

cobas[®] MPX

Test multiplex degli acidi nucleici di HIV, HCV e HBV

Per uso diagnostico *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

Indice generale

Uso previsto	5
Riassunto e spiegazione del test.....	5
Reagenti e materiali	8
Reagenti e controlli cobas® MPX.....	8
Reagenti cobas® omni per la preparazione dei campioni	12
Requisiti per la conservazione dei reagenti.....	13
Requisiti per la manipolazione dei reagenti per il cobas® 5800 System	13
Requisiti per la manipolazione dei reagenti per i cobas® 6800/8800 Systems.....	14
Altri materiali necessari per il cobas® 5800 System	14
Altri materiali necessari per i cobas® 6800/8800 Systems	15
Strumentazione e software necessari.....	15
Precauzioni e requisiti per l'uso.....	16
Avvertenze e precauzioni	16
Manipolazione dei reagenti.....	16
Buone pratiche di laboratorio.....	17
Raccolta, trasporto, conservazione e creazione di pool di campioni	17
Campioni di sangue da donatori viventi	17
Campioni di sangue da donatori non viventi.....	20
Istruzioni per l'uso.....	21
Pipettamento automatico dei campioni e creazione di pool (opzionale)	21
Note sulla procedura.....	21
Esecuzione del test cobas® MPX sul cobas® 5800 System	22
Esecuzione del test cobas® MPX sui cobas® 6800/8800 Systems.....	23
Risultati	24
Controllo di qualità e validità dei risultati sul cobas® 5800 System.....	24
Controllo di qualità e validità dei risultati sui cobas® 6800/8800 Systems	25
Interpretazione dei risultati	26
Ulteriori informazioni sull'interpretazione dei risultati sul cobas® 5800 System	26
Ripetizione di un test su singolo campione	27

Limiti della procedura	27
Equivalenza dei sistemi / confronto tra sistemi.....	27
Valutazione delle prestazioni non cliniche eseguita sui cobas® 6800/8800 Systems	28
Caratteristiche delle prestazioni	28
Campioni di donatori viventi.....	28
Limite di sensibilità (LoD).....	28
Riproducibilità	32
Verifica del genotipo	34
Pannelli di sieroconversione	39
Specificità analitica	42
Specificità analitica e sostanze interferenti.....	43
Correlazione	44
Tasso globale d'errore del sistema	45
Contaminazione crociata.....	45
Campioni cadaverici.....	46
Sensibilità.....	46
Specificità.....	47
Riproducibilità	47
Valutazione delle prestazioni cliniche eseguita sui cobas® 6800/8800 Systems	50
Riproducibilità.....	50
Specificità clinica	53
Reattività nella popolazione di donatori di sangue	53
Reattività nella popolazione di donatori di plasma.....	54
Studi tra le popolazioni ad alto rischio	55
Sensibilità clinica.....	57
Studi tra le popolazioni NAT-positive.....	57
Sensibilità clinica per la popolazione sieropositiva all'HIV-1 gruppo O e all'HIV-2.....	58
Popolazione sieropositiva all'HIV-1 gruppo O.....	58
Popolazione sieropositiva all'HIV-2.....	59
Conferma dei risultati di sierologia.....	60

Informazioni supplementari.....	61
Caratteristiche del test	61
Simboli.....	62
Assistenza tecnica.....	63
Produttore e importatore	63
Marchi e brevetti.....	63
Copyright.....	63
Bibliografia	64
Revisione del documento	67

Uso previsto

Il test **cobas**® MPX, da utilizzare sui sistemi **cobas**® 5800/6800/8800, è un esame qualitativo *in vitro* destinato all'identificazione diretta dell'RNA del virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1 (HIV-1) gruppo M, dell'RNA del virus HIV-1 gruppo O, dell'RNA del virus dell'immunodeficienza umana di tipo 2 (HIV-2), dell'RNA del virus dell'epatite C (HCV) e del DNA del virus dell'epatite B in plasma e siero umano.

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

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

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

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

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

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

Riassunto e spiegazione del test

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

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

L'HIV-1 è prevalente globalmente, con una prevalenza totale stimata dell'1,1% (0,56% in Nord America e 0,25% in Europa Occidentale).¹ A distanza di 3-6 settimane dal contagio iniziale, i soggetti infetti da virus HIV-1 manifestano sintomi parainfluenzali, inizialmente acuti, associati a livelli elevati di viremia nel sangue periferico. I principali gruppi genetici del virus HIV-1 finora identificati sono tre: il gruppo M (Main, principale), il gruppo N (né M, né O) e il gruppo O (Outlier,

erratico). Il gruppo M è fortemente prevalente e si divide ulteriormente in 9 sottotipi, oltre che in molteplici forme ricombinanti circolanti (*Circulating Recombinant Form*, CRF).²⁻⁴

L'HIV-2 è stato isolato per la prima volta nel 1986 in pazienti dell'Africa Occidentale. Le modalità di trasmissione dell'HIV-1 e dell'HIV-2 sono le stesse e, generalmente, sono associate a infezioni opportunistiche simili e alla sindrome da immunodeficienza acquisita (*Acquired Immunodeficiency Syndrome*, AIDS).^{5,6} La prevalenza dell'HIV-2 in alcune regioni dell'Africa ha ormai superato l'1%, mentre l'HIV-2 rappresenta una fonte di preoccupazione crescente in alcune regioni dell'Europa e dell'India.⁷⁻¹¹ I centri CDC (Centers for Disease Control and Prevention) raccomandano la sorveglianza continua, in quanto necessaria per monitorare l'HIV-2 nella popolazione USA.¹²

L'HCV è considerato il principale agente eziologico responsabile del 90-95% dei casi di epatite post-trasfusionale di tipo non A e non B.¹²⁻¹⁵ La prevalenza osservata dell'HCV è compresa tra lo 0,5 e il 2,0% in Europa Occidentale¹⁶ e tra il 6 e il 40% in Egitto.¹⁷

Sono 2 miliardi gli esseri umani attualmente viventi che sono stati infettati dal virus HBV in una fase della loro vita. Più di 250 milioni di loro cronicizzano, diventando portatori del virus.¹⁸⁻²⁰ Sia l'HCV che l'HBV possono provocare patologie epatiche croniche e sono la causa più comune di cirrosi epatica e tumore del fegato nel 60-80% dei casi a livello globale.²¹

Perché utilizzare i test degli acidi nucleici

I test sierologici di screening hanno ridotto significativamente, anche se non eradicato del tutto, il rischio di trasmissione delle infezioni virali attraverso i prodotti delle emotrasfusioni. I primi test sulle donazioni di sangue intero e plasma finalizzati all'identificazione del virus HBV risalgono all'inizio degli anni '70, con l'introduzione dei saggi per la ricerca dell'antigene di superficie dell'HBV (HBsAg), e agli anni '80, con l'introduzione dei test anti-HBc. Oltre allo screening dell'HBV, le donazioni di sangue e di plasma sono sottoposte regolarmente a test immunoenzimatici (*Enzyme Immunoassay*, EIA) per l'identificazione dell'HIV e dell'HCV.^{22,23} Esiste un rischio residuo di trasmissione dalle donazioni di sangue durante il periodo finestra della sieroconversione, che è stato calcolato in circa 19 giorni, 65 giorni e 36 giorni rispettivamente per l'HIV-1, l'HCV e l'HBV.²⁴ I test degli acidi nucleici virali (RNA di HIV-1, RNA di HCV e DNA di HBV), basati sulla tecnologia di amplificazione dell'acido nucleico (*Nucleic Acid Amplification Technology*, NAT), possono ridurre questo rischio in modo sostanziale.^{25,26} Grazie all'introduzione dei test NAT, il rischio residuo di infezione trasmessa per via trasfusionale negli USA è attualmente di 1:1,5 milioni per l'HIV-1, di 1:1,2 milioni per l'HCV e di 1:280.000-1:355.000 per l'HBV.^{27,28} In Germania, dove i test NAT sono in uso fin dal 1999, stime analoghe indicano un rischio residuo di infezione trasmessa per via trasfusionale di 1:4,3 milioni per l'HIV-1, di 1:10,9 milioni per l'HCV e di 1:360.000 per l'HBV.²⁴ Nel caso dell'HBV, inoltre, i test NAT consentiranno di escludere i donatori con infezione occulta da HBV (nei quali il DNA di HBV è rilevabile ma l'antigene di superficie HBsAg è assente²⁹) e i donatori vaccinati interessati da un'infezione subclinica breakthrough.³⁰⁻³²

Spiegazione del test

Il test cobas® MPX è un esame multiplex qualitativo che viene eseguito sui cobas® 5800/6800/8800 Systems. Il test cobas® MPX consente la rilevazione e la discriminazione simultanee dell'RNA di HIV, dell'RNA di HCV, del DNA di HBV e del controllo interno in un unico test, da eseguire su una donazione di plasma individuale infetto, o su un pool di plasma costituito da più donazioni individuali. Il test non consente di discriminare tra HIV-1 gruppo M, HIV-1 gruppo O e HIV-2.

Principi della procedura

Il test **cobas® MPX** si basa sulla tecnologia real-time PCR su una preparazione di campioni completamente automatizzata (estrazione e purificazione degli acidi nucleici) e sulla successiva amplificazione e rilevazione mediante PCR. Il **cobas® 5800 System** è costituito da un unico strumento integrato. I sistemi **cobas® 6800/8800** sono costituiti dal modulo di inserimento dei campioni, dal modulo di trasferimento, dal modulo di preparazione e dal modulo analitico. La gestione automatizzata dei dati è affidata al software dei **cobas® 5800** o **cobas® 6800/8800 Systems**, il quale classifica i risultati di tutti i test come non reattivi, reattivi o non validi. Quando si utilizza il **cobas® 5800 System**, l'uso del software **cobas® Synergy** è consigliato per la revisione dei risultati e per la stampa dei report ed è obbligatorio per l'invio dei risultati a un LIMS (Laboratory Information Management System) o a un altro sistema di gestione dei risultati. Durante l'uso dei **cobas® 6800/8800 Systems**, i risultati possono essere visualizzati direttamente sullo schermo del sistema, stampati in un report oppure inviati a un LIMS o a un altro sistema di gestione dei risultati.

È possibile analizzare i campioni singolarmente oppure, facoltativamente, creare un pool costituito da più campioni e analizzarlo.

Quando si eseguono i test sui **cobas® 5800 Systems**, è necessario utilizzare il **cobas® Synergy** software anche se non vengono creati i pool. Se i pool vengono creati in un passaggio pre-analitico, è possibile utilizzare il **cobas® Synergy** software in associazione con Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD.

Quando si eseguono i test sui **cobas® 6800/8800 Systems**, facoltativamente è possibile utilizzare lo strumento **cobas® p 680** o il **cobas® Synergy** software in associazione con Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet, in un passaggio pre-analitico dedicato alla creazione dei pool.

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

Per ottenere l'amplificazione selettiva dell'acido nucleico target dal campione del donatore vengono utilizzati dei primer forward e reverse che sono specifici del virus e sono selezionati da regioni altamente conservate dell'acido nucleico virale. Per l'HIV-1 gruppo M vengono amplificate due regioni differenti del genoma virale (*dual target*). Un enzima DNA polimerasi termostabile viene utilizzato sia per la trascrizione inversa che per l'amplificazione. La soluzione Master Mix contiene deossiridina trifosfato (dUTP) anziché deossitimidina trifosfato (dTTP), che è incorporato nel DNA appena sintetizzato (amplicone).³³⁻³⁵ Tutti gli ampliconi contaminanti che sono stati prodotti da sessioni di PCR precedenti vengono eliminati dall'enzima AmpErase [uracil-N-glicosilasi], che è contenuto nella Master Mix per PCR, durante il primo passaggio del ciclo termico. Gli ampliconi che si sono appena formati non vengono invece eliminati perché l'enzima AmpErase si inattiva dopo l'esposizione a temperature superiori a 55°C.

La soluzione **cobas® MPX Master Mix** contiene sonde di rivelazione specifiche per gli acidi nucleici dei virus HIV-1 (gruppi M e O), HIV-2, HCV, HBV e del controllo interno (IC). Sono incluse le sonde di rivelazione per ciascun target di HIV-1 gruppo M, insieme alle due sonde (*dual probes*) per HCV. Ognuna delle sonde di rivelazione specifiche per HIV, HCV, HBV e IC è marcata con uno dei quattro fluorocromi univoci, che agiscono da rivelatori (reporter). Ogni sonda include anche un quinto fluorocromo, che agisce da soppressore (quencher). Le misurazioni dei quattro fluorocromi

reporter vengono effettuate a lunghezze d'onda fisse, consentendo così l'identificazione e la discriminazione dei target di HIV, HCV e HBV amplificati e del controllo interno (IC).^{36, 37} Quando non è legato alla sequenza target, il segnale fluorescente delle sonde intatte viene soppresso dal fluorocromo quencher. Nella fase di amplificazione PCR, l'ibridizzazione delle sonde con lo stampo specifico di DNA a filamento unico determina la scissione della sonda ad opera dell'attività nucleasica 5'→3' della DNA polimerasi, con la conseguente separazione dei fluorocromi reporter e quencher e la produzione di un segnale fluorescente. Con ogni ciclo di PCR viene generata una quantità crescente di sonde scisse e, parallelamente, si assiste all'aumento del segnale cumulativo del fluorocromo reporter. Poiché le misurazioni dei quattro fluorocromi reporter avvengono a lunghezze d'onda fisse, è possibile consentire la rilevazione e la discriminazione simultanea dei target amplificati di HIV, HCV e HBV e del controllo interno (IC).

Reagenti e materiali

Reagenti e controlli cobas® MPX

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

Tabella 1 Test cobas® MPX

Test cobas® MPX Conservare a 2-8°C Cassetta per 192 test (P/N 09288538190) Cassetta per 480 test (P/N 09040862190)			
Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit 192 test	Quantità per kit 480 test
Soluzione proteinasi (PASE)	Tampone Tris, < 0,05% EDTA, cloruro di calcio, acetato di calcio, 8% proteinasi (p/v), glicerolo EUH210: Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta. EUH208: Contiene subtilisina da <i>Bacillus subtilis</i> . Può provocare una reazione allergica.	22,3 ml	38 ml
Controllo Interno (IC)	Tampone Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% costruito di Armored RNA del controllo interno (RNA non infettivo, incapsulato in MS2 batteriofaga), < 0,002% Poly rA RNA (sintetico), < 0,1% sodio azide	21,2 ml	38 ml
Tampone di eluizione (EB)	Tampone Tris, 0,2% metil-4 idrossibenzoato	21,2 ml	38 ml
MPX Master Mix Reagente 1 (MMX-R1)	Acetato di manganese, idrossido di potassio, < 0,1% sodio azide	7,5 ml	14,5 ml
MPX Master Mix Reagente 2 (MPX MMX-R2)	Tampone tricina, acetato di potassio, glicerolo, 18% dimetilsolfossido, Tween 20, EDTA, < 0,06% dATP, dGTP, dCTP, < 0,14% dUTP, < 0,01% primer upstream e downstream di HIV-1 gruppo M, HIV-1 gruppo O, HIV-2, HCV, HBV e per controllo interno, < 0,01% sonde fluorescenti di HIV, HCV e HBV, < 0,01% sonda fluorescente IC, < 0,01% aptamero oligo-nucleotidico, < 0,01% DNA polimerasi Z05D, < 0,01% enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasi) (batterico), < 0,1% sodio azide	9,7 ml	17,5 ml

Tabella 2 cobas® MPX Control Kit

cobas® MPX Control Kit

Conservare a 2-8°C
(P/N 09040846190)

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

Tabella 2 cobas® MPX Control Kit**cobas® MPX Control Kit**

Conservare a 2-8°C
(P/N 09040846190)

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

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

** Sostanza pericolosa.

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

Conservare a 2-8°C
(P/N 09051554190)

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

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

** Sostanza pericolosa.

Reagenti cobas® omni per la preparazione dei campioni

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

Reagenti	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento**
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Conservare a 2-8°C (P/N 06997546190)	Biglie di vetro magnetiche, tampone Tris, 0,1% metil-4 idrossibenzoato, < 0,1% sodio azide	480 test	Non applicabile
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Conservare a 2-8°C (P/N 06997511190)	Tampone Tris, 0,1% metil- 4 idrossibenzoato, < 0,1% sodio azide	4 × 875 ml	Non applicabile
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Conservare a 2-8°C (P/N 06997538190)	42,56% (p/p) guanidina tiocianato***, 5% (p/v) polidocanolo***, 2% (p/v) ditiotreitolo***, citrato di sodio diidrato	4 × 875 ml	 PERICOLO H302 + H332: Nocivo se ingerito o inalato. H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. H411: Tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. EUH032: A contatto con acidi libera gas molto tossici. P273: Non disperdere nell'ambiente. P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso/proteggere l'udito. P303 + P361 + P353 IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle. P304 + P340 + P310: IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico. P305 + P351 + P338 + P310: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico. P391: Raccogliere il materiale fuoriuscito. 593-84-0 Tiocianato di guanidinio 9002-92-0 Polidocanolo 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercapto-2,3-butandiolo
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Conservare a 15-30°C (P/N 06997503190)	Citrato di sodio diidrato, 0,1% metil-4 idrossi- benzoato	4,2 l	Non applicabile

* Questi reagenti non sono inclusi nel kit del test **cobas® MPX**. Consultare l'elenco dei materiali aggiuntivi necessari (Tabella 10+Tabella 12).

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

*** Sostanza pericolosa

Requisiti per la conservazione dei reagenti

I reagenti devono essere conservati e manipolati rispettando le condizioni indicate dalla Tabella 5, Tabella 6 alla Tabella 7.

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

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

Reagente	Temperatura di conservazione
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

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

Dopo il caricamento sul cobas® 5800 System, i reagenti sono conservati alla temperatura appropriata e la loro data di scadenza viene monitorata dal sistema. Il sistema consente l'utilizzo dei reagenti soltanto se sono rispettate tutte le condizioni descritte nella Tabella 6. Il sistema impedisce automaticamente l'uso dei reagenti scaduti. Nella Tabella 6 vengono fornite all'utente informazioni utili sulle condizioni di manipolazione dei reagenti previste per il cobas® 5800 System.

Tabella 6 Scadenza dei reagenti sul cobas® 5800 System

Reagente	Data di scadenza del kit	Stabilità del kit aperto	Numero di sedute per cui il kit può essere usato	Stabilità a bordo
cobas® MPX – 192	Data non superata	90 giorni dal primo uso	Max 40 sedute	Max 36 giorni
cobas® MPX – 480	Data non superata	90 giorni dal primo uso	Max 40 sedute	Max 36 giorni
cobas® MPX Control Kit	Data non superata	Non applicabile	Non applicabile	Max 36 giorni
cobas® NHP Negative Control Kit	Data non superata	Non applicabile	Non applicabile	Max 36 giorni
cobas® omni Lysis Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento**	Non applicabile	Non applicabile
cobas® omni MGP Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento**	Non applicabile	Non applicabile
cobas® omni Specimen Diluent	Data non superata	30 giorni dal caricamento**	Non applicabile	Non applicabile
cobas® omni Wash Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento**	Non applicabile	Non applicabile

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

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

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

Tabella 7 Scadenza dei reagenti sui cobas® 6800/8800 Systems

Reagente	Data di scadenza del kit	Stabilità del kit aperto	Numero di sedute per cui il kit può essere usato	Stabilità a bordo (tempo cumulativo a bordo fuori dal frigorifero)
cobas® MPX – 192	Data non superata	90 giorni dal primo uso	Max 30 sedute	Max 40 ore
cobas® MPX – 480	Data non superata	90 giorni dal primo uso	Max 20 sedute	Max 20 ore
cobas® MPX Control Kit	Data non superata	Non applicabile*	Non applicabile	Max 8 ore
cobas® NHP Negative Control Kit	Data non superata	Non applicabile*	Non applicabile	Max 10 ore
cobas® omni Lysis Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento**	Non applicabile	Non applicabile
cobas® omni MGP Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento**	Non applicabile	Non applicabile
cobas® omni Specimen Diluent	Data non superata	30 giorni dal caricamento**	Non applicabile	Non applicabile
cobas® omni Wash Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento**	Non applicabile	Non applicabile

* Reagenti monouso.

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

Altri materiali necessari per il cobas® 5800 System

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

Materiale	P/N
cobas® omni Processing Plate 24	08413975001
cobas® omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas® omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Puntale CORE TIPS con filtro, 1 ml	04639642001
Puntale CORE TIPS con filtro, 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
Sacchetto per rifiuti solidi oppure Sacchetto per rifiuti solidi con inserto	07435967001 oppure 08030073001

Altri materiali necessari per i cobas® 6800/8800 Systems

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

Materiale	P/N
cobas® omni Processing Plate	05534917001
cobas® omni Amplification Plate	05534941001
cobas® omni Pipette Tips	05534925001
cobas® omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Sacchetto per rifiuti solidi oppure Sacchetto per rifiuti solidi con inserto	07435967001 oppure 08030073001
Contenitore per rifiuti solidi	07094361001

Strumentazione e software necessari

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

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

Tabella 10 Strumentazione

Apparecchiatura	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System (opzione mobile)	05524245001 e 06379672001
cobas® 6800 System (fisso)	05524245001 e 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Modulo di inserimento dei campioni per i cobas® 6800/8800 Systems	06301037001
Licenza elettronica per il cobas® Synergy software (cobas® 5800 System)	09311246001
Opzioni per pipettamento e creazione di pool	P/N
cobas® p 680 Instrument (cobas® 6800/8800 Systems)	06570577001
Licenza elettronica per il dongle del cobas® Synergy software (cobas® 6800/8800 Systems)	09311238001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001
Hamilton MICROLAB® STARlet IVD	04872649001

Per ulteriori informazioni, consultare l'Assistenza Utente del **cobas® 5800 System** o l'Assistenza Utente dei **cobas® 6800/8800 Systems**. Per ulteriori informazioni sulle provette campione primarie e secondarie idonee all'uso sugli strumenti, consultare l'Assistenza Utente dello strumento **cobas® p 680** o l'Assistenza Utente del **cobas® Synergy** software.

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

Precauzioni e requisiti per l'uso

Avvertenze e precauzioni

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

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Tutti i campioni e i controlli devono essere manipolati come materiale a rischio biologico, seguendo le buone pratiche di laboratorio descritte in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e nel documento M29-A4 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).^{38, 39} Questa procedura deve essere eseguita esclusivamente da personale esperto nella manipolazione di materiale a rischio biologico e competente nell'uso del test **cobas® MPX**, dei **cobas® 5800/6800/8800 Systems** e del **cobas® p 680 Instrument** (per i **cobas® 6800/8800 Systems**) o dell'**Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD** con il **cobas® Synergy** software, se applicabile.
- Tutti i materiali di origine umana devono essere considerati a rischio biologico e quindi manipolati adottando precauzioni universalmente valide. In caso di fuoriuscita accidentale, disinfettare immediatamente l'area con una soluzione fresca a base di ipoclorito di sodio 0,6% in acqua distillata o deionizzata oppure seguire le procedure previste dal proprio laboratorio.
- I kit **cobas® MPX Control Kit** e **cobas® NHP Negative Control Kit** contengono plasma derivato da sangue umano. Il materiale di provenienza è stato analizzato con test degli anticorpi brevettati ed è risultato non reattivo agli anticorpi anti-HCV, anti-HIV-1/2, HBsAg e anti-HBc. I test basati sui metodi PCR eseguiti sul plasma umano normale hanno inoltre confermato l'assenza di RNA dei virus HIV-1 (gruppi M e O), HIV-2 e HCV e DNA del virus HBV. Allo stato attuale, tuttavia, nessun metodo di analisi garantisce con assoluta certezza che i prodotti derivati da sangue umano non trasmettano agenti infettivi.
- Non congelare il sangue intero.
- È consigliato l'uso di pipette sterili monouso e puntali di pipettamento privi di nucleasi. Per garantire prestazioni ottimali del test, utilizzare soltanto i consumabili forniti o consigliati.
- Per un corretto svolgimento del test, attenersi scrupolosamente alle procedure e alle linee guida approvate. Qualunque deviazione dalle procedure e dalle linee guida approvate potrebbe compromettere le prestazioni del test.
- La rottura della fase cellula-plasma o la diffusione del materiale di post-centrifugazione possono causare un aumento del tasso di risultati non validi.
- Potrebbero essere generati risultati falsi positivi senza un'adeguata prevenzione dell'effetto carryover durante la manipolazione e la preparazione dei campioni.
- In caso di incidenti gravi che dovessero verificarsi durante l'uso di questo test, inviare una segnalazione all'autorità competente locale e al produttore.

Manipolazione dei reagenti

- Manipolare tutti i reagenti, i controlli e i campioni seguendo le buone pratiche di laboratorio, al fine di prevenire il carryover dei campioni e dei controlli.
- Prima dell'uso ispezionare visivamente ogni cassetta dei reagenti, del diluente, del reagente di lisi e del reagente di lavaggio per confermare l'assenza di perdite. In caso di perdite accertate, non utilizzare il materiale per il test.

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

Buone pratiche di laboratorio

- Non pipettare con la bocca.
- Non mangiare, bere o fumare nelle aree di lavoro designate.
- Indossare guanti, camici da laboratorio e protezioni per gli occhi durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti del kit. Per evitare contaminazioni è necessario sostituire i guanti durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti contenuti nei kit di test **cobas® MPX** e reagenti **cobas® omni**. Evitare di contaminare i guanti durante la manipolazione dei campioni e dei controlli.
- Lavare accuratamente le mani dopo avere manipolato i reagenti dei kit e dopo aver rimosso i guanti.
- Pulire e disinfettare accuratamente tutte le superfici di lavoro del laboratorio con una soluzione fresca a base di ipoclorito di sodio allo 0,6% in acqua deionizzata o distillata. Successivamente pulire la superficie con etanolo al 70%.
- In caso di fuoriuscite di liquidi sullo strumento **cobas® 5800**, attenersi alle istruzioni contenute nell'Assistenza Utente del **cobas® 5800 System** per pulire e decontaminare accuratamente la superficie dello strumento.
- In caso di fuoriuscite di liquidi sugli strumenti **cobas® 6800/8800**, attenersi alle istruzioni contenute nell'Assistenza Utente dei **cobas® 6800/8800 Systems** per pulire e decontaminare accuratamente la superficie degli strumenti.

Raccolta, trasporto, conservazione e creazione di pool di campioni

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

Conservare tutti i campioni dei donatori alle temperature indicate.

La stabilità dei campioni risente delle temperature elevate.

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

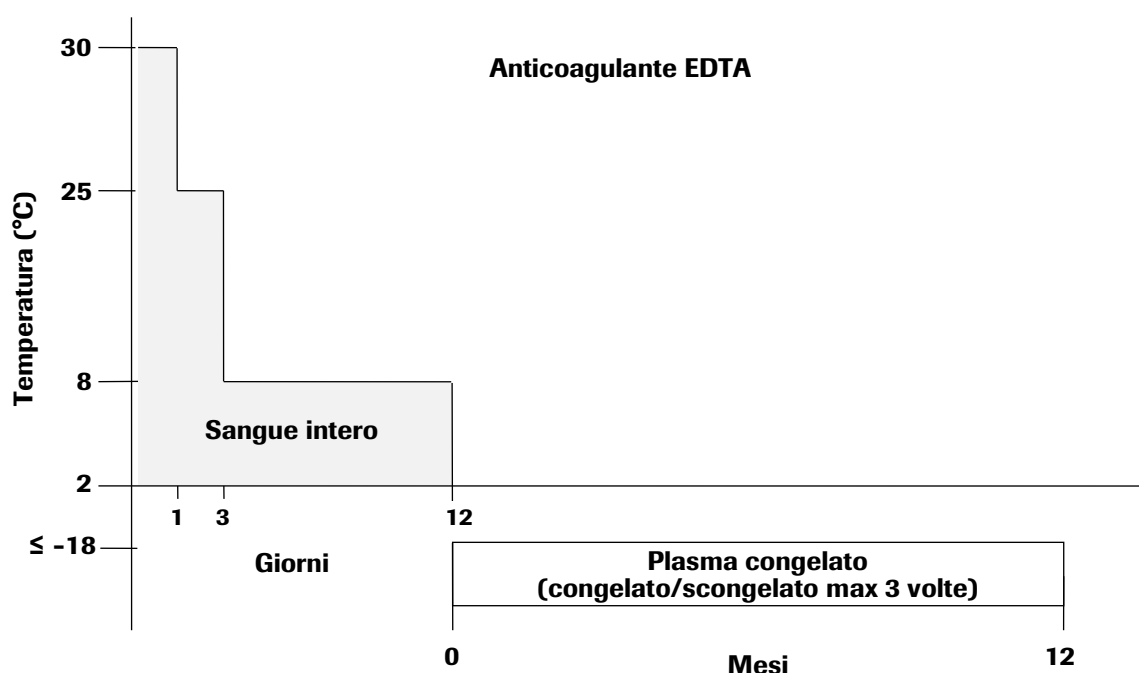
Campioni di sangue da donatori viventi

- Con il test **cobas® MPX** è possibile utilizzare il plasma raccolto in EDTA, CPD, CPDA1, CP2D e sodio citrato al 4% e il siero raccolto in provette da siero con attivatore della coagulazione. Per la manipolazione e la centrifugazione, attenersi alle istruzioni fornite dal produttore della provetta/sacca di raccolta del campione.

- Il sangue raccolto con l'anticoagulante EDTA, con le provette BD PPT™ (Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes) o con le provette per plasma con gel Greiner Vacuette® K2EDTA può essere sottoposto a un'ulteriore centrifugazione a $600 \times g$ per 5 minuti prima del caricamento sullo strumento, o della creazione di pool opzionali o della ripetizione del test.
- Il sangue trattato con l'anticoagulante EDTA può essere conservato per un massimo di 12 giorni nelle condizioni descritte di seguito:
 - I campioni devono essere centrifugati entro e non oltre 72 ore dal prelievo.
 - A più di 8°C, i campioni possono essere conservati per 72 ore a una temperatura massima di 25°C (e per 24 ore a una temperatura massima di 30°C nell'arco delle 72 ore).

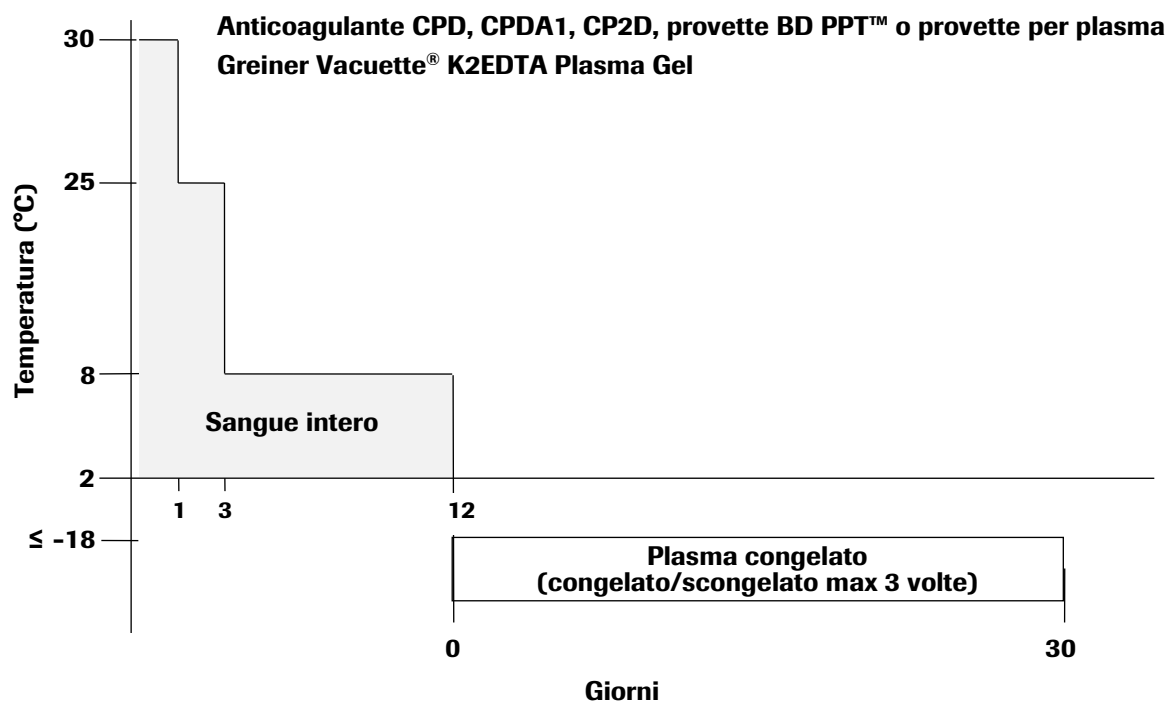
A parte nei casi sopra descritti, i campioni devono essere conservati a 2-8°C. Il plasma separato dalle cellule può inoltre essere conservato fino a 12 mesi a $\leq -18^\circ\text{C}$ con tre cicli di congelamento/scongelo. Vedere la Figura 1.

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



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

A parte nei casi sopra descritti, i campioni devono essere conservati a 2-8°C. Il plasma separato dalle cellule può inoltre essere conservato fino a 30 giorni a $\leq -18^\circ\text{C}$ con tre cicli di congelamento/scongelo. Vedere la Figura 2.

Figura 2 Condizioni per la conservazione dei campioni da donatori viventi

- È possibile conservare il sangue raccolto in provette da siero per un massimo di 7 giorni a 2-8°C, nelle condizioni descritte di seguito:
 - I campioni devono essere centrifugati entro e non oltre 72 ore dal prelievo.
 - A più di 8°C, i campioni possono essere conservati per 72 ore a una temperatura massima di 25°C (e per 24 ore a una temperatura massima di 30°C nell'arco delle 72 ore).

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

- Il plasma trattato con l'anticoagulante citrato di sodio al 4% può essere conservato per un massimo di 30 giorni a 2-8°C nelle condizioni descritte di seguito:
 - A più di 8°C, i campioni possono essere conservati per 72 ore a una temperatura massima di 25°C (e per 24 ore a una temperatura massima di 30°C nell'arco delle 72 ore).

Il plasma trattato con l'anticoagulante citrato di sodio al 4% può inoltre essere conservato fino a 12 mesi a $\leq -18^{\circ}\text{C}$, con un massimo di due cicli di congelamento/scongelamento, o

- Il plasma trattato con l'anticoagulante citrato di sodio al 4% può essere conservato per un massimo di 18 giorni a 2-8°C nelle condizioni descritte di seguito:
 - A più di 8°C, i campioni possono essere conservati per 72 ore a una temperatura massima di 25°C (e per 24 ore a una temperatura massima di 30°C nell'arco delle 72 ore).

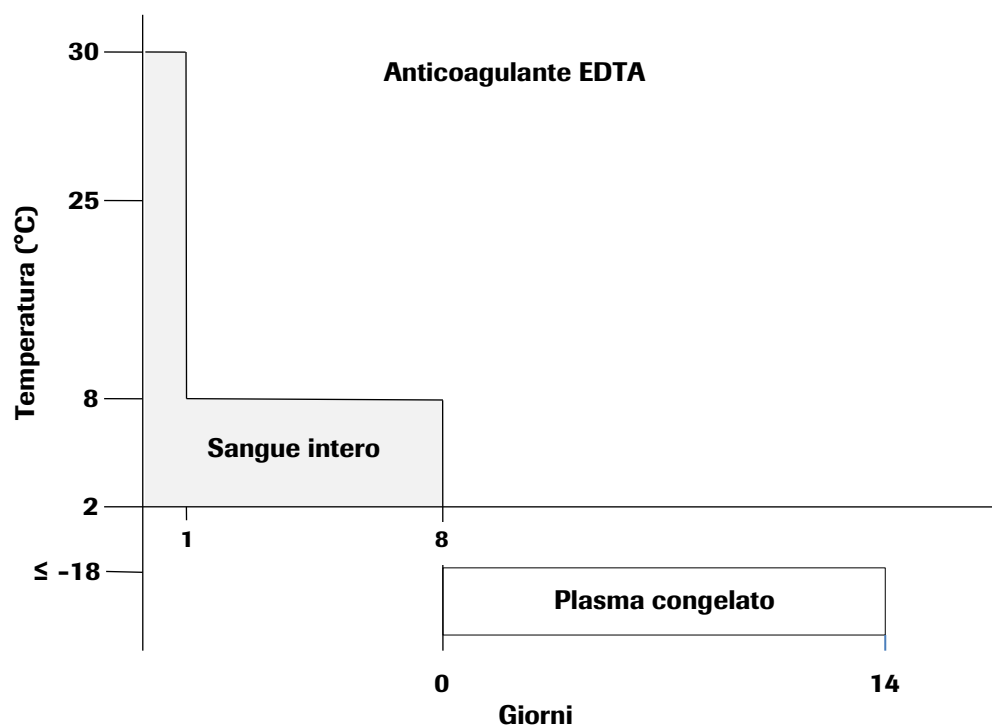
Il plasma trattato con l'anticoagulante citrato di sodio al 4% può inoltre essere conservato fino a 12 mesi a $\leq -18^{\circ}\text{C}$, con un massimo di tre cicli di congelamento/scongelamento.

Campioni di sangue da donatori non viventi

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

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

Figura 3 Condizioni di conservazione dei campioni da donatori non viventi



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

Istruzioni per l'uso

Pipettamento automatico dei campioni e creazione di pool (opzionale)

Per il pipettamento automatico e la creazione di un unico pool costituito da aliquote di più campioni primari, insieme ai **cobas® 6800/8800 Systems** è possibile utilizzare lo strumento **cobas® p 680** come strumento opzionale o, in alternativa, il software **cobas® Synergy** in associazione con Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD.

Per il pipettamento automatico e la creazione di un unico pool costituito da aliquote di più campioni primari, insieme al **cobas® 5800 System** è possibile utilizzare il **cobas® Synergy** software in associazione con Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD.

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

Note sulla procedura

- Non utilizzare i reagenti del test **cobas® MPX**, il **cobas® MPX Control Kit**, il **cobas® NHP Negative Control Kit** o i reagenti **cobas® omni** dopo la data di scadenza.
- Non riutilizzare i consumabili. Sono esclusivamente monouso.
- Per la corretta manutenzione degli strumenti, consultare l'Assistenza Utente del **cobas® 5800 System**.
- Per la corretta manutenzione degli strumenti, consultare l'Assistenza Utente dei **cobas® 6800/8800 Systems**.

Esecuzione del test cobas® MPX sul cobas® 5800 System

La procedura del test è descritta dettagliatamente nell'Assistenza Utente del cobas® 5800 System. La Figura 4 sottostante riassume la procedura. Per i dettagli sulle procedure opzionali per la creazione dei pool, consultare l'Assistenza Utente del cobas® Synergy software, secondo necessità.

Figura 4 Procedura del test cobas® MPX sul cobas® 5800 System

1	Pipettamento e creazione di pool
2	Caricare i rack per campioni sul sistema: • Caricare i rack per campioni sul sistema • Ordinare i test manualmente, se non è disponibile nessun ordine LIS
3	Caricare i reagenti e i consumabili segnalati dal sistema: • Caricare le cassette dei reagenti specifici per il test • Caricare i minirack per i controlli • Caricare i puntali di estrazione • Caricare i puntali di eluizione • Caricare le piastre di estrazione • Caricare le piastre per rifiuti liquidi • Caricare le piastre di amplificazione • Caricare la cassetta MGP • Ricaricare il diluente per campioni • Ricaricare il reagente di lisi • Ricaricare il reagente di lavaggio
4	Avviare la seduta scegliendo manualmente il pulsante “Start” nell'interfaccia utente. Tutte le sedute successive verranno avviate automaticamente, se non vengono posticipate manualmente.
5	Rivedere i risultati
6	Rimuovere tutte le provette campione Pulire lo strumento: • Svuotare le cassette dei reagenti • Svuotare i minirack per i controlli • Svuotare il cassetto per piastre di amplificazione • Svuotare i rifiuti liquidi • Svuotare i rifiuti solidi

Esecuzione del test cobas® MPX sui cobas® 6800/8800 Systems

La procedura di analisi è descritta dettagliatamente nell'Assistenza Utente dei cobas® 6800/8800 Systems. Per informazioni sulle procedure opzionali per la creazione dei pool, consultare il Manuale Operatore dello strumento cobas® p 680 o l'Assistenza Utente del cobas® Synergy software. La Figura 5 sottostante riassume la procedura.

Figura 5 Procedura del test cobas® MPX sui cobas® 6800/8800 Systems

1	Pipettamento e creazione di pool
2	Creazione dell'ordine
3	Caricare i reagenti e i consumabili segnalati dal sistema: • Ricaricare il reagente di lavaggio, il reagente di lisi e il diluente • Ricaricare le piastre di estrazione e le piastre di amplificazione • Ricaricare le biglie di vetro magnetiche • Ricaricare i reagenti specifici per il test • Ricaricare le cassette di controllo • Ricaricare i rack portapuntali • Sostituire il rack per puntali otturati
4	Avviare la seduta: • Caricare i rack con i campioni • Selezionare il pulsante di avvio nell'interfaccia
5	Rivedere ed esportare i risultati
6	Scaricamento dei consumabili: • Rimuovere le piastre di amplificazione dal modulo analitico • Scaricare le cassette dei controlli vuote • Svuotare i rifiuti solidi • Svuotare i rifiuti liquidi

Risultati

I **cobas**® 5800 o i **cobas**® 6800/8800 Systems eseguono la rilevazione e la discriminazione automatica dell'RNA di HIV, dell'RNA di HCV e del DNA di HBV simultaneamente per i campioni e i controlli.

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

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

- Vengono eseguiti un controllo negativo [(-) C] e tre controlli positivi [MPX M (+) C, MPX O (+) C e MPX 2 (+) C], almeno ogni 24 ore o con ogni nuovo lotto del kit.
- Nel **cobas**® 5800 System e/o nel report, verificare se sono presenti eventuali flag e i risultati associati, in modo da confermare la validità dei controlli.
- I campioni associati sono validi se non sono presenti flag per nessuno dei quattro controlli.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Flag di controllo sui cobas® 6800/8800 Systems

Tabella 12 Flag per i controlli positivi e negativi

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

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

Interpretazione dei risultati

Se un batch di controllo è valido, verificare nel software dei **cobas**® 5800/6800/8800 Systems e/o nel report se sono presenti eventuali flag per ogni singolo campione. I risultati dovranno essere interpretati applicando i seguenti criteri:

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

Per ogni campione vengono misurati simultaneamente quattro parametri: HIV, HCV, HBV e controllo interno. I risultati finali del test **cobas**® MPX per i campioni sono visualizzati nel software. I **cobas**® 5800/6800/8800 Systems visualizzano i risultati dei singoli target che devono essere interpretati applicando i seguenti criteri:

Tabella 13 Risultati per i singoli target e relativa interpretazione

Risultati dei target	Interpretazione
HIV Non-Reactive	Nessun segnale rilevato per il target HIV; segnale IC rilevato.
HIV Reactive	Rilevato il segnale per il target HIV; segnale IC rilevato o non rilevato.
HCV Non-Reactive	Nessun segnale per il target HCV; segnale IC rilevato.
HCV Reactive	Rilevato il segnale per il target HCV; segnale IC rilevato o non rilevato.
HBV Non-Reactive	Nessun segnale rilevato per il target HBV; segnale IC rilevato.
HBV Reactive	Rilevato il segnale per il target HBV; segnale IC rilevato o non rilevato.
Invalid	Segnali del target e IC non rilevati.

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

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

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

- I campioni associati a un batch di controllo valido (secondo la definizione attribuita nella configurazione dei controlli del sistema in uso) sono visualizzati come “Validi” nella colonna “Risultato di controllo”. I campioni associati a un batch di controllo non valido sono visualizzati come “Non validi” nella colonna “Risultato di controllo”.
- Se i controlli associati di un risultato campione sono non validi, verrà aggiunto un flag specifico al risultato campione nel modo seguente:
 - Q05D: validazione dei risultati non riuscita a causa di un controllo positivo non valido
 - Q06D: validazione dei risultati non riuscita a causa di un controllo negativo non valido
- I valori nella colonna “Risultati” relativi ai singoli risultati dei target dei campioni devono essere interpretati nel modo indicato nella Tabella 13.
 - Il **cobas**® 5800 System visualizza i singoli risultati dei target. I risultati generali sono visualizzati soltanto nella vista risultati del **cobas**® Synergy software.
 - Per informazioni più dettagliate sui risultati e sui flag dei campioni, consultare l'Assistenza Utente del **cobas**® 5800 System.

Ripetizione di un test su singolo campione

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

Un'ulteriore centrifugazione a $600 \times g$ per 5 minuti può aiutare a ridurre il numero di ripetuti risultati non validi per il sangue raccolto con l'anticoagulante EDTA, con le provette BD PPT™ (Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes) o con le provette per plasma con gel Greiner Vacuette® K2EDTA.

Limiti della procedura

- Il test **cobas® MPX** è stato valutato soltanto in associazione con i prodotti **cobas® MPX Control Kit**, **cobas® NHP Negative Control Kit**, **cobas® omni MGP Reagent**, **cobas® omni Lysis Reagent**, **cobas® omni Specimen Diluent** e **cobas® omni Wash Reagent** per l'uso sui **cobas® 5800** e **cobas® 6800/8800 Systems**.
- L'affidabilità dei risultati è influenzata dal metodo di raccolta, conservazione e manipolazione dei campioni.
- Con questo test non è consentito utilizzare plasma con eparina, poiché l'eparina svolge un'azione inibitoria sulla PCR.
- L'identificazione dell'RNA di HIV-1 gruppo M, dell'RNA di HIV-1 gruppo O, dell'RNA di HIV-2, dell'RNA di HCV e del DNA di HBV dipende dal numero di particelle virali presenti nel campione e può essere influenzata dal metodo di raccolta, conservazione e manipolazione dei campioni, da fattori legati al paziente (ad esempio, età e presenza di sintomi) e/o dallo stadio dell'infezione e dalle dimensioni del pool.
- Anche se rare, le mutazioni nelle regioni altamente conservate di un genoma virale coperte dal test **cobas® MPX** possono alterare i legami dei primer e/o delle sonde e impedire l'identificazione del virus.
- A causa delle differenze intrinseche tra le tecnologie, si consiglia agli utenti, prima di passare da una tecnologia a un'altra, di svolgere uno studio sulla correlazione tra i metodi nel proprio laboratorio, così da qualificare tali differenze. Si consiglia agli utenti di elaborare norme/procedure specifiche.

Equivalenza dei sistemi / confronto tra sistemi

L'equivalenza tra il **cobas® 5800 System** e i **cobas® 6800/8800 Systems** è stata dimostrata attraverso alcuni studi specifici.

I risultati presentati in queste Istruzioni per l'uso si basano sull'equivalenza delle prestazioni tra tutti i sistemi.

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

Caratteristiche delle prestazioni

Campioni di donatori viventi

Limite di sensibilità (LoD)

Standard internazionali OMS/Standard primari Roche

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

- 3° standard internazionale dell'OMS per l'RNA di HIV-1 gruppo M (codice NIBSC 10/152)
- Standard internazionale dell'OMS per l'RNA di HIV-2 (codice NIBSC 08/150)⁴⁰
- Standard primari Roche per l'RNA di HIV-1 gruppo O
- 2° standard internazionale dell'OMS per l'RNA di HCV (codice NIBSC 96/798)
- 3° standard internazionale dell'OMS per il DNA di HBV (codice NIBSC 10/264)

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

Per quanto riguarda gli standard internazionali dell'OMS per l'HIV-1 gruppo M, l'HCV e l'HBV, l'HIV-2 e gli standard primari Roche per l'HIV-1 gruppo O, sono state preparate 3 serie di diluizioni indipendenti di ciascuno dei membri degli standard virali per l'HIV-1 gruppo M, l'HCV e l'HBV (co-formulati) e l'HIV-1 gruppo O e l'HIV-2 (formulati individualmente), utilizzando plasma umano normale in EDTA, negativo ai virus HIV, HBV e HCV. Ogni serie di diluizioni è stata analizzata con 3 diversi lotti di kit del test cobas® MPX circa 63 volte per lotto, per un totale di circa 189 test per ogni concentrazione. Per quanto riguarda lo standard internazionale per l'HIV-2, sono stati eseguiti 33 test per lotto da 3 diluizioni indipendenti utilizzando 3 lotti di reagenti, per un totale di 99 test per concentrazione. Per ogni virus sono state utilizzate l'analisi PROBIT al 95% (Tabella 14) e l'analisi PROBIT al 50% (Tabella 15) sui dati combinati tra le serie di diluizioni e i lotti di reagenti per stimare il limite di sensibilità (LoD) e calcolare il limite minimo e massimo degli intervalli di confidenza al 95%. Le percentuali di reattività osservate negli studi sul limite di sensibilità dedicati ad ogni virus sono sintetizzate dalla Tabella 16 alla Tabella 20.

Tabella 14 Risultati dell'analisi PROBIT 95% sui dati del limite di sensibilità raccolti con gli standard virali in plasma in EDTA e siero

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

Tabella 15 Risultati dell'analisi PROBIT 50% sui dati del limite di sensibilità raccolti con gli standard virali in plasma in EDTA e siero

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

Tabella 16 Riepilogo delle percentuali di reattività all'HIV-1 gruppo M in plasma in EDTA e siero

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

Tabella 17 Riepilogo delle percentuali di reattività per l'HIV-1 gruppo O in plasma EDTA e siero

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

Tabella 18 Riepilogo delle percentuali di reattività all'HIV-2 in plasma in EDTA e siero

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

Tabella 19 Riepilogo delle percentuali di reattività all'HCV in plasma in EDTA e siero

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

Tabella 20 Riepilogo delle percentuali di reattività all'HBV in plasma in EDTA e siero

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

Riproducibilità

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

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

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

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

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

I limiti degli intervalli di confidenza al 95% bilaterali per ogni percentuale di reattività sono stati calcolati per ognuno dei tre livelli di HIV-1 gruppo M, HIV-1 gruppo O, HIV-2, HCV e HBV che sono stati analizzati su 3 giorni, con 3 lotti di reagenti e 3 diversi **cobas**® 8800 Systems. Il test **cobas**® MPX è riproducibile su più giorni, lotti di reagenti e strumenti. I risultati riguardanti la variabilità tra lotti di reagenti sono sintetizzati nella Tabella 21.

Tabella 21 Riepilogo della riproducibilità tra lotti di reagenti per il test **cobas® MPX**

Analita	Concentrazione	Lotto di reagenti	% reattivi (repliche reattive/valide)	Limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95%	Limite superiore dell'intervallo di confidenza al 95%
HIV-1 gruppo 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 gruppo 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%

Analita	Concentrazione	Lotto di reagenti	% reattivi (repliche reattive/valide)	Limite inferiore dell'intervallo di confidenza al 95%	Limite superiore dell'intervallo di confidenza al 95%
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%

Verifica del genotipo

Allo scopo di definire le prestazioni del test **cobas®** MPX con riferimento all'identificazione dei sottotipi per l'HIV-1 gruppo M (A-H, J, K, BF, BG) e forme ricombinanti circolanti (CRF01_AE e CRF02_AG), dell'HIV-1 gruppo O, dell'HIV-1 gruppo N e con riferimento all'identificazione dei sottotipi per l'HIV-2 (A e B), dei genotipi per l'HCV (1-6) e per l'HBV (A-H e mutante pre-core), sono stati analizzati campioni clinici univoci e/o colture per ognuno dei sottotipi e genotipi elencati dalla Tabella 22 alla Tabella 26.

HIV-1 gruppo M

In totale 115 campioni clinici univoci di HIV-1 gruppo M con sottotipo HIV-1 noto sono stati analizzati con il test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 per quantificare le concentrazioni di HIV-1. Tutti i 115 campioni sono stati prima diluiti con plasma umano in EDTA normale, negativo ai virus (HIV, HCV e HBV) fino a 5 volte il valore LoD del test cobas® MPX. Di questi, 102 campioni sono stati analizzati anche in forma non diluita. Tutti i 115 campioni clinici con sottotipo noto sono stati identificati sia in forma non diluita che in forma diluita e/o a $5 \times \text{LoD}$ (Tabella 22).

Tabella 22 Campioni clinici di HIV-1 gruppo M

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

* Volume insufficiente per eseguire il test senza diluizione

HIV-1 gruppo O e HIV-1 gruppo N

In totale sono stati analizzati 7 isolati da coltura di HIV-1 gruppo O e 2 isolati da coltura di HIV-1 gruppo N dopo la preparazione di diluizioni logaritmiche con plasma umano in EDTA normale, negativo ai virus (HIV, HCV e HBV). Per quanto riguarda gli isolati di HIV-1 gruppo O, in totale sono stati eseguiti 28 test sui 7 isolati, con 4 ripetizioni per ogni diluizione. Per quanto riguarda gli isolati di HIV-1 gruppo N, sono stati analizzati due isolati. Complessivamente sono stati eseguiti 4 test per ogni isolato dalla diluizione 1:1,00E+02 a 1:1,00E+03 e 1 test per il secondo isolato con diluizione 1:1,00E+04. Gli isolati da coltura di HIV-1 gruppo O sono stati identificati fino al livello di diluizione 1:1,00E+07 e gli isolati da coltura del gruppo N sono stati identificati fino al livello di diluizione 1:1,00E+04 (Tabella 23).

Tabella 23 Isolati da coltura di HIV-1 gruppo O e HIV-1 gruppo N

Diluizione del campione	% reattivi (n. reattivi/n. repliche valide analizzate)	
	HIV-1 gruppo O	HIV-1 gruppo N
1:1,00E+02	100,0% (28/28)	100,0% (4/4)
1:1,00E+03	100,0% (28/28)	100,0% (4/4)
1:1,00E+04	89,3% (25/28)	20% (1/5)
1:1,00E+05	71,4% (20/28)	0,0% (0/4)
1:1,00E+06	71,4% (20/28)	0,0% (0/4)
1:1,00E+07	71,4% (20/28)	0,0% (0/4)

HIV-2

In totale 5 isolati da coltura di HIV-2 sottotipo A (4) e B (1) sono stati analizzati dopo la preparazione di diluizioni logaritmiche con plasma umano in EDTA normale, negativo ai virus (HIV, HCV e HBV). Per quanto riguarda il sottotipo A, sono stati eseguiti in totale 16 test per 4 isolati per ogni diluizione. Per quanto riguarda 1 isolato del sottotipo B, sono stati eseguiti in totale 4 test per ogni diluizione. In totale 11 campioni clinici di HIV-2 sottotipo A (5) e B (6) sono stati analizzati anche dopo la preparazione di diluizioni logaritmiche con plasma umano in EDTA normale, negativo ai virus. Per il sottotipo A, sono stati eseguiti in totale 20 test per 5 campioni clinici; per il sottotipo B, sono stati eseguiti in totale 24 test per 6 campioni clinici, con 4 ripetizioni per ogni diluizione. Tutti gli isolati da coltura sono stati identificati dal test **cobas® MPX**. I campioni clinici sono stati identificati dal test **cobas® MPX** fino a livelli di diluizione 1:1,00E+03 per i sottotipi A e B. I risultati totali sono sintetizzati nella Tabella 24.

Tabella 24 Isolati da coltura e campioni clinici di HIV-2

Diluizione del campione	% reattivi (n. reattivi/n. repliche valide analizzate)			
	Isolato da coltura		Campione clinico	
	Sottotipo A	Sottotipo B	Sottotipo A	Sottotipo B
1:1,00E+02	100,0% (16/16)	100,0% (4/4)	100,0% (20/20)	100,0% (24/24)
1:1,00E+03	100,0% (16/16)	100,0% (4/4)	65,0% (13/20)	50,0% (12/24)
1:1,00E+04	100,0% (15/15)	100,0% (4/4)	25,0% (5/20)	0,0% (0/24)
1:1,00E+05	100,0% (16/16)	100,0% (4/4)	5,0% (1/20)	0,0% (0/24)
1:1,00E+06	100,0% (16/16)	100,0% (4/4)	0,0% (0/20)	0,0% (0/24)
1:1,00E+07	81,2% (13/16)	0% (0/4)	0,0% (0/20)	0,0% (0/24)

HCV

In totale 96 campioni clinici univoci di HCV con genotipo HCV noto sono stati analizzati con il test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV v2.0 per quantificare le concentrazioni di HCV. Tutti i 96 campioni clinici di HCV con genotipi noti sono stati prima diluiti con plasma umano in EDTA normale, negativo ai virus (HIV, HCV e HBV) fino a 5 volte il valore LoD del test **cobas**® MPX. Di questi, 95 campioni sono stati analizzati anche in forma non diluita. Tutti i campioni sono stati analizzati una sola volta. Tutti i 96 campioni clinici positivi all'HCV sono stati identificati sia in forma non diluita che in forma diluita, come sintetizzato nella Tabella 25.

Tabella 25 Campioni clinici di HCV

Genotipo	% reattivi (n. reattivi/n. campioni analizzati) non diluiti	% reattivi (n. reattivi/n. campioni analizzati) diluiti a 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

In totale 94 campioni clinici univoci di HBV con genotipo HBV noto e mutanti pre-core sono stati analizzati con il test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV per quantificare le concentrazioni di HBV. Tutti i 94 campioni clinici di HBV con genotipi noti sono stati analizzati sia in forma non diluita, sia dopo essere stati diluiti con plasma umano in EDTA normale, negativo ai virus (HIV, HCV e HBV) fino a 5 volte il valore LoD del test **cobas®** MPX. Tutti i campioni sono stati analizzati una sola volta. Tutti i 94 campioni clinici positivi all'HBV sono stati identificati sia in forma non diluita che in forma diluita, come sintetizzato nella Tabella 26.

Tabella 26 Campioni clinici di HBV

Genotipo	% reattivi (n. reattivi/n. campioni analizzati) non diluiti	% reattivi (n. reattivi/n. campioni analizzati) diluiti a 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	Non analizzato*	100% (1/1)
H	100,0% (8/8)	100,0% (8/8)
Mutante pre-core	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)

* Volume insufficiente per eseguire il test senza diluizione

Pannelli di sieroconversione

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

Pannelli di sieroconversione per l'HIV-1 gruppo M

Sono stati utilizzati dieci pannelli di sieroconversione disponibili in commercio. Ogni membro del pannello è stato analizzato sia in forma non diluita, sia in forma diluita 1:6 e 1:96, in modo da simulare le analisi in pool con i test **cobas®** MPX e **cobas®** TaqScreen MPX. I risultati ottenuti dal test **cobas®** MPX sono stati confrontati con i risultati ottenuti dal test **cobas®** TaqScreen MPX e da alcuni test sierologici per l'HIV con certificazione CE-IVD e FDA che sono stati eseguiti senza diluizione. I risultati complessivi delle prestazioni sono sintetizzati nella Tabella 27.

Tabella 27 Prestazioni del test **cobas®** MPX con i pannelli di sieroconversione dell'HIV

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

Pannelli di sieroconversione per l'HCV

Sono stati utilizzati dieci pannelli di sieroconversione disponibili in commercio. Ogni membro del pannello è stato analizzato sia in forma non diluita, sia in forma diluita 1:6 e 1:96, in modo da simulare le analisi in pool con i test **cobas® MPX** e **cobas® TaqScreen MPX**. I risultati ottenuti dal test **cobas® MPX** sono stati confrontati con i risultati ottenuti dal test **cobas® TaqScreen MPX** e da alcuni test sierologici per l'HCV con certificazione CE-IVD e FDA che sono stati eseguiti senza diluizione. I risultati complessivi delle prestazioni sono sintetizzati nella Tabella 28.

Tabella 28 Prestazioni del test **cobas® MPX** con i pannelli di sieroconversione dell'HCV

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

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

** Intervallo di 24 giorni tra prelievi consecutivi.

Pannelli di sieroconversione per l'HBV

Sono stati utilizzati dieci pannelli di sieroconversione disponibili in commercio. Ogni membro del pannello è stato analizzato sia in forma non diluita, sia in forma diluita 1:6 e 1:96, in modo da simulare le analisi in pool con i test **cobas® MPX** e **cobas® TaqScreen MPX**. I risultati ottenuti dal test **cobas® MPX** sono stati confrontati con i risultati ottenuti dal test **cobas® TaqScreen MPX** e da alcuni test sierologici per l'HBV con certificazione CE-IVD e FDA che sono stati eseguiti senza diluizione. I risultati complessivi delle prestazioni sono sintetizzati nella Tabella 29.

Tabella 29 Prestazioni del test **cobas® MPX** con i pannelli di sieroconversione dell'HBV

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

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

Specificità analitica

La specificità analitica del test **cobas®** MPX è stata valutata con riferimento alla reattività crociata con 25 microrganismi ad una concentrazione di 10^6 particelle, copie o PFU/ml, inclusi 18 isolati virali, 6 ceppi batterici e 1 isolato di lievito (Tabella 30). I microrganismi sono stati aggiunti a plasma umano normale in EDTA, negativo ai virus HIV, HCV e HBV. I test sono stati eseguiti con e senza l'aggiunta dei virus HIV-1 gruppo M, HCV, HBV (co-formulati) e HIV-1 gruppo O e HIV-2, ad una concentrazione approssimativa di $3 \times \text{LoD}$ del test **cobas®** MPX per ogni virus. I microrganismi analizzati non hanno causato reazioni crociate con il test **cobas®** MPX.

Tabella 30 Microrganismi analizzati ai fini della specificità analitica

Virus	Flavivirus	Batteri	Lieviti
Adenovirus 5	Virus del Nilo Occidentale	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Citomegalovirus	Virus Dengue tipo 1	<i>Propionibacterium acnes</i>	
Virus di Epstein Barr	Virus Usutu	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Virus dell'herpes simplex tipo 1		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
Virus dell'herpes simplex tipo 2		<i>Streptococcus viridans</i>	
Virus dell'epatite A		<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
Virus dell'epatite E			
Virus dell'epatite G			
Virus linfotropico delle cellule T umane tipo I			
Virus linfotropico delle cellule T umane tipo II			
Herpesvirus umano 6			
Virus dell'influenza A			
Parvovirus B19			
Virus della chikungunya			
Virus varicella-zoster			

I campioni di plasma provenienti da vari stati patologici (Tabella 31) sono stati analizzati con e senza l'aggiunta dei virus HIV-1 gruppo M, HCV, HBV (co-formulati) e HIV-1 gruppo O e HIV-2, ad una concentrazione approssimativa di $3 \times \text{LoD}$ del test **cobas®** MPX per ogni virus. Questi stati patologici non hanno causato reazioni crociate o interferenze con il test **cobas®** MPX.

Tabella 31 Campioni degli stati patologici analizzati ai fini della specificità analitica

Stato patologico		
Adenovirus tipo 5	Virus dell'herpes simplex tipo 1	Virus linfotropico delle cellule T umane tipo I
Citomegalovirus	Virus dell'herpes simplex tipo 2	Virus linfotropico delle cellule T umane tipo II
Virus Dengue	Virus dell'epatite A	Parvovirus B19
Virus di Epstein Barr	Virus dell'epatite E	Virus del Nilo Occidentale

Specificità analitica e sostanze interferenti

Sostanze interferenti di tipo endogeno

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

Sostanze interferenti di tipo esogeno

Campioni di plasma umano in EDTA normale e negativo ai virus HIV, HCV e HBV, contenenti concentrazioni eccezionalmente elevate di principi attivi (Tabella 32), sono stati analizzati con e senza l'aggiunta dei virus HIV-1 gruppo M, HCV, HBV (co-formulati), HIV-1 gruppo O e HIV-2 ad una concentrazione $3 \times \text{LoD}$ del test **cobas® MPX** per ogni virus. Queste sostanze esogene non hanno interferito con la sensibilità e la specificità del test **cobas® MPX**.

Tabella 32 Campioni clinici analizzati con vari principi attivi

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

Correlazione

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

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

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

Per quanto riguarda i campioni positivi all'HIV-1 gruppo M, all'HIV-1 gruppo O, all'HIV-2, all'HCV e all'HBV, i due metodi hanno prodotto risultati concordanti in base al test di McNemar, a dimostrazione del fatto che le prestazioni del test cobas® MPX e del test cobas® TaqScreen MPX v2.0 sono equivalenti (Tabella 33 e Tabella 34).

Tabella 33 Correlazione dei campioni sieropositivi (non diluiti)

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

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

Tabella 34 Correlazione dei campioni sieropositivi (diluizione 1:6)

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

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

Tasso globale d'errore del sistema

Il tasso globale d'errore del sistema per il test **cobas® MPX** è stato calcolato ripetendo 100 test su campioni di plasma in EDTA arricchiti con uno tra i virus HIV-1 gruppo M, HCV, HBV (co-formulati), HIV-1 gruppo O e HIV-2, per un totale di 300 test. Questi campioni sono stati analizzati a una concentrazione del target di circa $3 \times \text{LoD}$, dopo aver creato dei pool da 1 (non diluiti). Per questo studio sono stati utilizzati il **cobas® 8800 System** e lo strumento **cobas® p 680** (pipettamento e creazione di pool).

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

Contaminazione crociata

Il tasso di contaminazione crociata per il test **cobas® MPX** è stato calcolato eseguendo 240 test su un campione di plasma umano normale in EDTA, negativo ai virus HIV, HCV e HBV ed eseguendo 220 test su un campione con alto titolo di HBV ad una concentrazione di $1,00\text{E}+08$ UI/ml. Lo studio è stato eseguito con il **cobas® 8800 System**. Complessivamente sono state eseguite 5 sedute con campioni positivi e negativi in una configurazione a scacchiera.

Tutte le 240 ripetizioni eseguite sul campione negativo hanno prodotto risultati non reattivi, pertanto il tasso di contaminazione crociata è stato dello 0%. L'intervallo di confidenza esatto al 95% bilaterale è pari allo 0% per il limite inferiore e al 1,53% per il limite superiore [0%: 1,53%].

Campioni cadaverici

Sensibilità

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

In tutti i campioni di donatori viventi e non viventi è stato riscontrato un tasso di reattività del 100% (intervallo di confidenza al 95%: 94,0-100%). La sensibilità clinica osservata nei campioni cadaverici è risultata equivalente alla sensibilità osservata nei campioni di donatori viventi, calcolata con il metodo esatto di Fisher e sintetizzata nella Tabella 35.

Tabella 35 Sintesi del tasso di reattività nei campioni di plasma in EDTA da donatori viventi e non viventi

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

Specificità

Per definire la specificità del test **cobas® MPX** con i campioni cadaverici di plasma in EDTA e di siero, è stato effettuato un confronto rispetto alla specificità con i campioni dei donatori viventi. A tal fine, sono state analizzate singole repliche di 60 campioni cadaverici di plasma in EDTA, di cui 37 campioni individuali classificati come moderatamente emolizzati (colore da paglierino a rosa) e 23 campioni individuali classificati come altamente emolizzati (colore da rosso a marrone); 61 campioni cadaverici individuali di siero, di cui 42 campioni individuali classificati come moderatamente emolizzati e 19 campioni individuali classificati come altamente emolizzati; 60 campioni individuali di plasma da donatori viventi siero-negativi; 60 campioni individuali di siero. Lo studio è stato eseguito con 3 lotti di reagenti **cobas® MPX** indipendenti. Ogni campione cadaverico è stato diluito a 1:5,6 con **cobas® omni** Specimen Diluent sullo strumento, quindi è stato analizzato con la procedura prevista per i test sui campioni cadaverici. Tutti i campioni di plasma EDTA e di siero da donatori viventi e non viventi sono risultati non reattivi, per una specificità del 100%. La specificità osservata nei campioni cadaverici è risultata equivalente alla specificità osservata nei campioni di donatori viventi, calcolata con il metodo esatto di Fisher ($\alpha = 0,05$) e sintetizzata nella Tabella 36.

Tabella 36 Riepilogo della specificità con campioni di plasma-EDTA e di siero da donatori viventi e non viventi

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

Riproducibilità

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

Sono stati eseguiti i test per le seguenti componenti variabili:

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

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

dei risultati di reattività osservati con i campioni cadaverici e con i campioni di donatori viventi. Non sono state osservate differenze significative.

Il test cobas® MPX è riproducibile su più giorni e lotti di reagenti per i campioni di donatori viventi e non viventi. I risultati riguardanti la variabilità tra lotti di reagenti sono sintetizzati nella Tabella 37.

Tabella 37 Riepilogo della riproducibilità tra lotti di reagenti del test cobas® MPX per i campioni di donatori viventi e non viventi

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

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

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

Riproducibilità

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

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

La Tabella 38 presenta la concordanza percentuale per sito/strumento, lotto, giorno e batch a partire dai risultati di test validi per i membri positivi del pannello. Lo studio dimostra che il test cobas® MPX per l'uso sui sistemi cobas® 6800/8800 offre prestazioni riproducibili con tutte le variabili esaminate (lotto, sito/strumento, giornata e batch) e per i cinque analiti testati.

Tabella 38 Risultati del test riepilogati per sito/strumento, lotto, giorno e batch (membri del pannello positivi)

Target virale	Concentrazione virale	Laboratorio/strumento		Lotto		Giorno		Batch	
		ID	% risultati positivi	ID	% risultati positivi	ID	% risultati positivi	ID	% risultati positivi
HIV-1 gruppo M	~0,5 × 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)		

		Laboratorio/strumento		Lotto		Giorno		Batch	
Target virale	Concentrazione virale	ID	% risultati positivi	ID	% risultati positivi	ID	% risultati positivi	ID	% risultati positivi
HIV-1 gruppo 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)		

		Laboratorio/strumento		Lotto		Giorno		Batch	
Target virale	Concentrazione virale	ID	% risultati positivi	ID	% risultati positivi	ID	% risultati positivi	ID	% risultati positivi
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)		

Specificità clinica

Reattività nella popolazione di donatori di sangue

I campioni sono stati raccolti da donatori di sangue volontari, arruolati presso quattro siti di test. Le analisi con il test **cobas® MPX** sono state eseguite in base a due algoritmi, uno per il test su donazioni singole, che richiede un singolo livello di test, e uno per test in pool da 6, che richiede un singolo livello di test per i pool primari con risultati non reattivi e due livelli di test per i pool primari con risultati reattivi (uno per i pool primari e uno per i test di risoluzione dei singoli donatori) (Tabella 39). La specificità del pool è stata del 99,91% (10.524/10.534; 99,83-99,95%) (Tabella 40). Dieci pool reattivi contenevano tutte le donazioni con stato negativo. La specificità clinica per i test di donazioni singole è stata del 99,95% (IC 95%: 99,88-99,98%). La percentuale di batch non validi per il test **cobas® MPX** è stata del 3,5% (18/509) per le donazioni iniziali in pool di sei e del 6,8% (16/219) per le donazioni singole. Lo studio ha identificato due casi di reattività ai test NAT positivi all'HCV.

Tabella 39 Specificità clinica del test **cobas® MPX**: complessiva

Dimensioni pool	Frequenza (n/N)	Stima percentuale (IC Clopper Pearson esatto 95%)
Donazione singola (plasma)	5523/5528	99,91% (99,79-99,986%)
Donazione singola (siero)	5669/5670	99,98% (99,90-100,00%)
Donazione singola (plasma/siero)	11.192/11.198	99,95% (99,88-99,98%)
Pool di 6 (plasma)	62.982/62.982	100,00% (99,99-100,00%)

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

Tabella 40 Reattività dei pool di **cobas® MPX** da donatori di sangue volontari

Categoria	N. di pool	% pool analizzati
Pool analizzati	10.563	100
Pool non reattivi	10.524	99,63
Pool reattivi	39	0,37
Pool reattivi con stato del donatore positivo	29	0,27
Pool reattivi con stato del donatore negativo (falsi positivi)*	10	0,10

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

Reattività nella popolazione di donatori di plasma

Complessivamente sono state testate 108.306 donazioni valide da 24.514 donatori singoli in pool da 96 con **cobas® MPX** e un NAT multiplex omologato dalla FDA. 108.297 donazioni sono risultate negative per anti-HIV, anti-HCV e HBsAg (Tabella 41). Lo stato della donazione è stato assegnato in base alla concordanza di due test virali specifici (es. due risultati NAT o NAT e sierologia) sulla donazione indice o dei risultati dei test di follow-up. In totale sono stati testati con **cobas® MPX** 1106 pool validi, di cui 1092 (98,7%) non reattivi e 14 (1,3%) reattivi. Dei 1092 pool non reattivi, 1090 pool contenevano solo donazioni con stato negativo e due pool contenevano almeno una donazione con stato positivo. Tra i 1106 pool testati sono stati individuati due pool non reattivi con almeno una donazione con stato positivo e sette pool reattivi con almeno una donazione con stato positivo (Tabella 42).

Tabella 41 Specificità clinica del test **cobas® MPX** a livello di donazione

Parametro	Numero totale di donazioni con stato negativo	Risultato di cobas® MPX		Stima percentuale (IC esatto 95%)
		Reattivi	Non reattivi	
Specificità clinica	108.297	6	108.291	99,99 (99,99, 100,00)
Specificità clinica per HIV	108.297	3	108.294	100,00 (99,99, 100,00)
Specificità clinica per HCV	108.297	1	108.296	100,00 (100,00, 100,00)
Specificità clinica per HBV	108.297	2	108.295	100,00 (99,99, 100,00)

Tabella 42 Reattività dei pool nelle donazioni di plasma di origine

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

^a 479/1106 pool contenevano < 96 donazioni.

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

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

Undici donatori univoci hanno contribuito con 12 donazioni reattive (sei all'HCV, tre all'HIV e tre all'HBV). Sette donatori hanno completato i test di follow-up: tre di questi donatori non hanno mostrato prova di infezione durante il follow-up; per quattro donatori è stata confermata l'infezione in fase di follow-up, e due di questi sono risultati sieroconvertiti (HCV) durante il follow-up (Tabella 43). Uno dei tre donatori HBV è risultato essere un caso reattivo all'HBV su NAT.

Tabella 43 Modelli di reattività analitica osservati dai test iniziali su donazioni valide

Risultato di cobas® MPX	Stato donazione ^a	Numero di donazioni
HCV+	Positivo	5
HBV+	Negativi	2
HBV+	Positivo	4 ^b
HCV+	Negativi	1
HIV+	Negativi	3
Non reattivi	Negativi	108.291
	Totale	108.306

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

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

Nota: in questa tabella di riepilogo sono incluse solo le donazioni valide; + = reattivo/positivo.

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

Studi tra le popolazioni ad alto rischio

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

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

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

Dei 510 campioni ad alto rischio non diluiti, **cobas® MPX** ha identificato correttamente la presenza o l'assenza di target virale nel 97,0% (495/510) dei casi, in confronto ai risultati del test CAS o NAT alternativo (NGI, National Genetics Institute). Per il 3% dei campioni per cui **cobas® MPX** non ha identificato correttamente la presenza o l'assenza del target virale, **cobas® MPX** ha rilevato erroneamente un target virale in campioni che non contenevano tale target virale nell'1,8% (9/510) dei casi (risultato falso reattivo) e non è stato in grado di rilevare un target virale nei campioni che lo contenevano nell'1,2% (6/510) dei casi (risultato falso non reattivo). I risultati sono riassunti nella Tabella 44.

Tabella 44 Identificazione corretta e non corretta di virus: campioni non diluiti

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

^a Stato finale (a confronto con i risultati di CAS o NAT alternativo [test NGI]).

Nota: identificazione corretta = risultati veri reattivi e veri non reattivi (mostrati in grassetto).

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

cobas® MPX ha identificato correttamente il target virale nel 96,7% (492/509) dei casi (509 campioni diluiti, escluso un campione per cui non sono stati ottenuti risultati con NGI). Per il 3,4% dei campioni per cui **cobas® MPX** non ha identificato correttamente il target virale, **cobas® MPX** ha rilevato erroneamente un target virale in campioni che non contenevano tale target virale nell'1,2% (6/509) dei casi (risultato falso reattivo) e non è stato in grado di rilevare un target virale nei campioni che lo contenevano nel 2,2% (11/509) dei casi (risultato falso non reattivo). I risultati sono riassunti nella Tabella 45.

Tabella 45 Identificazione corretta e non corretta di virus: campioni diluiti

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

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

^b Escluso un campione per cui non sono stati ottenuti risultati con NGI.

Nota: identificazione corretta = risultati veri reattivi e veri non reattivi (mostrati in grassetto).

Sensibilità clinica

Studi tra le popolazioni NAT-positive

2569 campioni NAT-positivi ad HIV, HCV e HBV sono stati testati in quattro siti di test con **cobas®** MPX e **cobas®** TaqScreen MPX con incorporazione di CAS. Sono stati utilizzati quattro lotti di reagenti **cobas®** MPX. I 2569 noti come NAT-positivi comprendevano 1015 campioni positivi all'HIV, 1016 campioni positivi all'HCV e 538 campioni positivi all'HBV. Ciascuno di questi campioni è stato testato in forma non diluita e diluita (1:6) con **cobas®** MPX e **cobas®** TaqScreen MPX. Soltanto i campioni non diluiti sono stati analizzati con i test CAS approvati, in conformità con la procedura standard di trattamento dei campioni raccomandata nel foglio illustrativo del test **cobas®** TaqScreen MPX. La Tabella 46 confronta la sensibilità dei risultati dei test **cobas®** MPX e **cobas®** TaqScreen per campioni positivi ad HIV, HCV e HBV noti.

La sensibilità clinica complessiva del test **cobas®** MPX è stata del 100,0% (2549/2549) per i campioni non diluiti positivi noti e del 100,0% (2555/2555) per i campioni diluiti (1:6) positivi noti. La sensibilità clinica complessiva del test **cobas®** TaqScreen MPX è stata del 99,9% (2523/2524) per i campioni non diluiti positivi noti e del 99,8% (2559/2563) per i campioni diluiti (1:6) positivi noti. La PPA (concordanza percentuale positiva) complessiva tra il test **cobas®** MPX e il test **cobas®** TaqScreen MPX relativamente a tutti i campioni positivi noti, sia non diluiti che diluiti, è stata del 100,0% (Tabella 46).

Tabella 46 Confronto della sensibilità dei risultati dei test **cobas®** MPX e **cobas®** TaqScreen per campioni positivi ad HIV, HCV e HBV noti

		Sensibilità nei campioni positivi noti ^a		Differenza (risultato di cobas® MPX – cobas® TaqScreen MPX)	
Diluizione	Virus target	Risultato di cobas® MPX	Test cobas® TaqScreen MPX	Stima	Intervallo di confidenza al 95%
Non diluiti	Generale	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%	Non applicabile
	HBV	100,00% (528/528)	100,00% (502/502)	0,00%	Non applicabile
1:6	Generale	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%	Non applicabile
	HBV	100,00% (533/533)	100,00% (538/538)	0,00%	Non applicabile

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

Popolazione NAT-positiva per l'HIV

I 1015 campioni non diluiti positivi per l'HIV hanno prodotto 1006 risultati di test validi con **cobas®** MPX e 1008 risultati di test validi con **cobas®** TaqScreen MPX con incorporazione di CAS. I 1015 campioni diluiti positivi per l'HIV hanno prodotto 1006 risultati di test validi con **cobas®** MPX e 1009 risultati di test validi con **cobas®** TaqScreen MPX (CAS non eseguito sui campioni diluiti).

Il test **cobas®** MPX ha consentito di ottenere risultati reattivi per 1006 di 1006 (100,0%) campioni non diluiti positivi all'HIV e 1006 di 1006 (100,0%) campioni diluiti positivi all'HIV. Il test **cobas®** TaqScreen MPX con incorporazione di CAS ha consentito di ottenere risultati reattivi per 1007 di 1008 (99,90%) campioni non diluiti positivi all'HIV. Il test

cobas® TaqScreen MPX (senza esecuzione di CAS) ha consentito di ottenere risultati reattivi per 1005 di 1009 (99,60%) campioni diluiti positivi all'HIV. La PPA tra il test **cobas®** MPX e il test **cobas®** TaqScreen MPX per i campioni positivi all'HIV non diluiti e diluiti è stata rispettivamente del 100,0% e del 100,0%.

Popolazione NAT-positiva all'HCV

Il test **cobas®** MPX ha consentito di ottenere risultati reattivi per 1015 di 1015 (100,0%) campioni non diluiti positivi all'HCV e 1016 di 1016 (100,0%) campioni diluiti positivi all'HCV. Il test **cobas®** TaqScreen MPX con incorporazione di CAS ha consentito di ottenere risultati reattivi per 1014 di 1014 (100,0%) campioni non diluiti. Il test **cobas®** TaqScreen MPX (senza esecuzione di CAS) ha consentito di ottenere risultati reattivi per 1016 di 1016 (100,0%) campioni diluiti. La PPA tra il test **cobas®** MPX e il test **cobas®** TaqScreen MPX per i campioni positivi all'HCV non diluiti e diluiti è stata rispettivamente del 100,0% e del 100,0%.

Popolazione NAT-positiva all'HBV

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

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

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

Popolazione sieropositiva all'HIV-1 gruppo O

In totale sono stati analizzati con il test **cobas®** MPX e con il test **cobas®** TaqScreen MPX 12 campioni sieropositivi all'HIV-1 gruppo O, diluiti 1:6. La diluizione 1:6 prima di eseguire i test si è resa necessaria per il volume ridotto dei campioni. Tutti i campioni HIV-1 gruppo O, il cui test **cobas®** MPX eseguito dopo una diluizione 1:6 ha prodotto risultati reattivi per HIV, sono riepilogati nella Tabella 47, per una sensibilità clinica in relazione ai test sierologici del 100,0%.

Tabella 47 Confronto della reattività complessiva per i campioni sieropositivi all'HIV-1 gruppo O (diluizione 1:6)

Test cobas® TaqScreen MPX (diluizione 1:6)	cobas® MPX (diluizione 1:6)		Totale
	Reattivi	Non reattivi	
Reattivi	11	0	11
Non reattivi	1	0	1
Totale	12	0	12

Popolazione sieropositiva all'HIV-2

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

Su 184 campioni analizzati senza diluizione, 137 hanno generato risultati reattivi come riepilogato nella Tabella 48, per una sensibilità clinica rispetto ai test sierologici del 74,5% utilizzando **cobas® MPX**. Il test **cobas® MPX** ha dimostrato una sensibilità analoga rispetto all'HIV-2 anche diluendo i campioni 1:6 prima di sottoporli ad analisi con i due metodi. Su 319 campioni diluiti 1:6, 198 hanno generato risultati reattivi con il test **cobas® MPX** come riepilogato nella Tabella 49.

Tabella 48 Confronto della reattività complessiva per i campioni sieropositivi all'HIV-2 (non diluiti)

Test cobas® TaqScreen MPX (non diluiti)	Test cobas® MPX (non diluiti)		Totale
	Reattivi	Non reattivi	
Reattivi	118	7	125
Non reattivi	19	40	59
Totale	137	47	184

Tabella 49 Confronto della reattività complessiva per i campioni sieropositivi all'HIV-2 (diluizione 1:6)

Test cobas® TaqScreen MPX (diluizione 1:6)	cobas® MPX (diluizione 1:6)		Totale
	Reattivi	Non reattivi	
Reattivi	173	33	206
Non reattivi	25	88	113
Totale	198	121	319

Conferma dei risultati di sierologia

I dati dello studio sui campioni positivi noti riguardano 2555 campioni positivi noti, ciascuno con infezione confermata da NAT (test sull'acido nucleico) con risultati di test HIV, HCV o HBV e sierologici. Sono stati inoltre resi noti risultati sierologici supplementari per 1.771 (69,3%) campioni. Il risultato corretto del test **cobas® MPX**, definito come reattivo per il target virale per cui il campione era notoriamente positivo (es. HIV, HCV o HBV), è stato confrontato con i risultati sierologici supplementari. Le percentuali di risultati corretti (stima della sensibilità) per **cobas® MPX** sono state calcolate per ogni virus target e nel complesso, con intervalli di confidenza (IC) associati del 95%. **cobas® MPX** ha identificato correttamente 1771 di 1771 (100,0%) campioni con risultati sierologici reattivi e supplementari. La Tabella 50 mostra la reattività di **cobas® MPX** per ogni analita virale target, a confronto con i risultati dei test sierologici per target virale noto e supplementari, nonché una stima della sensibilità e l'IC del 95% complessivo e per ogni target virale.

Tabella 50 Sensibilità di **cobas® MPX** per campioni positivi noti non diluiti con risultati sierologici a conferma

Diluizione	Test	Virus target	Totale campioni positivi noti*	N. campioni reattivi per test	Stima di sensibilità	Punteggio IC 95%
Non diluiti	MPX8800	Generale	1.771	1.771	100,00%	(99,78%, 100,00%)
Non diluiti	MPX8800	HIV	496	496	100,00%	(99,23%, 100,00%)
Non diluiti	MPX8800	HCV	747	747	100,00%	(99,49%, 100,00%)
Non diluiti	MPX8800	HBV	528	528	100,00%	(99,28%, 100,00%)

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

Informazioni supplementari

Caratteristiche del test

Tipo di campione	Plasma e siero
Quantità minima di campione necessaria per un donatore vivente	1000 µl*
Quantità di campione analizzato per un donatore vivente	850 µl
Quantità minima di campione necessaria per un donatore non vivente	300 µl*
Quantità di campione analizzato per un donatore non vivente	150 µl

* Le provette utilizzate per il test potrebbero avere volumi morti diversi o richiedere un volume minimo più basso o più alto. Per ulteriori informazioni, contattare un rappresentante dell'assistenza tecnica Roche.

Simboli

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

Tabella 51 Simboli sulle etichette dei prodotti Roche per la diagnostica mediante PCR

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

Assistenza tecnica

Per richiedere assistenza tecnica, contattare la nostra filiale locale:

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

Produttore e importatore

Tabella 52 Produttore e importatore



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

Prodotto in USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marchi e brevetti

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

Copyright

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliografia

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.

Revisione del documento

Informazioni sulla revisione del documento	
Doc Rev. 2.0 11/2023	Aggiornamento del documento intero per includere kit 192T dove appropriato. Correzione di errori tipografici e linguistici. Aggiornamento della stabilità del kit 480T dopo l'apertura nella Tabella 7. Aggiunta di informazioni nella sezione Raccolta, trasporto, conservazione e creazione di pool di campioni. Aggiornamento della sezione Precauzioni e requisiti per l'uso. Aggiunta del link al report sintetico sulla sicurezza e sulle prestazioni. Aggiornamento della sezione Marchi e brevetti, collegamento incluso. Aggiornamento dei marchi cobas®. Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.

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