przedziału ufności (jednostronny)
Osocze krwi pobranej na EDTA	10	98	98	100,0%	97,0%
	5	98	99	99,0%	95,3%
	2,5	80	98	81,6%	74,0%
	1,5	71	99	71,7%	63,3%
	0,5	26	99	26,3%	19,1%
Surowica	10	98	98	100,0%	97,0%
	5	98	99	99,0%	95,3%
	2,5	81	99	81,8%	74,2%
	1,5	63	98	64,3%	55,6%
	0,5	28	98	28,6%	21,1%

Tabela 19 Zestawienie częstości wyników reaktywnych dla wirusa HCV w osoczu pobranym na EDTA i surowicy

Matryce	Stężenie RNA wirusa HCV (IU/ml)	Liczba reaktywnych próbek	Liczba ważnych powtórzeń testu	% wyników reaktywnych	Dolny zakres 95% przedziału ufności (jednostronny)
Osocze krwi pobranej na EDTA	12	187	188	99,5%	97,5%
	6	178	189	94,2%	90,6%
	3	148	189	78,3%	72,8%
	1,8	112	189	59,3%	53,0%
	0,6	50	189	26,5%	21,2%
Surowica	12	186	189	98,4%	95,9%
	6	173	189	91,5%	87,4%
	3	139	189	73,5%	67,7%
	1,8	112	189	59,3%	53,0%
	0,6	41	189	21,7%	16,9%

Tabela 20 Zestawienie częstości wyników reaktywnych dla wirusa HBV w osoczu pobranym na EDTA i surowicy

Matryce	Stężenie DNA wirusa HBV (IU/ml)	Liczba reaktywnych próbek	Liczba ważnych powtórzeń testu	% wyników reaktywnych	Dolny zakres 95% przedziału ufności (jednostronny)
Osocze krwi pobranej na EDTA	3,40	188	188	100,0%	98,4%
	1,70	184	189	97,4%	94,5%
	0,85	165	189	87,3%	82,6%
	0,51	126	189	66,7%	60,6%
	0,17	58	189	30,7%	25,2%
Surowica	3,40	189	189	100,0%	98,4%
	1,70	184	189	97,4%	94,5%
	0,85	166	189	87,8%	83,2%
	0,51	140	189	74,1%	68,3%
	0,17	52	189	27,5%	22,2%

Odtwarzalność

Powtarzalność testu **cobas**® MPX używanego w systemach **cobas**® 6800/8800 określono z wykorzystaniem następujących standardów:

- drugorzędowe standardy firmy Roche dla wirusa HIV-1 grupy M, HCV oraz HBV;
- pierwszorzędowe standardy firmy Roche dla wirusa HIV-1 grupy O oraz HIV-2.

To badanie polegało na oznaczeniu 3 paneli składających się z członów obejmujących wspólną mieszaninę wirusa HIV-1 grupy M, HCV oraz HBV i odrębne mieszaniny dla wirusa HIV-1 grupy O oraz HIV-2 w stężeniach wynoszących w przybliżeniu 0,5-, 1- oraz 2-krotność wartości LoD dla testu **cobas**® MPX dla każdego wirusa. W badaniu oceniono następujące elementy zmienności:

- zmienność pomiędzy dniami w okresie 3 dni;
- zmienność pomiędzy seriami przy wykorzystaniu 3 różnych serii odczynników testu **cobas**® MPX;
- zmienność pomiędzy aparatami przy wykorzystaniu 3 różnych systemów **cobas**® 8800.

Wykonano około 21 powtórzeń z użyciem każdego z 3 paneli, co dało łącznie 63 powtórzenia dla każdej serii odczynnika. Wszystkie ważne wyniki dotyczące powtarzalności oceniono, obliczając odsetek wyników reaktywnych testu dla każdego poziomu stężenia w odniesieniu do wszystkich elementów zmienności.

Dla każdej częstości reaktywnych wyników w ramach trzech poziomów wirusa HIV-1 grupy M, HIV-1 grupy O, HIV-2, HCV oraz HBV przebadanych w ciągu 3 dni z użyciem 3 serii odczynników i 3 systemów **cobas**® 8800 obliczono granice dwustronnych 95% przedziałów ufności. Wyniki testu **cobas**® MPX są powtarzalne w okresie kilku dni, z użyciem kilku serii odczynników oraz kilku urządzeń. Tabela 21 zawiera zestawienie wyników dla zmienności pomiędzy seriami odczynników.

Tabela 21 Podsumowanie powtarzalności testu cobas® MPX pomiędzy seriami odczynników

Oznaczany składnik	Stężenie	Seria odczynnika	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/ważne powtórzenia)	Dolna granica 95% przedziału ufności	Górna granica 95% przedziału ufności
HIV-1 grupa M	2 × LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 × LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	0,5 × LoD	1	85,7% (54/63)	74,6%	93,3%
		2	95,2% (60/63)	86,7%	99,0%
		3	92,1% (58/63)	82,4%	97,4%
HIV-1 grupa O	2 × LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 × LoD	1	92,1% (58/63)	82,4%	97,4%
		2	93,7% (59/63)	84,5%	98,2%
		3	93,7% (59/63)	84,5%	98,2%
	0,5 × LoD	1	74,6% (47/63)	62,1%	84,7%
		2	76,2% (48/63)	63,8%	86,0%
		3	74,6% (47/63)	62,1%	84,7%
HIV-2	2 × LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
	1 × LoD	1	82,5% (52/63)	70,9%	90,9%
		2	93,7% (59/63)	84,5%	98,2%
		3	87,3% (55/63)	76,5%	94,4%
	0,5 × LoD	1	74,6% (47/63)	62,1%	84,7%
		2	71,4% (45/63)	58,7%	82,1%
		3	73,0% (46/63)	60,3%	83,4%

Oznaczany składnik	Stężenie	Seria odczynnika	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/ważne powtórzenia)	Dolna granica 95% przedziału ufności	Górna granica 95% przedziału ufności
HCV	2 × LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 × LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
	0,5 × LoD	1	77,8% (49/63)	65,5%	87,3%
		2	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
		3	93,7% (59/63)	84,5%	98,2%
HBV	2 × LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 × LoD	1	90,5% (57/63)	80,4%	96,4%
		2	90,5% (57/63)	80,4%	96,4%
		3	93,7% (59/63)	84,5%	98,2%
	0,5 × LoD	1	84,1% (53/63)	72,7%	92,1%
		2	76,2% (48/63)	63,8%	86,0%
		3	77,8% (49/63)	65,5%	87,3%

Weryfikacja genotypu

Skuteczność testu **cobas® MPX** w wykrywaniu podtypów wirusa HIV-1 grupy M (A–H, J, K, BF, BG) i krążących form rekombinowanych (CRF01_AE oraz CRF02_AG), wirusa HIV-1 grupy O, wirusa HIV-1 grupy N oraz podtypów wirusa HIV-2 (A oraz B), genotypów wirusa HCV (1–6) oraz genotypów wirusa HBV (A–H oraz z mutacją w regionie precore) określono poprzez oznaczenie unikalnych próbek klinicznych i (lub) izolatów z hodowli dla każdego podtypu lub genotypu wymienionego w Tabela 22 do Tabela 26.

HIV-1 grupa M

Z wykorzystaniem testu COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1, v2.0 oznaczono ilościowo stężenia wirusa HIV-1 w łącznie 115 unikalnych próbkach klinicznych wirusa HIV-1 grupy M ze znanymi podtypami wirusa HIV-1. Wszystkie 115 próbek oznaczono po rozcieńczeniu z użyciem prawidłowego osocza ludzkiego niezawierającego wirusów (HIV, HCV oraz HBV) i pobranego na EDTA do stężenia na poziomie 5-krotności wartości LoD dla testu cobas® MPX. 102 próbki z tej grupy przebadano również bez rozcieńczenia. Wszystkie 115 próbek klinicznych ze znanymi podtypami zostało wykrytych bez rozcieńczenia i (lub) w stężeniu wynoszącym 5-krotność wartości LoD (Tabela 22).

Tabela 22 Próbki kliniczne wirusa HIV-1 grupy M

Podtyp	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/przebadane próbki) nierozcieńczone	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/przebadane próbki) rozcieńczone do stężenia 5 × LoD
A	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
CRF01_AE	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
CRF02_AG	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
B	100,0% (11/11)	100,0% (11/11)
C	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
D	100,0% (11/11)	100,0% (11/11)
F	100,0% (10/10)	100,0% (10/10)
G	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
H	100,0% (10/10)	100,0% (10/10)
BF	Nie przebadano*	100% (3/3)
BG	Nie przebadano*	100% (4/4)
J	Nie przebadano*	100% (2/2)
K	Nie przebadano*	100% (4/4)

* Niewystarczająca ilość do oznaczenia bez rozcieńczenia.

HIV-1 grupa O i HIV-1 grupa N

Oznaczono łącznie 7 izolatów z hodowli wirusa HIV-1 grupy O oraz 2 izolaty z hodowli wirusa HIV-1 grupy N po rozcieńczeniu logarytmicznym z użyciem prawidłowego osocza ludzkiego niezawierającego wirusów (HIV, HCV oraz HBV) i pobranego na EDTA. W przypadku izolatów wirusa HIV-1 grupy O wykonano łącznie 28 powtórzeń z użyciem 7 izolatów, wykonując po 4 powtórzenia na każde rozcieńczenie. W przypadku izolatów wirusa HIV-1 grupy N przebadano dwa izolaty. Wykonano łącznie 4 powtórzenia dla jednego izolatu rozcieńczonego w stosunku od 1:1,00E+02 do 1:1,00E+03 oraz 1 powtórzenie dla drugiego izolatu rozcieńczonego w stosunku 1:1,00E+04. Izolaty z hodowli wirusa HIV-1 grupy O były wykrywane do rozcieńczenia 1:1,00E+07, natomiast izolaty z hodowli wirusa grupy N były wykrywane do rozcieńczenia 1:1,00E+04 (Tabela 23).

Tabela 23 Izolaty z hodowli wirusa HIV-1 grupy O oraz HIV-1 grupy N

Rozcieńczenie próbki	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/ważne powtórzenia)	
	HIV-1 grupa O	HIV-1 grupa N
1:1,00E+02	100,0% (28/28)	100,0% (4/4)
1:1,00E+03	100,0% (28/28)	100,0% (4/4)
1:1,00E+04	89,3% (25/28)	20% (1/5)
1:1,00E+05	71,4% (20/28)	0,0% (0/4)
1:1,00E+06	71,4% (20/28)	0,0% (0/4)
1:1,00E+07	71,4% (20/28)	0,0% (0/4)

HIV-2

Oznaczono łącznie 5 izolatów z hodowli wirusa HIV-2 podtypu A (4) oraz B (1) po rozcieńczeniu logarytmicznym z użyciem prawidłowego osocza ludzkiego niezawierającego wirusów (HIV, HCV oraz HBV) i pobranego na EDTA. W przypadku podtypu A wirusa wykonano łącznie 16 powtórzeń dla 4 izolatów przy każdym rozcieńczeniu. W przypadku 1 izolatu podtypu B wirusa wykonano łącznie 4 powtórzenia dla każdego rozcieńczenia. Oznaczono również łącznie 11 izolatów z próbek klinicznych wirusa HIV-2 podtypu A (5) oraz B (6) po rozcieńczeniu logarytmicznym z użyciem prawidłowego osocza ludzkiego niezawierającego wirusów i pobranego na EDTA. W przypadku podtypu A wirusa wykonano łącznie 20 powtórzeń z użyciem 5 próbek klinicznych, a w przypadku podtypu B wirusa wykonano łącznie 24 powtórzenia z użyciem 6 próbek klinicznych, wykonując po 4 powtórzenia na każde rozcieńczenie. Wszystkie izolaty z hodowli zostały wykryte w teście cobas® MPX. Próbkę kliniczną były wykrywane w teście cobas® MPX do rozcieńczenia 1:1,00E+03 w przypadku podtypu A oraz B wirusa. Tabela 24 zawiera zestawienie ogólnych wyników.

Tabela 24 Izolaty z hodowli oraz próbki kliniczne wirusa HIV-2

Rozcieńczenie próbki	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/ważne powtórzenia)			
	Izolat z hodowli		Próbka kliniczna	
	Podtyp A	Podtyp B	Podtyp A	Podtyp B
1:1,00E+02	100,0% (16/16)	100,0% (4/4)	100,0% (20/20)	100,0% (24/24)
1:1,00E+03	100,0% (16/16)	100,0% (4/4)	65,0% (13/20)	50,0% (12/24)
1:1,00E+04	100,0% (15/15)	100,0% (4/4)	25,0% (5/20)	0,0% (0/24)
1:1,00E+05	100,0% (16/16)	100,0% (4/4)	5,0% (1/20)	0,0% (0/24)
1:1,00E+06	100,0% (16/16)	100,0% (4/4)	0,0% (0/20)	0,0% (0/24)
1:1,00E+07	81,2% (13/16)	0% (0/4)	0,0% (0/20)	0,0% (0/24)

HCV

Z wykorzystaniem testu COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0 oznaczono ilościowo stężenia wirusa HCV w łącznie 96 unikalnych próbkach klinicznych wirusa HCV ze znanymi genotypami wirusa HCV. Wszystkie 96 próbek klinicznych wirusa HCV ze znanymi genotypami przebadano po rozcieńczeniu z użyciem prawidłowego osocza ludzkiego niezawierającego wirusów (HIV, HCV oraz HBV) i pobranego na EDTA do stężenia na poziomie 5-krotności wartości LoD testu cobas® MPX. Spośród nich 95 próbek przebadano również bez rozcieńczenia. Wszystkie próbki oznaczono w jednym powtórzeniu. Wszystkie 96 próbek klinicznych wirusa HCV zostało wykrytych bez rozcieńczenia i (lub) po rozcieńczeniu, co podsumowano w Tabeli 25.

Tabela 25 Próbki kliniczne wirusa HCV

Genotyp	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/przebadane próbki) nierozcieńczone	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/przebadane próbki) rozcieńczone do stężenia 5 × LoD
1a	100,0% (9/9)	100,0% (9/9)
1b	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
1	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
2b	100,0% (1/1)	100,0% (1/1)
2	100,0% (13/13)	100,0% (13/13)
3a	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
3	100,0% (1/1)	100,0% (1/1)
4	100,0% (13/13)	100,0% (13/13)
5a	100,0% (10/10)	100,0% (10/10)
5	100,0% (2/2)	100,0% (2/2)
6	100,0% (10/10)	100,0% (11/11)

HBV

Z wykorzystaniem testu COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV oznaczono ilościowo stężenia wirusa HBV w łącznie 94 unikalnych próbkach klinicznych wirusa HBV ze znanymi genotypami wirusa HBV i zawierającymi mutacje w regionie precore. Wszystkie 94 próbki kliniczne wirusa HBV ze znanymi genotypami przebadano bez rozcieńczenia i (lub) po rozcieńczeniu z użyciem prawidłowego osocza niezawierającego wirusów (HIV, HCV oraz HBV) i pobranego na EDTA do stężenia na poziomie 5-krotności wartości LoD testu **cobas®** MPX. Wszystkie próbki oznaczono w jednym powtórzeniu. Wszystkie 94 próbki kliniczne wirusa HBV zostały wykryte bez rozcieńczenia i (lub) po rozcieńczeniu, co podsumowano w Tabeli 26.

Tabela 26 Próbki kliniczne wirusa HBV

Genotyp	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/przebadane próbki) nierozcieńczone	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/przebadane próbki) rozcieńczone do stężenia 5 × LoD
A	100,0% (15/15)	100,0% (15/15)
B	100,0% (12/12)	100,0% (11/11)
C	100,0% (10/10)	100,0% (9/9)
D	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
E	100,0% (12/12)	100,0% (11/11)
F	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
G	Nie przebadano*	100% (1/1)
H	100,0% (8/8)	100,0% (8/8)
Wirus z mutacją w regionie poprzedzającym gen kodujący białko rdzeniowe	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)

* Niewystarczająca ilość do oznaczenia bez rozcieńczenia.

Panele serokonwersji

Działanie testu **cobas® MPX** oceniono z wykorzystaniem dostępnych na rynku paneli serokonwersji dla wirusa HIV-1 grupy M, HCV oraz HBV. Wyniki testu **cobas® MPX** porównano z wynikami oznaczeń tych samych paneli uzyskanych za pomocą licencjonowanego przez FDA testu **cobas® TaqScreen MPX** z użyciem **cobas® s 201** system. Dodatkowo dla każdego materiału docelowego przeprowadzono porównanie pomiędzy testem **cobas® MPX** oraz testami serologicznymi CE-IVD i licencjonowanymi przez FDA.

Panele serokonwersji dla wirusa HIV-1 grupy M

Wykorzystano dziesięć dostępnych na rynku paneli serokonwersji. Każdy człon panelu badano bez rozcieńczenia i po rozcieńczeniu w stosunku 1:6 oraz 1:96 w celu symulacji oznaczenia w pulach z użyciem testów **cobas® MPX** oraz **cobas® TaqScreen MPX**. Wyniki testu **cobas® MPX** zostały porównane z wynikami uzyskanymi w teście **cobas® TaqScreen MPX** oraz w testach serologicznych CE-IVD i licencjonowanych przez FDA dla wirusa HIV, wykonywanych bez rozcieńczenia. Tabela 27 zawiera ogólne wyniki dotyczące działania testu.

Tabela 27 Działanie testu **cobas® MPX** w panelach serokonwersji dla wirusa HIV

Panele serokonwersji dla wirusa HIV	Liczba dni od wykrycia poprzedzającego wykrycie przeciwciał przeciwko wirusowi HIV / antygenów wirusa HIV lub wykrycie RNA wirusa HIV								
	Abbott ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo: nierozcieńczane			Abbott PRISM HIV Ag/Ab Combo: nierozcieńczane			Test cobas® TaqScreen MPX: nierozcieńczane, 1:6, 1:96		
	Liczba dni wcześniejszego wykrycia w teście cobas® MPX								
	Nierozcieńczane	1:6	1:96	Nierozcieńczane	1:6	1:96	Nierozcieńczane	1:6	1:96
1	3	3	3	3	3	3	0	0	0
2	7	2	2	12	7	7	5	0	0
3	7	5	5	7	5	5	2	0	0
4	15	15	8	15	15	8	0	0	0
5	7	7	7	7	7	7	0	0	2
6	10	3	3	10	3	3	2	0	0
7	9	9	7	9	9	7	0	0	0
8	11	11	9	11	11	9	0	0	0
9	2	2	2	2	2	2	0	0	0
10	7	7	7	7	7	7	0	0	2
Minimalnie	2	2	2	2	2	2	0	0	0
Średnio	7,8	6,4	5,3	8,3	6,9	5,8	0,9	0	0,4
Maksymalnie	15	15	15	15	15	9	5	0	2

Panele serokonwersji dla wirusa HCV

Wykorzystano dziesięć dostępnych na rynku paneli serokonwersji. Każdy człon panelu badano bez rozcieńczenia i po rozcieńczeniu w stosunku 1:6 oraz 1:96 w celu symulacji oznaczenia w pulach z użyciem testów cobas® MPX oraz cobas® TaqScreen MPX. Wyniki testu cobas® MPX zostały porównane z wynikami uzyskanymi w teście cobas® TaqScreen MPX oraz w testach serologicznych CE-IVD i licencjonowanych przez FDA dla wirusa HCV, wykonywanych bez rozcieńczenia. Tabela 28 zawiera ogólne wyniki dotyczące działania testu.

Tabela 28 Działanie testu cobas® MPX w panelach serokonwersji dla wirusa HCV

Panele serokonwersji dla wirusa HCV	Liczba dni od wykrycia poprzedzającego wykrycie przeciwciał przeciwko wirusowi HCV / antygenów wirusa HCV lub wykrycie RNA wirusa HCV								
	ORTHO HCV Version 3.0 ELISA Test System: nierozcieńczane			Abbott PRISM HCV: nierozcieńczane			Test cobas® TaqScreen MPX: nierozcieńczane, 1:6, 1:96		
	Liczba dni wcześniejszego wykrycia w teście cobas® MPX								
	Nieroz- cieńczane	1:6	1:96	Nieroz- cieńczane	1:6	1:96	Nieroz- cieńczane	1:6	1:96
1	13	13	13	13	13	13	0	0	0
2	23	23	23	23	23	23	0	0	0
3	33	33	33	33	33	33	-6	0	0
4	32	32	32	32	32	32	0	0	0
5	38	38	38	38	38	38	-24**	0	0
6	34	34	34	34	34	34	0	0	0
7*	11	11	11	11	11	11	0	0	0
8	65	65	65	65	65	65	0	0	0
9*	13	13	13	16	16	16	0	0	0
10*	21	21	21	21	21	21	0	0	0
Minimalnie	13	13	13	13	13	13	-24	0	0
Wartość średnia po wykluczeniu*	34	34	34	34	34	34	-3	0	0
Maksymalnie	65	65	65	65	65	65	0	0	0

* Panele, które były konsekwentnie reaktywne w teście cobas® MPX, począwszy od pierwszego pobrania, zostały wykluczone z ostatecznych oszacowań dla minimalnej, średniej i maksymalnej liczby dni wcześniejszego wykrycia niż w przypadku detekcji przeciwciał przeciwko HCV.

** 24 dni odstępu pomiędzy kolejnymi pobraniami.

Panele serokonwersji dla wirusa HBV

Wykorzystano dziesięć dostępnych na rynku paneli serokonwersji. Każdy człon panelu badano bez rozcieńczenia i po rozcieńczeniu w stosunku 1:6 oraz 1:96 w celu symulacji oznaczenia w pulach z użyciem testów **cobas® MPX** oraz **cobas® TaqScreen MPX**. Wyniki testu **cobas® MPX** zostały porównane z wynikami uzyskanymi w teście **cobas® TaqScreen MPX** oraz w testach serologicznych CE-IVD i licencjonowanych przez FDA dla wirusa HBV, wykonywanych bez rozcieńczenia. Tabela 29 zawiera ogólne wyniki dotyczące działania testu.

Tabela 29 Działanie testu **cobas® MPX** w panelach serokonwersji dla wirusa HBV

Panele serokonwersji dla wirusa HBV	Liczba dni od wykrycia poprzedzającego wykrycie antygenu HBsAg lub DNA wirusa HBV								
	ORTHO HBsAg ELISA Test System 3: nierozcieńczane			Abbott PRISM HBsAg: nierozcieńczane			Test cobas® TaqScreen MPX: nierozcieńczane, 1:6, 1:96		
	Liczba dni wcześniejszego wykrycia w teście cobas® MPX								
	Nierozcieńczane	1:6	1:96	Nierozcieńczane	1:6	1:96	Nierozcieńczane	1:6	1:96
1	36	19	7	29	12	0	17	0	0
2	19	11	7	8	0	-4*	0	-3	0
3	24	24	0	24	24	0	-7	7	0
4	17	17	0	0	0	-17*	0	0	0
5	30	30	9	28	28	7	0	0	7
6	28	28	17	18	18	7	-8	4	10
7	16	13	5	11	8	0	9	0	5
8	30	28	14	0	-2*	-16*	2	12	0
9	24	24	13	17	17	6	0	2	6
10	38	42	27	29	33	18	-4	15	3
Minimalnie	16	11	0	0	-2	-17	-8	-3	0
Średnio	26,2	23,6	9,9	16,4	13,8	0,1	0,9	3,7	3,1
Maksymalnie	38	42	27	29	33	18	17	15	10

* W rozcieńczonych członach panelu występowały niskie stężenia DNA wirusa HBV, które zostały wykryte w teście **cobas® MPX** później niż w badaniu serologicznym; 0,6 IU/ml w panelu nr 2 rozcieńczonym w stosunku 1:96, 2,0 IU/ml w panelu nr 4 rozcieńczonym w stosunku 1:96 (plus nieprawidłowo wczesny, lecz niski poziom sygnału / niska wartość graniczna (S/Co) w badaniu serologicznym), brak wykrycia w panelu nr 8 rozcieńczonym w stosunku 1:6, oraz 0,5 IU/ml w panelu nr 8 rozcieńczonym w stosunku 1:96, w pobraniu, w którym wykazano konwersję NAT w teście **cobas® MPX** z wykorzystaniem alternatywnego oznaczenia ilościowego NAT.

Swoistość analityczna

Swoistość analityczną testu **cobas® MPX** oceniono pod kątem reaktywności krzyżowej z 25 drobnoustrojami w ilości 10^6 cząstek, kopii lub PFU/ml, które obejmowały 18 izolatów wirusowych, 6 szczepów bakteryjnych i 1 izolat drożdży (Tabela 30). Drobnoustroje zostały dodane do prawidłowego osocza ludzkiego niezawierającego wirusów (HIV, HCV oraz HBV) i pobranego na EDTA, a następnie wykonano oznaczenie bez dodatku i po dodaniu wirusa HIV-1 grupy M, HCV, HBV (we wspólnej mieszaninie), HIV-1 grupy O i HIV-2 do uzyskania stężenia wynoszącego w przybliżeniu 3-krotność wartości LoD w teście **cobas® MPX** dla każdego wirusa. Badane drobnoustroje nie wykazują reaktywności krzyżowej ani nie zakłócają działania testu **cobas® MPX**.

Tabela 30 Drobnoustroje badane pod kątem swoistości analitycznej

Wirusy	Flawiwirusy	Bakterie	Drożdżaki
Adenowirus 5	Wirus gorączki Zachodniego Nilu	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Wirus cytomegalii	Wirus gorączki Denga typu 1	<i>Propionibacterium acnes</i>	
Wirus Epsteina-Barra	Wirus Usutu	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Wirus opryszczki pospolitej typu 1		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
Wirus opryszczki pospolitej typu 2		<i>Streptococcus viridans</i>	
Wirus zapalenia wątroby typu A		<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
Wirus zapalenia wątroby typu E			
Wirus zapalenia wątroby typu G			
Ludzki wirus T-limfotropowy typu I			
Ludzki wirus T-limfotropowy typu II			
Ludzki wirus opryszczki 6			
Wirus grypy typu A			
Parwovirus B19			
Wirus Chikungunya			
Wirus ospy wietrznej			

Próbki osocza dla każdego stanu chorobowego (Tabela 31) oznaczono bez dodatku i po dodaniu wirusa HIV-1 grupy M, HCV, HBV (we wspólnej mieszaninie), HIV-1 grupy O i HIV-2 do uzyskania stężenia wynoszącego w przybliżeniu 3-krotność wartości LoD w teście **cobas® MPX** dla każdego wirusa. Badane stany chorobowe nie wykazują reaktywności krzyżowej ani nie zakłócają działania testu **cobas® MPX**.

Tabela 31 Próbki dla poszczególnych stanów chorobowych przebadane pod kątem swoistości analitycznej

Stan chorobowy		
Adenowirus typu 5	Wirus opryszczki pospolitej typu 1	Ludzki wirus T-limfotropowy typu I
Wirus cytomegalii	Wirus opryszczki pospolitej typu 2	Ludzki wirus T-limfotropowy typu II
Wirus gorączki Denga	Wirus zapalenia wątroby typu A	Parwovirus B19
Wirus Epsteina-Barra	Wirus zapalenia wątroby typu E	Wirus gorączki Zachodniego Nilu

Swoistość analityczna – substancje interferujące

Endogenne substancje wpływające na wynik testu

Przeprowadzono oznaczenia próbek osocza z nieprawidłowo wysokimi stężeniami trójglicerydów (do 33,2 g/l), hemoglobiny (do 2 g/l), bilirubiny niezwiązanej (do 0,236 g/l), albuminy (do 60 g/l) oraz ludzkiego DNA (do 0,002 g/l) bez dodatku i po dodaniu wirusa HIV-1 grupy M, HCV, HBV (we wspólnej mieszaninie), HIV-1 grupy O oraz HIV-2 do uzyskania stężenia wynoszącego 3-krotność wartości LoD testu **cobas® MPX**. Próbkę zawierające wyżej wymienione substancje endogenne nie wpłynęły na czułość ani swoistość testu **cobas® MPX**.

Egzogenne substancje wpływające na wynik testu

Próbki prawidłowego osocza ludzkiego niezawierającego wirusów (HIV, HCV oraz HBV) i pobranego na EDTA, zawierające nieprawidłowo wysokie stężenia leków (Tabela 32) oznaczono bez dodatku i po dodaniu wirusa HIV-1 grupy M, HCV, HBV (we wspólnej mieszaninie), HIV-1 grupy O i HIV-2 do uzyskania stężenia wynoszącego 3-krotność wartości LoD w teście **cobas® MPX** dla każdego wirusa. Wyżej wymienione substancje egzogenne nie wpłynęły na czułość ani swoistość testu **cobas® MPX**.

Tabela 32 Próbki kliniczne badane z dodatkiem leków

Nazwa badanego leku	Stężenie
Paracetamol	1324 µmol/l
Kwas acetylosalicylowy	3620 µmol/l
Kwas askorbinowy	342 µmol/l
Atorwastatyna	600 µg równ./l
Fluoksetyna	11,2 µmol/l
Ibuprofen	2425 µmol/l
Loratadyna	0,78 µmol/l
Nadolol	3,88 µmol/l
Naproksen	2170 µmol/l
Paroksetyna	3,04 µmol/l
Chlorowodorek fenylefryny	491 µmol/l
Sertralina	1,96 µmol/l

Korelacja

Ocena skuteczności testu cobas® MPX w porównaniu z testem cobas® TaqScreen MPX, v2.0

Skuteczność testu cobas® MPX oraz testu cobas® TaqScreen MPX, v2.0 porównano z wykorzystaniem 100 pojedynczych seropozytywnych próbek osocza dla każdego z wirusów (HIV-1 grupy M, HCV i HBV), które oznaczano nierozcieńczone i po rozcieńczeniu w stosunku 1:6. W przypadku wirusa HIV-2 oznaczono 48 nierozcieńczonych próbek seropozytywnych oraz 99 próbek rozcieńczonych w stosunku 1:6. Natomiast w odniesieniu do wirusa HIV-1 grupy O oznaczono 13 próbek seropozytywnych rozcieńczonych w stosunku 1:6. Dodatkowo z użyciem obu metod oznaczono 103 nierozcieńczone seronegatywne próbki osocza.

W przypadku próbek seronegatywnych w obu metodach wykazano swoistość na poziomie 100% poprzez uzyskanie 103 wyników niereaktywnych na 103 przebadane próbki.

W odniesieniu do dodatnich próbek dla wirusa HIV-1 grupy M, HIV-1 grupy O, HIV-2, HCV i HBV wyniki obu metod były zgodne w oparciu o test McNemara, dzięki czemu wykazano równoważną skuteczność testu cobas® MPX i cobas® TaqScreen MPX, v2.0 (Tabela 33 i Tabela 34).

Tabela 33 Korelacja w przypadku próbek seropozytywnych (nierozcieńczonych)

Metody		Wyniki dla poszczególnych wirusów docelowych			
cobas® TaqScreen MPX Test, v2.0	cobas® MPX	HIV-1 grupa M	HBV	HCV	HIV-2
Niereaktywne	Niereaktywne	0	0	0	4
Reaktywne	Niereaktywne	0	0	0	4*
Niereaktywne	Reaktywne	0	0	0	7
Reaktywne	Reaktywne	100	100	100	33
Ogółem		100	100	100	48
Wartość p w teście McNemara (dwustronny, $\alpha = 0,05$)		1,0	1,0	1,0	0,55

* Cztery próbki, które dały niezgodne wyniki i nie wykazały reaktywności w teście cobas® MPX, miały miana poniżej granicy oznaczalności testu HIV-2 Quant PCR (< 100 kopii/ml, Hopital Bichat-Claude Bernard) i były niereaktywne w obu oznaczeniach po rozcieńczeniu w stosunku 1:6.

Tabela 34 Korelacja w przypadku próbek seropozytywnych (rozcieńczenie 1:6)

Metody		Wyniki dla poszczególnych wirusów docelowych				
cobas® TaqScreen MPX Test, v2.0	cobas® MPX	HIV-1 M	HBV	HCV	HIV-2	HIV-1 O
Niereaktywne	Niereaktywne	0	0	0	39	0
Reaktywne	Niereaktywne	0	0	0	6*	0
Niereaktywne	Reaktywne	0	0	0	8	0
Reaktywne	Reaktywne	100	100	100	46	13
Ogółem		100	100	100	99	13
Wartość p w teście McNemara (dwustronny, $\alpha = 0,05$)		1,0	1,0	1,0	0,79	1,0

* Sześć niezgodnych próbek dało wynik niereaktywny w teście cobas® MPX. Trzy spośród sześciu próbek, które dały niezgodne wyniki i nie wykazały reaktywności w teście cobas® MPX w rozcieńczeniu w stosunku 1:6, miały stężenia poniżej granicy oznaczalności (< 100 kopii/ml) oznaczenia HIV-2 Quant PCR (Hopital Bichat-Claude Bernard). Pozostałe 3 próbki również miały niskie miana (27,7 IU/ml, poniżej granicy oznaczalności oznaczenia HIV-2 RNA LDT oraz 150 kopii/ml w przypadku oznaczenia HIV-2 Quant PCR) i wszystkie 3 wykazały reaktywność w obu oznaczeniach bez rozcieńczenia.

Błąd całego systemu

Częstość występowania błędu systemowego w teście cobas® MPX określono poprzez oznaczenie w 100 powtórzeniach próbek osocza pobranego na EDTA, do którego dodano wirusa HIV-1 grupy M, HCV, HBV (we wspólnej mieszaninie), HIV-1 grupy O i HIV-2, co dało łącznie 300 powtórzeń. Probki oznaczono przy stężeniach docelowych wynoszących w przybliżeniu trzykrotność wartości LoD, a oznaczenia wykonywano w pulach po 1 (nierozcieńczonych). Badanie zostało przeprowadzone z wykorzystaniem systemu cobas® 8800 wraz z aparatem cobas® p 680 (pipetowanie i pulowanie).

Wyniki tego badania wykazały, że we wszystkich powtórzeniach stwierdzono reaktywność względem każdego materiału docelowego, co dało częstość występowania błędu systemowego na poziomie 0%. Dolna granica dwustronnego 95% dokładnego przedziału ufności wyniosła 0%, a górna 1,22% [0%: 1,22%].

Kontaminacja między próbkami

Częstość występowania zanieczyszczenia pomiędzy próbkami w teście cobas® MPX określono poprzez oznaczenie w 240 powtórzeniach próbki prawidłowego osocza ludzkiego niezawierającego wirusów (HIV, HCV oraz HBV) i pobranego na EDTA oraz w 220 powtórzeniach próbki wirusa HBV o wysokim mianie na poziomie 1,00E+08 IU/ml. Badanie przeprowadzono z wykorzystaniem cobas® 8800. Łącznie wykonano 5 przebiegów z użyciem próbek dodatnich i ujemnych w układzie naprzemiennym.

Wszystkie 240 powtórzeń dla próbek ujemnych nie wykazało reaktywności, co dało częstość występowania kontaminacji pomiędzy próbkami na poziomie 0%. Dolna granica dwustronnego 95% dokładnego przedziału ufności wyniosła 0%, a górna 1,53% [0%: 1,53%].

Próbki od dawców nieżyjących

Czułość

Czułość kliniczną testu **cobas® MPX** dla RNA wirusa HIV-1 grupy M, RNA wirusa HIV-1 grupy O, RNA wirusa HIV-2, RNA wirusa HCV oraz DNA wirusa HBV oceniono przez przebadanie łącznie 60 pojedynczych, niezawierających wirusów próbek od dawców nieżyjących, spośród których 35 pojedynczych próbek sklasyfikowano jako umiarkowanie zhemolizowane (kolor od słomkowego do różowego), a 25 sklasyfikowano jako silnie zhemolizowane (kolor od czerwonego do brązowego). Dodatkowo przebadano łącznie 60 pojedynczych, niezawierających wirusów próbek od dawców żyjących. Wszystkie próbki od dawców nieżyjących i żyjących podzielono równo na 5 mieszanych grup próbek klinicznych (dla wirusa HIV-1 grupy M, HCV oraz HBV), obejmujących 12 próbek na grupę przydzielonych do 3 serii odczynników. Do każdej próbki od dawcy nieżyjącego i żyjącego dodano wspólną mieszaninę trzech niepowtarzalnych próbek klinicznych (HIV-1 grupy M, HCV oraz HBV) lub pierwszorzędowe standardy firmy Roche (HIV-1 grupy O oraz HIV-2 w oddzielnych mieszaninach) do uzyskania stężenia wynoszącego w przybliżeniu 5-krotność wartości LoD dla określonych rodzajów próbek. Każdą próbkę od dawcy nieżyjącego rozcieńczono w aparatu w stosunku 1:5,6 z użyciem odczynnika **cobas® omni Specimen Diluent** i przebadano z wykorzystaniem procedury oznaczeń próbek od dawców nieżyjących.

W przypadku wszystkich próbek od dawców nieżyjących i żyjących częstość wyników reaktywnych wyniosła 100% (95% przedział ufności: 94,0–100%). Czułość kliniczna obserwowana w przypadku próbek od dawców nieżyjących była równoważna z czułością w przypadku próbek od dawców żyjących, co określono za pomocą dokładnego testu Fishera. Podsumowanie wyników zawiera Tabela 35.

Tabela 35 Podsumowanie częstości wyników reaktywnych w próbkach osocza pobranego na EDTA, pochodzących od dawców nieżyjących i żyjących

Oznaczany składnik	Próbka od dawcy nieżyjącego	Próbka od dawcy żyjącego
	Odsetek wyników reaktywnych (liczba wyników reaktywnych/liczba przebadanych próbek)	Odsetek wyników reaktywnych (liczba wyników reaktywnych/liczba przebadanych próbek)
HIV-1 grupa M	100% (60/60)	100% (60/60)
HIV-1 grupa O	100% (60/60)	100% (60/60)
HIV-2	100% (60/60)	100% (60/60)
HCV	100% (60/60)	100% (60/60)
HBV	100% (60/60)	100% (60/60)
Dokładny test Fishera, wartość p ($\alpha = 0,05$)	Brak istotnych różnic w częstości wyników reaktywnych ($p = 1,000$)	

Swoistość

Swoistość testu **cobas® MPX** w przypadku próbek osocza pobranego na EDTA oraz surowicy od dawców nieżyjących oceniono i porównano ze swoistością w przypadku próbek od dawców żyjących przez oznaczenie w jednym powtórzeniu 60 pojedynczych próbek osocza pobranego na EDTA od dawców nieżyjących, spośród których 37 pojedynczych próbek dawców sklasyfikowano jako umiarkowanie zhemolizowane (kolor od słomkowego do różowego), a 23 sklasyfikowano jako silnie zhemolizowane (kolor od czerwonego do brązowego), 61 pojedynczych próbek surowicy od dawców nieżyjących, spośród których 42 pojedyncze próbki sklasyfikowano jako umiarkowanie zhemolizowane, a 19 sklasyfikowano jako silnie zhemolizowane, 60 pojedynczych seronegatywnych próbek osocza od dawców żyjących oraz 60 pojedynczych próbek surowicy. Badanie przeprowadzono z wykorzystaniem 3 niezależnych serii odczynników testu **cobas® MPX**. Każdą próbkę od dawcy nieżyjącego rozcieńczono w aparacie w stosunku 1:5,6 z użyciem odczynnika **cobas® omni Specimen Diluent** i przebadano z wykorzystaniem procedury oznaczeń próbek od dawców nieżyjących. Wszystkie próbki osocza pobranego na EDTA i surowicy od dawców nieżyjących i żyjących były niereaktywne, co skutkowało swoistością na poziomie 100%. Swoistość obserwowana w przypadku próbek od dawców nieżyjących była równa swoistości stwierdzonej w przypadku próbek od dawców żyjących, co określono w dokładnym teście Fishera ($\alpha = 0,05$). Podsumowanie wyników zawiera Tabela 36.

Tabela 36 Podsumowanie swoistości w przypadku próbek osocza pobranego na EDTA i surowicy pochodzących od dawców nieżyjących i żyjących

Matryce	Rodzaj próbki	Liczba wyników niereaktywnych	Liczba przebadanych próbek	Odsetek wyników niereaktywnych	Dwustronny 95% przedział ufności
Osocze krwi pobranej na EDTA	Dawca nieżyjący	60	60	100%	94,0–100%
	Dawca żyjący	60	60	100%	94,0–100%
Surowica	Dawca nieżyjący	61	61	100%	94,1–100%
	Dawca żyjący	60	60	100%	94,0–100%
Ogólne wyniki uzyskane z użyciem dokładnego testu Fishera ($\alpha = 0,05$)		Swoistość w przypadku próbek od dawców nieżyjących i żyjących jest równoważna: dokładny test Fishera, $p = 1,000$			

Odtwarzalność

Powtarzalność testu **cobas® MPX** w systemach **cobas® 6800/8800** oceniono z wykorzystaniem 20 próbek od dawców nieżyjących (umiarkowanie i silnie zhemolizowanych), do których dodano próbki kliniczne wirusa HIV-1 grupy M, HBV i HCV oraz pierwszorzędowe standardy firmy Roche dla RNA wirusa HIV-1 grupy O oraz RNA wirusa HIV-2 do uzyskania stężenia wynoszącego w przybliżeniu 5-krotność wartości LoD testu **cobas® MPX**. Wyniki porównano z powtarzalnością uzyskaną w przypadku 20 próbek od dawców żyjących, do których dodano pierwszorzędowe i drugorzędowe standardy firmy Roche do uzyskania stężenia wynoszącego w przybliżeniu 5-krotność wartości LoD testu **cobas® MPX**.

W badaniu oceniono następujące elementy zmienności:

- zmienność pomiędzy dniami w okresie 6 dni;
- zmienność pomiędzy seriami przy wykorzystaniu 3 różnych serii odczynników testu **cobas® MPX**;

Przebadano jedno powtórzenie z użyciem każdej z 3 serii odczynników w okresie 6 dni, co dało łącznie po 18 powtórzeń dla próbek od dawców nieżyjących i żyjących. Każdą próbkę od dawcy nieżyjącego rozcieńczono w aparacie w stosunku 1:5,6 z użyciem odczynnika **cobas® omni** Specimen Diluent i przebadano z wykorzystaniem procedury oznaczeń próbek od dawców nieżyjących. Wszystkie ważne dane dotyczące powtarzalności oceniono przez porównanie częstości wyników reaktywnych w przypadku próbek od dawców żyjących i nieżyjących (dwustronne 95% przedziały ufności) w odniesieniu do wszystkich elementów zmienności. Dokładna wartość p testu Fishera została obliczona dla testu istotności statystycznej różnicy między proporcjami reaktywności obserwowanej w przypadku próbek pochodzących od dawców nieżyjących i żyjących. Nie zaobserwowano istotnych różnic.

Wyniki testu **cobas® MPX** są powtarzalne w okresie wielu dni i z użyciem wielu serii odczynników w przypadku próbek od dawców nieżyjących i żyjących. Tabela 37 zawiera zestawienie wyników dla zmienności pomiędzy seriami odczynników.

Tabela 37 Podsumowanie powtarzalności testu **cobas® MPX** pomiędzy seriami odczynników w przypadku próbek od dawców nieżyjących i żyjących

Oznaczany składnik	Seria odczynnika	Rodzaj próbki	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/ ważne powtórzenia)	Dolna granica 95% przedziału ufności	Górna granica 95% przedziału ufności	Istotna różnica z użyciem dokładnego testu Fishera ($\alpha = 0,05$)
HIV-1 grupa M	1	Dawca nieżyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Wartość p = 1,0000
		Dawca żyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	2	Dawca nieżyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Wartość p = 1,0000
		Dawca żyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	3	Dawca nieżyjący	100,0% (118/118)	96,9%	100,0%	Wartość p = 1,0000
		Dawca żyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
HIV-1 grupa O	1	Dawca nieżyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Wartość p = 1,0000
		Dawca żyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	2	Dawca nieżyjący	100,0% (117/117)	96,9%	100,0%	Wartość p = 1,0000
		Dawca żyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	3	Dawca nieżyjący	99,2% (118/119)	95,4%	100,0%	Wartość p = 0,4979
		Dawca żyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
HIV-2	1	Dawca nieżyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Wartość p = 1,0000
		Dawca żyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	2	Dawca nieżyjący	98,3% (118/120)	94,1%	99,8%	Wartość p = 0,4979
		Dawca żyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	3	Dawca nieżyjący	99,2% (118/119)	95,4%	100,0%	Wartość p = 0,4979
		Dawca żyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	

Oznaczany składnik	Seria odczynnika	Rodzaj próbki	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/ ważne powtórzenia)	Dolna granica 95% przedziału ufności	Górna granica 95% przedziału ufności	Istotna różnica z użyciem dokładnego testu Fishera ($\alpha = 0,05$)
HCV	1	Dawca nieżyjący	98,3% (118/120)	94,1%	99,8%	Wartość p = 0,4979
		Dawca żyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	2	Dawca nieżyjący	98,3% (118/120)	94,1%	99,8%	Wartość p = 0,4979
		Dawca żyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	3	Dawca nieżyjący	97,5% (115/118)	92,7%	99,5%	Wartość p = 0,1203
		Dawca żyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
HBV	1	Dawca nieżyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Wartość p = 1,0000
		Dawca żyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	2	Dawca nieżyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Wartość p = 1,0000
		Dawca żyjący	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	3	Dawca nieżyjący	100,0% (118/118)	96,9%	100,0%	Wartość p = 1,0000
		Dawca żyjący	99,2% (119/120)	95,4%	100,0%	

Ocena skuteczności w badaniach klinicznych przeprowadzona w systemach cobas® 6800/8800

Odtwarzalność

Odtwarzalność testu **cobas®** MPX stosowanego w systemach **cobas®** 6800/8800 ustalono poprzez testy na panelu wirusów, zawierającym HIV-1 z grupy M, z grupy O, HIV-2, HCV i/lub HBV w trzech różnych stężeniach dla każdego wirusa, niezależnie od serii, ośrodka/aparatu, dnia i partii.

Operatorzy w każdym z ośrodków stosowali test **cobas®** MPX przez pięć dni badań używając trzech serii odczynników **cobas®** MPX w celu uzyskania dwóch ważnych partii na dzień.

Tabela 38 przedstawia procentową zgodność według ośrodka/aparatu, serii, dnia i partii na podstawie ważnych wyników testów na dodatnich elementach panelu. Badanie to wykazało, że **cobas®** MPX do użytku w systemach **cobas®** 6800/8800 wykazuje się odtwarzalnością wyników wśród ocenianych zmiennych (seria, ośrodek/aparat, dzień i partia) dla każdego z pięciu badanych analitów.

Tabela 38 Wyniki testu podsumowane według ośrodka/aparatu, serii, dnia i partii (dodatnie elementy panelu)

Docelowy wirus	Stężenie wirusa	Ośrodek/aparat		Seria		Dzień		Partia	
		ID	% wyników dodatnich	ID	% wyników dodatnich	ID	% wyników dodatnich	ID	% wyników dodatnich
HIV-1 grupa M	~0,5 × LoD	1	81,7% (49/60)	1	81,7% (49/60)	1	91,7% (33/36)	1	84,3% (75/89)
		2	84,7% (50/59)	2	88,3% (53/60)	2	77,1% (27/35)	2	81,1% (73/90)
		3	81,7% (49/60)	3	78,0% (46/59)	3	83,3% (30/36)		
						4	83,3% (30/36)		
						5	77,8% (28/36)		
	~1 × LoD	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (60/60)	1	97,2% (35/36)	1	100,0% (90/90)
		2	100,0% (60/60)	2	100,0% (60/60)	2	97,2% (35/36)	2	97,8% (88/90)
		3	96,7% (58/60)	3	96,7% (58/60)	3	100,0% (36/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	100,0% (36/36)		
	~3 × LoD	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (36/36)	1	100,0% (90/90)
		2	100,0% (60/60)	2	100,0% (60/60)	2	100,0% (36/36)	2	100,0% (90/90)
		3	100,0% (60/60)	3	100,0% (60/60)	3	100,0% (36/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	100,0% (36/36)		

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

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

Swoistość kliniczna

Reaktywność w całej populacji dawców krwi

Próbki pobrano od dawców krwi, którzy wyrazili zgodę, zrekrutowanych w czterech ośrodkach badawczych. Badanie z wykorzystaniem testu **cobas® MPX** przeprowadzono zgodnie z dwoma algorytmami testowania: jednego dla oznaczeń próbek od pojedynczego dawcy (wymagających pojedynczego poziomu testu) oraz jednego dla testowania w pulach z sześciu próbek (wymagających pojedynczego poziomu testu dla pul głównych, które nie były reaktywne, oraz dwóch poziomów testu – puli głównej i badania rozdzielczości próbek od pojedynczego dawcy dla pul głównych, które były reaktywne) (Tabela 39). Swoistość puli wyniosła 99,91% (10 524/10 534; 99,83–99,95%) (Tabela 40). Dziesięć pul reaktywnych zawierało wszystkie donacje o wyniku ujemnym. Swoistość kliniczna oznaczeń próbek od pojedynczego dawcy wyniosła 99,95% (95% CI: od 99,88% do 99,98%). Odsetek nieważnych partii w teście **cobas® MPX** w przypadku donacji z badania początkowego w pulach z sześciu próbek wyniósł 3,5% (18/509), a w przypadku pojedynczych donacji – 6,8% (16/219). W trakcie tego badania zidentyfikowano metodą NAT dwa przypadki dodatnie wobec HCV.

Tabela 39 Swoistość kliniczna testu **cobas® MPX** ogółem

Wielkość puli	Częstotliwość (n/N)	Szacowana wartość procentowa (95% dokładny przedział ufności Cloppera-Pearsona)
Pojedyncza donacja (osocze)	5523/5528	99,91% (99,79–99,986%)
Pojedyncza donacja (surowica)	5669/5670	99,98% (99,90–100,00%)
Pojedyncza donacja (osocze/surowica)	11 192/11 198	99,95% (99,88–99,98%)
Pule 6 próbek (osocze)	62 982/62 982	100,00% (99,99–100,00%)

N = całkowita liczba donacji o wyniku ujemnym; n = donacje niereaktywne w teście **cobas® MPX**

Tabela 40 Reaktywność pul od honorowych dawców krwi w teście **cobas® MPX**

Kategoria	Liczba pul	Odsetek przetestowanych pul
Pule testowane	10 563	100
Pule niereaktywne	10 524	99,63
Pule reaktywne	39	0,37
Pule reaktywne ze stanem dawcy dodatniego	29	0,27
Pule reaktywne ze stanem dawcy ujemnego (wynik fałszywie dodatni)*	10	0,10

* Spośród 10 fałszywie reaktywnych pul jedna była fałszywie reaktywna wobec HIV, cztery – wobec HCV, a pięć – wobec HBV.

Reaktywność w populacji dawców osocza wyjściowego

Łącznie 108 306 możliwych do oceny donacji pochodzących od 24 514 osobnych dawców przetestowano w pulach po 96, stosując test **cobas®** MPX i zatwierdzony przez FDA multiplex test NAT. Uzyskano wyniki ujemne 108 297 donacji w kierunku antygenów anty-HIV, anty-HCV i HBsAg (Tabela 41). Stan donacji określano na podstawie zgodności dwóch testów w kierunku danego wirusa (np. wyników dwóch testów NAT lub NAT i testu serologicznego), przeprowadzonych na pierwotnej donacji, lub wyników testów kontrolnych. Z wykorzystaniem testu **cobas®** MPX przebadano łącznie 1106 możliwych do oceny pul, spośród których 1092 (98,7%) było niereaktywnych, a 14 (1,3%) wykazało reaktywność. Spośród 1092 pul niereaktywnych 1090 pul zawierało wszystkie donacje o stanie ujemnym, a dwie pule zawierały co najmniej jedną donację o stanie dodatnim. Spośród 1106 przetestowanych pul dwie były niereaktywne z co najmniej jedną donacją o stanie dodatnim i siedem reaktywnych z co najmniej jedną donacją o stanie dodatnim (Tabela 42).

Tabela 41 Swoistość kliniczna testu **cobas®** MPX – poziom donacji

Parametr	Łączna liczba donacji o stanie ujemnym	Wynik testu cobas® MPX		Szacowana wartość procentowa (95% dokładny CI)
		Reaktywne	Niereaktywne	
Swoistość kliniczna	108 297	6	108 291	99,99 (99,99, 100,00)
Swoistość kliniczna wobec HIV	108 297	3	108 294	100,00 (99,99, 100,00)
Swoistość kliniczna wobec HCV	108 297	1	108 296	100,00 (100,00, 100,00)
Swoistość kliniczna wobec HBV	108 297	2	108 295	100,00 (99,99, 100,00)

Tabela 42 Reaktywność pul w donacjach osocza wyjściowego

Kategoria	Liczba pul	Odsetek przetestowanych pul
Suma przetestowanych pul po 96 donacji ^a :	1106	100
Pule niereaktywne ^b	1092	98,7
Pule niereaktywne ze wszystkimi donacjami o stanie ujemnym	1090	98,6 (1090/1106)
Pule niereaktywne z co najmniej jedną donacją o stanie dodatnim	2 ^c	0,2 (2/1106)
Pule reaktywne ^b	14	1,3
Pule reaktywne z co najmniej jedną donacją o stanie dodatnim	7	0,6 (7/1106)
Pule reaktywne z donacjami o stanie ujemnym (pule fałszywie reaktywne)	7	0,6 (7/1106)

^a 479/1106 pul miało < 96 donacji.

^b Stan donacji określano na podstawie zgodności dwóch testów w kierunku danego wirusa (np. wyników dwóch testów NAT lub NAT i testu serologicznego), przeprowadzonych na pierwotnej donacji, lub wyników testów kontrolnych.

^c Te dwie niereaktywne pule zawierały donacje od dawcy zakażonego HBV. Pierwotna donacja od danego dawcy była dodatnia względem HBV w teście **cobas®** MPX i ujemna w teście **cobas®** TaqScreen MPX, następnie wynik dodatni został potwierdzony w alternatywnym teście NAT o wysokiej czułości. Dawca ten dokonał trzech kolejnych donacji, które były niereaktywne w obu testach przesiewowych NAT. Jedna z tych donacji znajdowała się w puli dodatniej wobec HCV.

Jedenastu odrębnych dawców przekazało 12 donacji reaktywnych (sześć HCV, trzy HIV i trzy HBV). U siedmiu dawców wykonano badania kontrolne: u trzech z nich nie stwierdzono zakażenia, natomiast u czterech potwierdzono zakażenie, z czego u dwóch doszło do serokonwersji (HCV) w okresie kontrolnym (Tabela 43). U jednego z trzech dawców z HBV wykryto wirusa metodą NAT.

Tabela 43 Obserwowane wzorce reaktywności z początkowych testów możliwych do oceny donacji

Wynik testu cobas® MPX	Stan donacji ^a	Liczba donacji
HCV+	Dodatni	5
HBV+	Ujemny	2
HBV+	Dodatni	4 ^b
HCV+	Ujemny	1
HIV+	Ujemny	3
Niereaktywne	Ujemny	108 291
	Ogółem	108 306

^a Stan donacji określano na podstawie wzorca reaktywności („zgodności” dwóch testów w kierunku danego wirusa [np. wyników dwóch testów NAT lub NAT i testu serologicznego], przeprowadzonych na pierwotnej donacji, lub wyników testów kontrolnych).

^b Wszystkie te donacje pochodzą od tego samego dawcy, którego pierwotna donacja była HBV+ i którego kolejne trzy donacje uzyskały stan dodatni, mimo że test cobas® MPX był niereaktywny na HBV.

Uwaga: w tej tabeli z podsumowaniem ujęto jedynie donacje możliwe do oceny; + = reaktywny/dodatni.

Swoistość kliniczną testu cobas® MPX dla pul osocza wyjściowego ustalono, analizując 108 306 możliwych do oceny donacji pochodzących od 24 514 odrębnych dawców. Możliwe do oceny donacje miały ważne wyniki testów cobas® MPX, cobas® TaqScreen MPX i CAS z badania w pulach, a także ważne wyniki testów serologicznych (różnych analitów) z badań pojedynczych donacji. Spośród tych 108 306 możliwych do oceny donacji 108 297 został przypisany ujemny stan donacji, 108 291 było niereaktywnych w teście cobas® MPX, dla swoistości klinicznej 99,994% (95% przedział ufności: od 99,988% do 99,997%). W przypadku siedmiu fałszywie reaktywnych w teście cobas® MPX pul obejmujących 96 donacji rozstrzygnięto, że stan wszystkich donacji jest ujemny. Spośród 24 514 przebadanych osobnych dawców 24 509 przekazało jedynie donacje ujemne, w tym 24 503 były niereaktywne w teście cobas® MPX, a 6 miało wyniki fałszywie ujemne, co dało swoistość (na poziomie dawców) 99,976% (95% przedział ufności: od 99,947% do 99,989%).

Badania w populacjach wysokiego ryzyka

Zewnętrzni dostawcy pobierali próbki od osób z grupy wysokiego ryzyka zakażenia wirusem HIV, HCV lub HBV. Uwzględniono między innymi następujące czynniki wysokiego ryzyka: pobyt w więzieniu w wywiadzie, rozpoznanie choroby przenoszonej drogą płciową w wywiadzie, liczni partnerzy seksualni w wywiadzie, stosowanie leków we wstrzyknięciach oraz rozpoznanie lub leczenie zakażenia wirusem HIV lub wirusem zapalenia wątroby. Niektórzy dawcy próbek wskazali więcej niż jeden czynnik ryzyka. Łącznie 510 próbek z populacji wysokiego ryzyka podzielono mniej więcej po równo pomiędzy trzy ośrodki badawcze i przebadano przy użyciu testu cobas® MPX i cobas® TaqScreen MPX, obejmującego CAS.

Wszystkie próbki przygotowano w postaci paneli. Rozcieńczone próbki rozcieńczano ręcznie z użyciem pul osocza ludzkiego z potwierdzonym ujemnym wynikiem badań na obecność wirusów HIV-1/2, HCV oraz HBV. W ośrodkach badawczych nierozcieńczone próbki oznaczano z użyciem testu cobas® MPX i cobas® TaqScreen obejmującego CAS (w celu docelowego rozstrzygnięcia), zgodnie ze standardową procedurą opracowywania próbek zalecaną w ulotce dołączonej do opakowania testu cobas® TaqScreen MPX. Probki oznaczono również w rozcieńczeniu w celu symulacji puli sześciu próbek z użyciem testu cobas® MPX i cobas® TaqScreen. Nie wykonano testu CAS na próbkach rozcieńczonych.

W 510 próbkach nierozcieńczonych uzyskano następujące wyniki testów cobas® MPX i cobas® TaqScreen MPX: 179 próbek reaktywnych (wobec jednego lub więcej wirusa docelowego) w teście cobas® MPX (35,1%) oraz 181 próbek reaktywnych w teście cobas® TaqScreen MPX (35,5%). Zgodne wyniki testów cobas® MPX i cobas® TaqScreen MPX

uzyskano w przypadku 488 (95,7%) próbek, natomiast 22 (4,3%) próbki dały w testach **cobas® MPX** i **cobas® TaqScreen MPX** wyniki niezgodne.

Podczas oznaczeń 510 nierozcieńczonych próbek wysokiego ryzyka test **cobas® MPX** umożliwił poprawną identyfikację obecności lub braku wirusa docelowego w 97,0% (495/510) przypadków, co jest porównywalne z wynikami testu CAS i alternatywnego testu NAT (NGI; Krajowy Instytut Genetyki). Spośród 3% próbek, dla których **cobas® MPX** nie umożliwił poprawnej identyfikacji obecności lub braku wirusa docelowego, **cobas® MPX** wykrył wirusa docelowego w próbkach, które go nie zawierały, w 1,8% (9/510) przypadków (wynik fałszywie reaktywny) i nie wykrył wirusa docelowego w próbkach, które go zawierały, w 1,2% (6/510) przypadków (wynik fałszywie niereaktywny). Podsumowanie tych wyników zawiera Tabela 44.

Tabela 44 Prawidłowa i nieprawidłowa identyfikacja wirusa – próbki nierozcieńczone

	Wynik testu cobas® MPX ^a	%	Wyniki poprawne łącznie
Wyniki poprawne, reaktywne	170	97,0%	495
Wyniki poprawne, niereaktywne	325		
Wyniki fałszywie reaktywne	9	1,8%	15
Wyniki fałszywie niereaktywne	6	1,2%	
Ogółem	510	100,0%	510

^a Końcowy stan (w porównaniu z wynikami testów CAS lub alternatywnych NAT [NGI]).

Uwaga: prawidłowa identyfikacja = prawidłowe wyniki reaktywne i niereaktywne (pogrubioną czcionką).

Spośród 510 zbadanych rozcieńczonych próbek 153 próbki były reaktywne w teście **cobas® MPX** (30,0%), a 151 próbek było reaktywnych w teście **cobas® TaqScreen MPX** (29,6%). Spośród tych 510 rozcieńczonych próbek zgodne wyniki testów **cobas® MPX** i **cobas® TaqScreen MPX** uzyskano w przypadku 484 (94,9%) próbek, natomiast 26 (5,1%) próbek dało w testach **cobas® MPX** i **cobas® TaqScreen MPX** wyniki niezgodne.

Test **cobas® MPX** umożliwił poprawną identyfikację wirusa docelowego w 96,7% (492/509) przypadków (509 rozcieńczonych próbek; jedną próbkę wyłączono z analizy, ponieważ nie uzyskano dla niej wyniku NGI). Spośród 3,4% próbek, dla których **cobas® MPX** nie umożliwił poprawnej identyfikacji wirusa docelowego, **cobas® MPX** wykrył wirusa docelowego w próbkach, które go nie zawierały, w 1,2% (6/509) przypadków (wynik fałszywie reaktywny) i nie wykrył wirusa docelowego w próbkach, które go zawierały, w 2,2% (11/509) przypadków (wynik fałszywie niereaktywny). Podsumowanie tych wyników zawiera Tabela 45.

Tabela 45 Prawidłowa i nieprawidłowa identyfikacja wirusa – próbki rozcieńczone

	Wynik testu cobas® MPX ^a	%	Wyniki poprawne łącznie
Wyniki poprawne, reaktywne	147	96,7	492
Wyniki poprawne, niereaktywne	345		
Wyniki fałszywie reaktywne	6	1,2	17
Wyniki fałszywie niereaktywne	11	2,2	
Ogółem	509 ^b	100	509 ^b

^a Końcowy stan (w porównaniu z wynikami testów CAS lub alternatywnych NAT [NGI]), uzyskany na podstawie porcji nierozcieńczonych próbek.

^b Wykluczono jedną próbkę, dla której nie uzyskano wyniku NGI.

Uwaga: prawidłowa identyfikacja = prawidłowe wyniki reaktywne i niereaktywne (pogrubioną czcionką).

Czułość kliniczna

Badania nad populacjami z dodatnim wynikiem NAT

Wykonano oznaczenia łącznie 2569 próbek z dodatnim wynikiem NAT w kierunku HIV, HCV i HBV w czterech ośrodkach badawczych przy użyciu testu **cobas® MPX** i **cobas® TaqScreen MPX**, obejmującego CAS. Zastosowano cztery serie odczynników **cobas® MPX**. Na 2569 próbek o znanym dodatnim wyniku NAT, 1015 próbek było dodatnich wobec HIV, 1016 – dodatnich wobec HCV i 538 – dodatnich wobec HBV. Każda z tych próbek została przebadana przed rozcieńczeniem i w rozcieńczeniu (1:6) za pomocą testu **cobas® MPX** i **cobas® TaqScreen MPX**. Tylko nierozcieńczone próbki były badane z wykorzystaniem licencjonowanych testów CAS zgodnie ze standardową procedurą opracowywania próbek zalecaną w ulotce dołączonej do opakowania testu **cobas® TaqScreen MPX**. Tabela 46 porównuje czułość testu **cobas® MPX** i **cobas® TaqScreen** na podstawie próbek o znanym wyniku dodatnim wobec HIV, HCV i HBV.

Ogólna czułość kliniczna testu **cobas® MPX** wynosiła 100,0% (2549/2549) dla nierozcieńczonych, dodatnich próbek i 100,0% (2555/2555) dla rozcieńczonych (1:6) próbek o znanym wyniku dodatnim. Ogólna czułość kliniczna testu **cobas® TaqScreen MPX** wynosiła 99,9% (2523/2524) dla nierozcieńczonych, dodatnich próbek i 99,8% (2559/2563) dla rozcieńczonych (1:6) próbek o znanym wyniku dodatnim. Ogólna zgodność wyników dodatnich (PPA) pomiędzy testami **cobas® MPX** i **cobas® TaqScreen MPX** wynosiła w tym badaniu 100,0% dla wszystkich próbek o znanym wyniku dodatnim, zarówno rozcieńczonych, jak i nierozcieńczonych (Tabela 46).

Tabela 46 Porównanie czułości testu **cobas® MPX** i **cobas® TaqScreen** na podstawie próbek o znanym wyniku dodatnim wobec HIV, HCV i HBV

		Czułość na podstawie próbek o znanym wyniku dodatnim ^a		Różnica (wyniki testów cobas® MPX i cobas® TaqScreen MPX)	
Rozcień- zanie	Wirus docelowy	Wynik testu cobas® MPX	Test cobas® TaqScreen MPX	Wartość szacunkowa	95% przedział ufności
Nieroz- cieńczone	Ogółem	100,00% (2549/2549)	99,96% (2523/2524)	0,04%	(-0,04%, 0,12%)
	HIV	100,00% (1006/1006)	99,90% (1007/1008)	0,10%	(-0,10%, 0,29%)
	HCV	100,00% (1015/1015)	100,00% (1014/1014)	0,00%	Nie dotyczy
	HBV	100,00% (528/528)	100,00% (502/502)	0,00%	Nie dotyczy
1:6	Ogółem	100,00% (2555/2555)	99,84% (2559/2563)	0,16%	(0,00%, 0,31%)
	HIV	100,00% (1006/1006)	99,60% (1005/1009)	0,40%	(0,01%, 0,78%)
	HCV	100,00% (1016/1016)	100,00% (1016/1016)	0,00%	Nie dotyczy
	HBV	100,00% (533/533)	100,00% (538/538)	0,00%	Nie dotyczy

^a Do analizy czułości włączono tylko próbki o znanym, ważnym dodatnim wyniku oznaczenia.

Populacja z dodatnim wynikiem NAT wobec HIV

W oznaczeniach 1015 nierozcieńczonych próbek dodatnich wobec HIV uzyskano 1006 możliwych do oceny wyników z użyciem testu **cobas® MPX** i 1008 – z użyciem testu **cobas® TaqScreen MPX** obejmującego CAS. W oznaczeniach 1015 rozcieńczonych próbek dodatnich wobec HIV uzyskano 1006 możliwych do oceny wyników z użyciem testu **cobas® MPX** i 1009 – z użyciem testu **cobas® TaqScreen MPX** (nie przeprowadzono CAS na próbkach rozcieńczonych).

Test **cobas® MPX** wykazał reaktywność w przypadku 1006 z 1006 (100,0%) dodatnich wobec HIV próbek nierozcieńczonych i 1006 z 1006 (100,0%) próbek rozcieńczonych. Test **cobas® TaqScreen MPX** obejmujący CAS wykazał reaktywność w przypadku 1007 z 1008 (99,90%) dodatnich wobec HIV próbek nierozcieńczonych. Test **cobas® TaqScreen MPX**

nieobejmujący CAS wykazał reaktywność w przypadku 1005 z 1009 (99,60%) dodatnich wobec HIV próbek rozcieńczonych. Wartości PPA dla testów cobas® MPX oraz cobas® TaqScreen MPX w przypadku nierozcieńczonych i rozcieńczonych próbek dodatnich wobec HIV wyniosły odpowiednio 100,0% i 100,0%.

Populacja z dodatnim wynikiem NAT wobec HCV

Test cobas® MPX wykazał reaktywność w przypadku 1015 z 1015 (100,0%) dodatnich wobec HCV próbek nierozcieńczonych i 1016 z 1016 (100,0%) HCV próbek rozcieńczonych. Test cobas® TaqScreen MPX obejmujący CAS wykazał reaktywność w przypadku 1014 z 1014 (100,0%) próbek nierozcieńczonych. Test cobas® TaqScreen MPX nieobejmujący CAS wykazał reaktywność w przypadku 1016 z 1016 (100,0%) próbek rozcieńczonych. Wartości PPA dla testów cobas® MPX oraz cobas® TaqScreen MPX w przypadku nierozcieńczonych i rozcieńczonych próbek dodatnich wobec HCV wyniosły odpowiednio 100,0% i 100,0%.

Populacja z dodatnim wynikiem NAT wobec HBV

W oznaczeniach 538 nierozcieńczonych próbek dodatnich wobec HBV uzyskano 528 możliwych do oceny wyników z użyciem testu cobas® MPX i 502 – z użyciem testu cobas® TaqScreen MPX obejmującego CAS. W oznaczeniach 538 rozcieńczonych próbek dodatnich wobec HBV uzyskano 533 możliwych do oceny wyników z użyciem testu cobas® MPX i 538 – z użyciem testu cobas® TaqScreen MPX (nie przeprowadzono CAS na próbkach rozcieńczonych).

Test cobas® MPX wykazał reaktywność w przypadku 528 z 528 (100,0%) dodatnich wobec HBV próbek nierozcieńczonych i 533 z 533 (100,0%) próbek rozcieńczonych. Test cobas® TaqScreen MPX obejmujący CAS wykazał reaktywność w przypadku 502 z 502 (100,0%) dodatnich wobec HBV próbek nierozcieńczonych. Test cobas® TaqScreen MPX nieobejmujący CAS wykazał reaktywność w przypadku 538 z 538 (100,0%) dodatnich wobec HBV próbek rozcieńczonych. Wartości PPA dla testów cobas® MPX oraz cobas® TaqScreen MPX w przypadku nierozcieńczonych i rozcieńczonych próbek dodatnich wobec HBV wyniosły odpowiednio 100,0% i 100,0%.

Czułość kliniczna w populacji seropozytywnej względem wirusa HIV-1 grupy O oraz HIV-2

Populacja seropozytywna względem wirusa HIV-1 grupy O

Z wykorzystaniem testu cobas® MPX i cobas® TaqScreen MPX przebadano łącznie 12 próbek seropozytywnych względem wirusa HIV-1 grupy O po rozcieńczeniu w stosunku 1:6. Próbkę badano po rozcieńczeniu w stosunku 1:6 z powodu ograniczonej objętości. Wszystkie próbki z HIV-1 grupy O były reaktywne wobec HIV w teście cobas® MPX po rozcieńczeniu 1:6, jak podsumowuje Tabela 47, dając wrażliwość kliniczną 100,0% względem badań serologicznych.

Tabela 47 Porównanie ogólnej reaktywności dla próbek seropozytywnych względem wirusa HIV-1 grupy O (rozcieńczenie 1:6)

Test cobas® TaqScreen MPX (rozcieńczenie 1:6)	Test cobas® MPX (rozcieńczenie 1:6)		Ogółem
	Reaktywne	Niereaktywne	
Reaktywne	11	0	11
Niereaktywne	1	0	1
Ogółem	12	0	12

Populacja seropoztywna względem wirusa HIV-2

Z wykorzystaniem testu cobas® MPX i cobas® TaqScreen MPX przebadano łącznie 319 próbek seropoztywnych względem wirusa HIV-2. Spośród 319 próbek seropoztywnych 184 zostały przebadane nierozcieńczone i rozcieńczone w stosunku 1:6 testem cobas® MPX i cobas® TaqScreen MPX, natomiast pozostałe 135 zostało przebadanych tylko w rozcieńczeniu w stosunku 1:6 ze względu na małą objętość.

Łącznie 137 z 184 próbek nierozcieńczonych było reaktywnych, jak podsumowano w Tabeli 48, przy czułości klinicznej 74,5% w odniesieniu do testu serologicznego cobas® MPX. Porównywalną czułość testu cobas® MPX względem wirusa HIV-2 wykazano również po rozcieńczeniu próbek w stosunku 1:6 przed wykonaniem testów z użyciem obu metod. Łącznie 198 z 319 próbek rozcieńczonych w stosunku 1:6 wykazało reaktywność w teście cobas® MPX, jak podsumowano w Tabeli 49.

Tabela 48 Porównanie ogólnej reaktywności dla próbek seropoztywnych względem wirusa HIV-2 (nierozcieńczone)

Test cobas® TaqScreen MPX (nierozcieńczone)	Test cobas® MPX (nierozcieńczone)		Ogółem
	Reaktywne	Niereaktywne	
Reaktywne	118	7	125
Niereaktywne	19	40	59
Ogółem	137	47	184

Tabela 49 Porównanie ogólnej reaktywności dla próbek seropoztywnych względem wirusa HIV-2 (rozcieńczenie 1:6)

Test cobas® TaqScreen MPX (rozcieńczenie 1:6)	Test cobas® MPX (rozcieńczenie 1:6)		Ogółem
	Reaktywne	Niereaktywne	
Reaktywne	173	33	206
Niereaktywne	25	88	113
Ogółem	198	121	319

Potwierdzenie wyników badań serologicznych

Dane z badania próbek o znanych wynikach dodatnich objęły 2555 próbek, z których każda została oznaczona w teście kwasu nukleinowego (NAT)-potwierdzone zakażenie wirusem HIV, HCV lub HBV, a także w teście serologicznym. Dla 1771 (69,3%) próbek znane były również wyniki dodatkowych testów serologicznych. Porównano prawidłowy wynik **cobas® MPX**, zdefiniowany jako reaktywność wobec wirusa docelowego próbek o znanych wynikach dodatnich (np. HIV, HCV lub HBV), z wynikami dodatkowych testów serologicznych. Odsetek prawidłowych wyników (szacunkowa czułość) testu **cobas® MPX** obliczono dla poszczególnych wirusów docelowych i ogółem przy 95% przedziałach ufności (CI).

Test **cobas® MPX** umożliwił poprawne oznaczenie 1771 z 1771 (100,0%) próbek reaktywnych w testach serologicznych i dodatkowych testach serologicznych. Tabela 50 pokazuje reaktywność testu **cobas® MPX** dla każdego docelowego analitu wirusowego, w porównaniu ze znanymi wynikami testów serologicznych i dodatkowych testów serologicznych, jak również szacunkową czułość i 95% CI ogółem i dla każdego docelowego wirusa.

Tabela 50 Czułość testu **cobas® MPX** w oznaczeniach próbek o znanym wyniku dodatnim i z potwierdzającymi wynikami testów serologicznych

Rozcień- czanie	Test	Wirus docelowy	Próbki o znanym wyniku dodatnim ogółem*	Liczba próbek reaktywnych w badaniu	Szacunkowa czułość	Punktacja 95% CI
Nieroz- cieńczane	MPX8800	Ogółem	1771	1771	100,00%	(99,78%, 100,00%)
Nieroz- cieńczane	MPX8800	HIV	496	496	100,00%	(99,23%, 100,00%)
Nieroz- cieńczane	MPX8800	HCV	747	747	100,00%	(99,49%, 100,00%)
Nieroz- cieńczane	MPX8800	HBV	528	528	100,00%	(99,28%, 100,00%)

* Niniejsza analiza wrażliwości obejmuje wyłącznie próbki o znanym wyniku dodatnim z ważnymi wynikami testu **cobas® MPX** w stanie nierozcieńczonym i potwierdzających wynikach badań serologicznych.

Dodatkowe informacje

Najważniejsze cechy testu

Rodzaj próbki	Osocze i surowica
Minimalna ilość próbki wymagana w przypadku dawcy żyjącego	1000 µl*
Przetwarzana ilość próbki w przypadku dawcy żyjącego	850 µl
Minimalna ilość próbki wymagana w przypadku dawcy nieżyjącego	300 µl*
Przetwarzana ilość próbki w przypadku dawcy nieżyjącego	150 µl

* Probówki używane do testów mogą mieć inne objętości martwe i wymagać większej lub mniejszej objętości minimalnej. Aby uzyskać więcej informacji, należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Roche.

Oznaczenia

Na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR stosuje się następujące oznaczenia.

Tabela 51 Oznaczenia stosowane na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR

Age/DOB	Wiek lub data urodzenia		Wyrób nieprzeznaczony do testów przy pacjencie	QS IU/PCR	IU QS na reakcję PCR, użyć jednostek międzynarodowych (IU) QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.
	Oprogramowanie pomocnicze		Wyrób nieprzeznaczony do samodzielnego testowania	SN	Numer seryjny
Assigned Range [copies/mL]	Przypisany zakres (kopie/mL)		Dystrybutor (Uwaga: pod symbolem może być wskazany właściwy kraj/region.)	Site	Ośrodek
Assigned Range [IU/mL]	Przypisany zakres (IU/mL)		Nie używać powtórnie	Procedure Standard	Procedura standardowa
EC REP	Autoryzowany Przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej		Kobieta	STERILE EO	Produkt sterylizowany tlenkiem etylenu
BARCODE	Arkusze kodów kreskowych		Wyłącznie do oceny działania w badaniach IVD		Przechowywać z dala od światła
LOT	Kod partii	GTIN	Numer globalny jednostki handlowej		Przestrzegać zakresu temperatury
	Zagrożenie biologiczne		Importer		Plik definicji testów
REF	Numer katalogowy	IVD	Wyrób do diagnostyki <i>in vitro</i>		Tą stroną do góry
	Oznaczenie zgodności CE — wyrób ten jest zgodny z obowiązującymi wymogami dotyczącymi oznaczenia CE dla wyrobu medycznego do diagnostyki <i>in vitro</i>	LLR	Dolna granica przypisanego zakresu	Procedure UltraSensitive	Procedura ultraczuła
Collect Date	Data pobrania		Mężczyzna	UDI	Niepowtarzalny kod identyfikacyjny wyrobu
	Sprawdź w instrukcji użytkowania		Wytwórca	ULR	Górna granica przypisanego zakresu
	Zawartość wystarczająca na <n> testów	CONTROL -	Kontrola ujemna	Urine Fill Line	Linia napełniania moczem
CONTENT	Zawartość zestawu		Wyrób niejałowy	Rx Only	Tylko Stany Zjednoczone: prawo federalne zezwala na sprzedaż tego wyrobu wyłącznie lekarzowi lub na zamówienie takiego lekarza.
CONTROL	Próba kontrolna		Nazwisko pacjenta		Termin przydatności
	Data produkcji		Numer pacjenta		
	Wyrób do testów przy pacjencie		Rozerwać tutaj		
	Wyrób do samodzielnego testowania	CONTROL +	Kontrola dodatnia		
		QS copies / PCR	Kopie QS na reakcję PCR, użyć kopii QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.		

Pomoc techniczna

W celu uzyskania wsparcia (pomocy) technicznego należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem:

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

Wytwórca i importer

Tabela 52 Wytwórca i importer



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

Wyprodukowano w Stanach Zjednoczonych



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Znaki towarowe i patenty

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

Prawo autorskie

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Piśmiennictwo

1. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). UNAIDS Report on the Global AIDS Epidemic, 2012. Available at: https://www.unaids.org/en/resources/documents/2012/20121120_UNAIDS_Global_Report_2012. Accessed 19-DEC-2022.
2. Tebit DM, Arts EJ. Tracking a century of global expansion and evolution of HIV to drive understanding and to combat disease. *Lancet Infect Dis*. 2011;11:45-56. PMID: 21126914.
3. Papathanasopoulos MA, Hunt GM, Tiemessen CT. Evolution and diversity of HIV-1 in Africa--a review. *Virus Genes*. 2003;26:151-63. PMID: 12803467.
4. McCutchan FE. Global epidemiology of HIV. *J Med Virol*. 2006;78 Suppl 1:S7-s12. PMID: 16622870.
5. Barin F, M'Boup S, Denis F, et al. Serological evidence for virus related to simian T-lymphotropic retrovirus III in residents of west Africa. *Lancet*. 1985;2:1387-9. PMID: 2867393.
6. Clavel F, Guétard D, Brun-Vézinet F, et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science*. 1986;233:343-6. PMID: 2425430.
7. Dougan S, Patel B, Tosswill JH, Sinka K. Diagnoses of HIV-1 and HIV-2 in England, Wales, and Northern Ireland associated with west Africa. *Sex Transm Infect*. 2005;81:338-41. PMID: 16061543.
8. Matheron S, Mendoza-Sassi G, Simon F, et al. HIV-1 and HIV-2 AIDS in African patients living in Paris. *AIDS*. 1997;11:934-6. PMID: 9189224.
9. Valadas E, França L, Sousa S, Antunes F. 20 years of HIV-2 infection in Portugal: trends and changes in epidemiology. *Clin Infect Dis*. 2009;48:1166-7. PMID: 19292644.
10. Dietrich U, Maniar JK, Rübsamen-Waigmann H. The epidemiology of HIV in India. *Trends Microbiol*. 1995;3:17-21. PMID: 7719634.
11. Solomon S, Kumarasamy N, Ganesh AK, Amalraj RE. Prevalence and risk factors of HIV-1 and HIV-2 infection in urban and rural areas in Tamil Nadu, India. *Int J STD AIDS*. 1998;9:98-103. PMID: 9506375.
12. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). HIV Surveillance Report, 2020. Accessed: 21-Dec-2022 Available at: <https://www.cdc.gov/hiv/pdf/library/reports/surveillance/cdc-hiv-surveillance-report-2020-updated-vol-33.pdf>. 2022.
13. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 1989;244:359-62. PMID: 2523562.
14. Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology*. 2013;57:1333-42. PMID: 23172780.
15. Averhoff FM, Glass N, Holtzman D. Global burden of hepatitis C: considerations for healthcare providers in the United States. *Clin Infect Dis*. 2012;55 Suppl 1:S10-5. PMID: 22715208.
16. Trépo C, Pradat P. Hepatitis C virus infection in Western Europe. *J Hepatol*. 1999;31 Suppl 1:80-3. PMID: 10622565.

17. Lehman EM, Wilson ML. Epidemic hepatitis C virus infection in Egypt: estimates of past incidence and future morbidity and mortality. *J Viral Hepat.* 2009;16:650-8. PMID: 19413698.
18. Chisari FV, Ferrari C. Viral Hepatitis. In: Nathanson N, ed. *Viral Pathogenesis*. 1st ed. Philadelphia: Lippincott-Williams & Wilkins. 1997:745-778.
19. Hollinger FB, Liang TJ. Hepatitis B Virus. In: Knipe DM, et al, eds. *Fields' Virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott, 2001:2971-3036.
20. Eng-Kiong Teo and Anna SF Lok. Epidemiology, transmission, and prevention of hepatitis B virus infection, 2022. Accessed 21-DEC-2022. Available at: <https://www.uptodate.com/contents/epidemiology-transmission-and-prevention-of-hepatitis-b-virus-infection>.
21. Kumar S. Overview of Chronic Hepatitis. Available at: <https://www.merckmanuals.com/home/liver-and-gallbladder-disorders/hepatitis/overview-of-chronic-hepatitis>. Accessed 21-DEC-2022. Merck & Co, Inc., Rahway, NJ, USA, 2022.
22. Perkins HA, Busch MP. Transfusion-associated infections: 50 years of relentless challenges and remarkable progress. *Transfusion*. 2010;50:2080-99. PMID: 20738828.
23. Dwyre DM, Fernando LP, Holland PV. Hepatitis B, hepatitis C and HIV transfusion-transmitted infections in the 21st century. *Vox Sang.* 2011;100:92-8. PMID: 21175659.
24. Kleinman SH, Lelie N, Busch MP. Infectivity of human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus and risk of transmission by transfusion. *Transfusion*. 2009;49:2454-89. PMID: 19682345.
25. Hourfar MK, Jork C, Schottstedt V, et al. Experience of German Red Cross blood donor services with nucleic acid testing: results of screening more than 30 million blood donations for human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus. *Transfusion*. 2008;48:1558-66. PMID: 18466173.
26. Roth WK, Busch MP, Schuller A, et al. International survey on NAT testing of blood donations: expanding implementation and yield from 1999 to 2009. *Vox Sang.* 2012;102:82-90. PMID: 21933190.
27. Zou S, Stramer SL, Notari EP, et al. Current incidence and residual risk of hepatitis B infection among blood donors in the United States. *Transfusion*. 2009;49:1609-20. PMID: 19413732.
28. Zou S, Dorsey KA, Notari EP, et al. Prevalence, incidence, and residual risk of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus infections among United States blood donors since the introduction of nucleic acid testing. *Transfusion*. 2010;50:1495-504. PMID: 20345570.
29. Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR, et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol.* 2008;49:652-7. PMID: 18715666.
30. Linauts S, Saldanha J, Strong DM. PRISM hepatitis B surface antigen detection of hepatitis B virus minipool nucleic acid testing yield samples. *Transfusion*. 2008;48:1376-82. PMID: 18422847.
31. Phikulsod S, Oota S, Tirawatnapong T, et al. One-year experience of nucleic acid technology testing for human immunodeficiency virus Type 1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus in Thai blood donations. *Transfusion*. 2009;49:1126-35. PMID: 19392770.

32. Stramer SL, Wend U, Candotti D, et al. Nucleic acid testing to detect HBV infection in blood donors. *N Engl J Med*. 2011;364:236-47. PMID: 21247314.
33. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8. PMID: 2227421.
34. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93. PMID: 7845459.
35. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78. PMID: 7697717.
36. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7. PMID: 1368485.
37. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. PMID: 8908518.
38. Centers 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.
39. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014. Accessed 08-APR-2021. Available at: https://clsi.org/media/1459/m29a4_sample.pdf.
40. National Institute for Biological Standards and Control. HIV-2 RNA International Standard (NIBSC code 08/150). Accessed 08-APR-2021. Available at: https://www.nibsc.org/products/brm_product_catalogue/who_standards.aspx.

Wersja dokumentu

Informacje dotyczące wersji dokumentu	
Doc Rev. 2.0 11/2023	Zaktualizowano cały dokument, aby we właściwych miejscach uwzględnić zestaw 192 testów. Sprostowano błędy językowe i typograficzne. Zaktualizowano stabilność otwartego zestawu w przypadku zestawu 480 testów w Tabeli 7. Dodano informacje w sekcji Pobieranie, transport, przechowywanie i pulowanie próbek. Zaktualizowano sekcję Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania. Dodano łącze do sprawozdania podsumowującego bezpieczeństwo i parametry działania. Zaktualizowano sekcję Znaki towarowe i patenty oraz link. Zaktualizowano zapis marki cobas®. W razie jakichkolwiek pytań prosimy o kontakt z lokalnym przedstawicielem firmy Roche.

Podsumowanie sprawozdania na temat bezpieczeństwa i parametrów działania można znaleźć pod następującym linkiem:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>