

cobas[®] SARS-CoV-2 Qualitative

Test kwasu nukleinowego do użytku z systemami cobas[®] 5800/6800/8800

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

cobas[®] SARS-CoV-2 Qualitative 192T

P/N: 09446109190

cobas[®] SARS-CoV-2 Qualitative 480T

P/N: 09448870190

cobas[®] SARS-CoV-2 Qualitative Control Kit

P/N: 09446117190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

Spis treści

Przeznaczenie.....	5
Podsumowanie oraz opis testu.....	5
Odczynniki i materiały.....	7
Odczynniki i kontrole do testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative	7
Odczynniki cobas omni do przygotowywania próbek	9
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników	10
Wymagania dotyczące użytkowania systemu cobas® 5800	11
Wymagania dotyczące użytkowania systemów cobas® 6800/8800	12
Materiały dodatkowe wymagane dla systemu cobas® 5800	13
Materiały dodatkowe wymagane dla systemów cobas® 6800/8800	14
Alternatywne zestawy do pobierania próbek wymazów do użytku z systemami cobas® 5800/6800/8800	15
Wymagane urządzenia i oprogramowanie	15
Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania	16
Ostrzeżenia i środki ostrożności.....	16
Użytkowanie odczynników	17
Dobra praktyka laboratoryjna	17
Pobieranie, transport i przechowywanie próbek	18
Pobieranie próbek – próbki typu wymaz	18
Pobieranie próbek z nosa (nozdrza przednie) – pobranie przez pracownika służby zdrowia lub samodzielnie na miejscu.....	19
Pobieranie próbek – ślina.....	20
Transport i przechowywanie – próbki typu wymaz	21
Transport i przechowywanie – ślina	21

Instrukcja użytkowania..... 22

Uwagi proceduralne.....	22
Wykonywanie testu cobas ® SARS-CoV-2 Qualitative przy użyciu próbek typu wymaz.....	22
Próbki pobrane do podłoża cobas ® PCR Media, do 0,9% roztworu soli fizjologicznej, UTM-RT lub UVT	22
Próbki pobrane z użyciem zestawów do pobierania próbek z jedną lub dwiema wymazówkami cobas ® PCR Media Uni lub Dual Swab Sample Kit lub cobas ® PCR Media z zestawem cobas ® Uni Swab 100 Kit	23
Wykonywanie testu cobas ® SARS-CoV-2 Qualitative przy użyciu próbek śliny.....	24
Pulowanie próbek w testach na wirusa SARS-CoV-2	25
Metody pulowania	25
Raportowanie wyników puli oraz badania kontrolne	26
Wykonywanie testu cobas ® SARS-CoV-2 Qualitative w systemie cobas ® 5800.....	27
Wykonywanie testu cobas ® SARS-CoV-2 Qualitative w systemach cobas ® 6800/8800.....	28

Wyniki 29

Kontrola jakości i ważność wyników w systemie cobas ® 5800 oraz w systemach cobas ® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 2.0 lub nowszej	29
Wyniki kontroli w systemie cobas ® 5800 oraz w systemach cobas ® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 2.0 lub nowszej	29
Interpretacja wyników w systemie cobas ® 5800 oraz w systemach cobas ® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 2.0 lub nowszej.....	30
Kontrola jakości i ważność wyników w systemach cobas ® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 1.4.....	31
Interpretacja wyników w systemach cobas ® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 1.4	31
Ograniczenia metody.....	34
Stosowanie pulowania z uwzględnieniem chorobowości	35

Niekliniczna ocena wiarygodności 37

Czułość analityczna (granica wykrywalności) – dla próbek typu wymaz.....	37
Czułość analityczna (granica wykrywalności) – próbki śliny.....	39
Inkluzywność	40
Precyzja.....	41
Swoistość analityczna / reaktywność krzyżowa.....	42
Substancje wpływające na wynik testu	44
Równoważność macierzy – UTM-RT/UVT, cobas® PCR Media i 0,9% roztwór soli fizjologicznej	46
Błąd całego systemu	46
Kontaminacja między próbkami.....	46
Wydajność testu w pulach próbek	47

Ocena klinicznej wiarygodności testu..... 49

Wydajność w zakresie próbek klinicznych – wymazy.....	49
Wydajność w zakresie próbek klinicznych – próbki śliny	50
Odtwarzalność	52
Równoważność/porównanie systemu	53

Dodatkowe informacje 54

Najważniejsze cechy testu	54
Oznaczenia	55
Pomoc techniczna	56
Wytwórca i importer	56
Znaki towarowe i patenty.....	56
Prawo autorskie	56
Piśmiennictwo	57
Wersja dokumentu.....	58

Przeznaczenie

Test **cobas**® SARS-CoV-2 Qualitative do stosowania w systemach **cobas**® 5800/6800/8800 jest wykonywanym w czasie rzeczywistym testem RT-PCR przeznaczonym do jakościowego wykrywania kwasów nukleinowych SARS-CoV-2 w pobranych samodzielnie zgodnie z instrukcjami dostawcy opieki zdrowotnej próbkach wymazów z przodu nosa i próbek śliny (pobranych na miejscu) oraz pobranych przez pracownika dostawcy opieki zdrowotnej próbkach wymazów z nosa, jamy nosowo-gardłowej i jamy ustno-gardłowej od dowolnych osób, włącznie z podejrzanymi przed dostawcą usług medycznych o zakażenie COVID-19 oraz osób bez objawów lub innych powodów podejrzenia COVID-19.

Ten test jest również przeznaczony do jakościowego wykrywania kwasów nukleinowych wirusa SARS-CoV-2 w spulowanych próbkach zawierających do sześciu indywidualnych próbek pochodzących z samodzielnie pobranego wymazu z jamy nosowej po uzyskaniu instrukcji od dostawcy opieki zdrowotnej (pobieranie na terenie ośrodka) lub pobieranych przez pracownika dostawcy opieki zdrowotnej wymazów z jamy nosowej, jamy nosowo-gardłowej oraz części ustnej gardła. Wyniki ujemne próbek spulowanych należy traktować jako prawdopodobne, a w sytuacji niezgodności z klinicznymi objawami przedmiotowymi i podmiotowymi lub w sytuacji, gdy jest to konieczne w celu wdrożenia leczenia pacjenta, spulowane próbki należy poddać testom indywidualnym. Przed zgłoszeniem wyniku należy indywidualnie przetestować materiał zawarty w pulach o dodatnim lub prawdopodobnie dodatnim wyniku testu. Z powodu obniżonej czułości testów spulowanych, w przypadku materiału o niskim stężeniu RNA wirusa SARS-CoV-2 może nie dojść do jego wykrycia w próbkach spulowanych.

Wyniki dotyczą wykrywania RNA wirusa SARS-CoV-2. RNA wirusa SARS-CoV-2 zasadniczo może być wykrywany w próbkach z dróg oddechowych w ostrej fazie zakażenia. Dodatkowo wyniki wskazują na obecność RNA wirusa SARS-CoV-2, ale mogą nie oznaczać obecności RNA wirusa SARS-CoV-2. Do określenia statusu zakażenia pacjenta wymagane jest porównanie stanu klinicznego z wywiadem pacjenta oraz innymi informacjami diagnostycznymi. Wyniki dodatnie nie wykluczają zakażenia bakteryjnego lub współzakażenia innymi wirusami.

Wyniki ujemne nie wykluczają zakażenia wirusem SARS-CoV-2 i nie powinny być stosowane jako jedyna podstawa decyzji dotyczących postępowania z pacjentem. Wyniki ujemne należy porównać z obserwacjami klinicznymi, wywiadem pacjenta oraz informacjami epidemiologicznymi.

Test **cobas**® SARS-CoV-2 Qualitative przeznaczony jest do stosowania przez przeszkolony personel laboratorium klinicznego, przeszkolony w stosowaniu technik PCR w czasie rzeczywistym oraz procedur diagnostycznych *in vitro*.

Podsumowanie oraz opis testu

Objaśnienie testu

cobas® SARS-CoV-2 Qualitative to jakościowy test kwasów nukleinowych przeznaczony do stosowania w systemach **cobas**® 5800, **cobas**® 6800 i **cobas**® 8800 w celu wykrywania RNA odkrytego w 2019 r. nowego koronawirusa (SARS-CoV-2) w indywidualnych próbkach śliny pobranych do jałowego, pustego pojemnika oraz indywidualnych lub spulowanych próbkach wymazów z nosa, jamy nosowo-gardłowej i jamy ustno-gardłowej pobranych na podłoże Universal Transport Medium System (UTM-RT) firmy Copan, BD™ Universal Viral Transport System (UVT), **cobas**® PCR Media lub 0,9% roztwór soli fizjologicznej. Podczas przygotowania, do każdej próbki wprowadzana jest kontrola wewnętrzna RNA używana do monitorowania całego procesu przygotowania próbki i amplifikacji PCR. Dodatkowo test wykorzystuje kontrole zewnętrzne (kontrola dodatnia o niskim mianie i kontrola ujemna).

Zasady procedury

Test **cobas**® SARS-CoV-2 Qualitative opiera się na całkowicie zautomatyzowanym przygotowaniu próbek (ekstrakcji i oczyszczaniu kwasów nukleinowych), po którym przeprowadzana jest amplifikacja i detekcja podczas reakcji PCR. System **cobas**® 5800 zaprojektowano jako urządzenie zintegrowane. **cobas**® 6800/8800 składa się z modułu podawania próbek, modułu transferu, modułu przetwarzania oraz modułu analitycznego. Automatyczne przetwarzanie danych prowadzone jest przez oprogramowanie systemu **cobas**® 5800 lub **cobas**® 6800/8800, które przypisuje wynik testu do wszystkich analiz. Wyniki można analizować bezpośrednio na ekranie systemu lub wydrukować w postaci raportu.

Kwasy nukleinowe z próbek pacjentów oraz dodanej kontroli wewnętrznej RNA (RNA IC) izolowane są równocześnie. Kwas nukleinowy uwalniany jest poprzez dodanie do próbki proteinazy i odczynnika lizującego. Uwolniony kwas nukleinowy wiąże się z silikonową powierzchnią dodanych szklanych cząstek magnetycznych. Niezwiązane substancje i zanieczyszczenia, takie jak zdenaturowane białko, debris komórkowy i potencjalne inhibitory reakcji PCR usuwane są podczas kolejnych etapów płukania, a oczyszczony kwas nukleinowy jest następnie wmywany w podwyższonej temperaturze ze szklanych cząstek magnetycznych z użyciem buforu do elucji. Kontrole zewnętrzne (dodatnia i ujemna) są przetwarzane w ten sam sposób.

Wybiórczą amplifikację docelowego kwasu nukleinowego z próbki osiąga się przez zastosowanie starterów wiodącego i odwrotnego, swoistych dla targetu dla regionu niestrukturalnego ORF1 a/b unikalnego dla wirusa SARS-CoV-2. Dodatkowo wybrano konserwatywny region genu E białka płaszcza strukturalnego do wykrywania przedstawicieli podrodzaju Sarbecovirus. Zestawy do wykrywania całego podrodzaju Sarbecovirus będą wykrywać także wirusa SARS-CoV-2.

Selektywną amplifikację kontroli wewnętrznej RNA uzyskuje się jest przez użycie niekompetencyjnych starterów wiodącego i odwrotnego swoistych dla sekwencji, które nie wykazują homologii z genomem koronawirusa. Do amplifikacji wykorzystywana jest termostabilna polimeraza DNA.

Odczynnik mastermiks **cobas**® SARS-CoV-2 Qualitative zawiera sondy detekcyjne, które są swoiste wobec koronawirusa typu SARS-CoV-2, przedstawicieli podrodzaju Sarbecovirus oraz kwasu nukleinowego RNA kontroli wewnętrznej. Sondy detekcyjne koronawirusa oraz kontroli wewnętrznej RNA oznakowano unikalnymi barwnikami fluorescencyjnymi, pełniącymi rolę barwników reporterowych. Każda sonda jest również wyznakowana drugim barwnikiem pełniącym rolę wygaszacza. W przypadku niezwiązania z sekwencją docelową sygnały fluorescencyjne nienaruszonych sond tłumione są przez barwnik wygaszający. Podczas amplifikacji PCR hybrydyzacja sond do swoistych sekwencji jednoniciowej matrycy DNA skutkuje cięciem nici przez polimerazę DNA w wyniku jej aktywności egzonukleazy w kierunku od końca 5' do 3', co powoduje rozdzielenie barwników reporterowego i wygaszającego oraz wygenerowanie sygnału fluorescencyjnego. Z każdym cyklem PCR generowana jest zwiększająca się liczba rozszczepionych sond i jednocześnie wzrasta sumaryczny sygnał barwnika reporterowego. Fluorescencja każdego barwnika reporterowego mierzona jest przy zdefiniowanych długościach fali, co umożliwia równoczesne wykrywanie i rozróżnienie zamplifikowanych sekwencji docelowych koronawirusów oraz RNA kontroli wewnętrznej. Odczynnik Master Mix zamiast trifosforanu deoksytymidyny (dTTP) zawiera trifosforan deoksyurydyny (dUTP), który wbudowywany jest do nowo syntetyzowanego DNA (amplikonu). Jakikolwiek zanieczyszczające amplikony z poprzednich reakcji PCR niszczone są podczas podgrzewania w pierwszym etapie cyklu termicznego dzięki aktywności enzymu AmpErase (uracylo-N-glikozyazy), który znajduje się w mieszaninie do reakcji PCR. Jednak nowo powstałe amplikony nie ulegają degradacji, gdyż enzym AmpErase jest inaktywowany w temperaturze przekraczającej 55°C.

Odczynniki i materiały

Materiały dostarczone dla testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative zawiera Tabela 1. Materiały wymagane, ale niedostarczone zawierają Tabela 2, Tabela 3, Tabela 4, Tabela 8, Tabela 9 i Tabela 10.

Informacje dotyczące zagrożeń związanych z produktem zawierają rozdziały **Odczynniki i materiały** oraz **Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania**.

Odczynniki i kontrole do testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative

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

Tabela 1 cobas® SARS-CoV-2 Qualitative

cobas® SARS-CoV-2 Qualitative Przechowywać w temperaturze 2–8°C Kaseta na 192 testów (P/N 09446109190) Kaseta na 480 testów (P/N 09448870190)			
Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw 192 testów	Ilość na zestaw 480 testów
Roztwór proteinyazy (PASE)	Bufor Tris, < 0,05% EDTA, chlorek wapnia, octan wapnia, 8% proteinyazy, glicerol EUH210: Karta charakterystyki dostępna na żądanie. EUH208: Zawiera subtylezyna z <i>Bacillus subtilis</i> . Może powodować wystąpienie reakcji alergicznej.	22,3 ml	38 ml
RNA kontroli wewnętrznej (RNA IC)	Bufor trycynowy, < 0,05% EDTA, < 0,001% konstruktu RNA opłaszczanego niespokrewnionego z wirusami podrodzaju Sarbecovirus zawierającego regiony sekwencji swoiste dla starterów i sond (niezakaźny RNA w bakteriofagu MS2), < 0,1% azydku sodu	21,2 ml	38 ml
Bufor do elucji (EB)	Bufor Tris, 0,2% metylo-4-hydroksybenzoesan	21,2 ml	38 ml
Odczynnik Master Mix 1 (MMX-R1)	Octan magnezu, wodorotlenek potasu, < 0,1% azydku sodu	7,5 ml	14,5 ml
Odczynnik SARS-CoV-2 QL Master Mix 2 (SARS-CoV-2 QL MMX-R2)	Bufor trycynowy, octan potasu, < 18% dimetylosulfotlenku, glicerol, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% starterów wiodących i odwrotnych dla SARS-CoV-2 i Sarbecovirus, < 0,01% starterów wiodących i odwrotnych kontroli wewnętrznej, < 0,01% znakowanych barwnikami fluorescencyjnymi sond oligonukleotydowych, swoistych dla SARS-CoV-2, podrodzaju Sarbecovirus i kontroli wewnętrznej RNA, < 0,01% aptameru oligonukleotydowego, < 0,1% polimerazy DNA Z05D, < 0,10% enzymu AmpErase (uracylo-N-glikozylazy) (bakteryjnej), < 0,1% azydku sodu	9,7 ml	17,5 ml

Tabela 2 cobas® SARS-CoV-2 Qualitative Control Kit

cobas® SARS-CoV-2 Qualitative Control Kit Przechowywać w temperaturze 2–8°C (P/N 09446117190)		
Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw
Kontrola dodatnia SARS-CoV-2 QL (SARS-CoV-2 QL (+)C)	Bufor TRIS, < 0,05% azydku sodu, < 0,005% EDTA, 0,003% poly rA, < 0,01% niezakaźnego DNA plazmidowego (bakteryjnego) zawierającego sekwencję SARS-CoV-2, < 0,01% niezakaźnego DNA plazmidowego (bakteryjnego) zawierającego sekwencję wspólną podrodzaju Sarbecovirus	16 ml (16 × 1 ml)

Tabela 3 cobas® Buffer Negative Control Kit

cobas® Buffer Negative Control Kit Przechowywać w temperaturze 2–8°C (P/N 09051953190)		
Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw
cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)	Bufor Tris, < 0,1% azydku sodu, EDTA, 0,002% poly rA RNA (syntetycznego)	16 ml (16 × 1 ml)

Odczynniki cobas omni do przygotowywania próbek

Tabela 4 Odczynniki **cobas omni** do przygotowywania próbek*

Odczynniki	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Przechowywać w temperaturze 2–8°C (P/N 06997546190)	Szklane cząstki magnetyczne, bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesu, < 0,1% azydku sodu	480 testów	Nie dotyczy
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Przechowywać w temperaturze 2–8°C (P/N 06997511190)	Bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesu, < 0,1% azydku sodu	4 × 875 ml	Nie dotyczy
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Przechowywać w temperaturze 2–8°C (P/N 06997538190)	43% (udział wagowy) tiocyjanian guanidyny***, 5% (udział wagowo-obj.) polidokanol***, 2% (udział wagowo-obj.) ditiotreitol***, dwuwodny cytrynian sodu	4 × 875 ml	 NIEBEZPIECZEŃSTWO H302 + H332: Działa szkodliwie po połknięciu i w następstwie wdychania. H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. H411: Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. EUH032: W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy. P273: Unikać uwolnienia do środowiska. P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy/ochronę słuchu. P303 + P361 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): natychmiast zdjąć całą skażoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody. P304 + P340 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P305 + P351 + P338 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P391: Zebrać wyciek. 593-84-0 Tiocyjanian guanidyny 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diol
cobas omni Wash Reagent (WASH) Przechowywać w temperaturze 15–30°C (P/N 06997503190)	Dwuwodny cytrynian sodu, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesan	4,2 l	Nie dotyczy

* Te odczynniki nie są dołączone do zestawu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative**. Należy zapoznać się z listą wymaganych materiałów dodatkowych (Tabela 8 i Tabela 9).

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

*** Substancja niebezpieczna.

Wymagania dotyczące przechowywania odczynników

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

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

Tabela 5 Przechowywanie odczynników (umieszczonych poza systemem)

Odczynnik	Temperatura przechowywania
cobas® SARS-CoV-2 Qualitative 192T	2–8°C
cobas® SARS-CoV-2 Qualitative 480T	2–8°C
cobas® SARS-CoV-2 Qualitative Control Kit	2–8°C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2–8°C
cobas omni Lysis Reagent	2–8°C
cobas omni MGP Reagent	2–8°C
cobas omni Specimen Diluent	2–8°C
cobas omni Wash Reagent	15–30°C

Wymagania dotyczące użytkowania systemu cobas® 5800

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

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

Odczynnik	Data ważności zestawu	Trwałość zestawu po otwarciu	Liczba przebiegów pracy, do których można wykorzystać zestaw	Stabilność na pokładzie aparatu
cobas® SARS-CoV-2 Qualitative 192T	Nieprzekroczona	90 dni od pierwszego użycia	Maksymalnie 40 przebiegów	Maks. 36 dni**
cobas® SARS-CoV-2 Qualitative 480T	Nieprzekroczona	90 dni od pierwszego użycia	Maksymalnie 40 przebiegów	Maks. 36 dni**
cobas® SARS-CoV-2 Qualitative Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy*	Nie dotyczy	Maks. 36 dni**
cobas® Buffer Negative Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy*	Nie dotyczy	Maks. 36 dni**
cobas omni Lysis Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni MGP Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Specimen Diluent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Wash Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy

* Odczynniki do jednorazowego użycia.

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

Wymagania dotyczące użytkowania systemów cobas® 6800/8800

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

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

Odczynnik	Data ważności zestawu	Trwałość zestawu po otwarciu	Liczba przebiegów pracy, do których można wykorzystać zestaw	Stabilność na pokładzie urządzenia (łącznie czas w urządzeniu poza chłodziarką)
cobas® SARS-CoV-2 Qualitative 192T	Nieprzekroczona	90 dni od pierwszego użycia	Maksymalnie 40 przebiegów	Maksymalnie 40 godzin**
cobas® SARS-CoV-2 Qualitative 480T	Nieprzekroczona	90 dni od pierwszego użycia	Maksymalnie 20 przebiegów	Maksymalnie 20 godzin**
cobas® SARS-CoV-2 Qualitative Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy*	Nie dotyczy	Maksymalnie 8 godzin**
cobas® Buffer Negative Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy*	Nie dotyczy	Maksymalnie 10 godzin**
cobas omni Lysis Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni MGP Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Specimen Diluent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Wash Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy

* Odczynniki do jednorazowego użycia.

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

Materiały dodatkowe wymagane dla systemu cobas® 5800

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

Material	P/N
cobas omni Processing Plate 24	08413975001
cobas omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Końcówki CORE TIPS z filtrem, 1 ml	04639642001
Końcówki CORE TIPS z filtrem, 300 µl	07345607001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Worek na odpady stałe lub Worek na odpady stałe z wkładką	07435967001 lub 08030073001
Probówki wtórne cobas omni 13×75 (opcjonalnie)	06438776001
Zestaw zapasowych korków probówek cobas® PCR Media Tube Replacement Cap Kit	07958056190
Zestaw jednorazowego stojaka probówki z podłożem cobas® PCR Media Disposable Tube Stand Kit (opcjonalny)	07958064190
MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 7001-7050*, **	03143449001
RD5 RACK – statyw standardowy RD 0001-0050 LR*, **	11902997001
16-pozycyjny nośnik probówek*	09224319001
Nośnik statywów 5-pozycyjnych*	09224475001

* Aby uzyskać szczegółową listę zamawiania statywów na próbki, należy skontaktować się z przedstawicielem firmy Roche.

** Statywy MPA 16 mm lub 16-pozycyjne nośniki probówek to preferowane statywy do stosowania z próbkami pobranymi do probówek z podłożem **cobas®** PCR Media. W przypadku stosowania statywów RD5 należy dopilnować napełnienia probówek próbkowych objętością nie mniejszą niż minimalna zalecana objętość wejściowa próbki. Probówki w statywie RD5 znajdują się wyżej z powodu gumowej uszczelki na dole pozycji każdej probówki. W związku z tym przy stosowaniu statywów RD5 istnieje możliwość, że system zaakceptuje probówki zawierające mniej niż wymagana minimalna objętość wejściowa próbki, co później w trakcie przebiegu spowoduje błędy pipetowania.

Materiały dodatkowe wymagane dla systemów cobas® 6800/8800

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

Material	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Worek na odpady stałe i pojemnik na odpady stałe lub Worek na odpady stałe z wkładką i szuflada na zestawy	07435967001 i 07094361001 lub 08030073001 i 08387281001
Probówki wtórne cobas omni 13×75 (opcjonalnie)	06438776001
Zestaw zapasowych korków probówek cobas® PCR Media Tube Replacement Cap Kit	07958056190
Zestaw jednorazowego stojaka probówki z podłożem cobas® PCR Media Disposable Tube Stand Kit (opcjonalny)	07958064190
MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 7001-7050*,**	03143449001
RD5 RACK – statyw standardowy RD 0001-0050 LR*,**	11902997001

* Statywy MPA 16 mm i RD5 są wymagane do używania testu **cobas®** SARS-CoV-2 Qualitative. szczegółową listę zamówień na statywy próbkowe, statywy na niedrożne końcówki i tace na statywy akceptowane przez urządzenia można uzyskać po skontaktowaniu się z przedstawicielem serwisu Roche.

** MPA 16 mm to preferowany statyw do stosowania z próbkami pobranymi do probówek **cobas®** PCR Media. W przypadku stosowania statywów RD5 należy dopilnować napełnienia probówek próbkowych objętością nie mniejszą niż minimalna zalecana objętość wejściowa próbki. Probówki w statywie RD5 znajdują się wyżej z powodu gumowej uszczelki na dole pozycji każdej probówki. W związku z tym przy stosowaniu statywów RD5 istnieje możliwość, że system zaakceptuje probówki zawierające mniej niż wymagana minimalna objętość wejściowa próbki, co później w trakcie przebiegu spowoduje błędy pipetowania.

Alternatywne zestawy do pobierania próbek wymazów do użytku z systemami cobas® 5800/6800/8800

Tabela 10 Alternatywne zestawy pobierania próbek wymazu używane z testem cobas® SARS-CoV-2 Qualitative

Zestaw do pobierania	P/N
cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit	07958030190
cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit	07958021190
Zestaw 100 probówek z podłożem cobas® PCR Media	06466281190
Zestaw wymazówek cobas® Uni Swab 100 Kit	09205098190

Wymagane urządzenia i oprogramowanie

Konieczne jest zainstalowanie oprogramowania cobas® 5800, oprogramowania systemów cobas® 6800/8800 oraz pakietu analitycznego cobas® SARS-CoV-2 Qualitative dla systemów cobas® 5800/6800/8800.

W przypadku systemu cobas® 5800 i systemów cobas® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 2.0 lub nowszej z systemem dostarczane są oprogramowanie x800 Data Manager oraz komputer (lub serwer).

W przypadku systemów cobas® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 1.4 z systemem dostarczany jest serwer Instrument Gateway (IG).

Tab. 11 Urządzenia

Wyposażenie	P/N
System cobas® 5800	08707464001
System cobas® 6800 (na ruchomej platformie)	05524245001 lub 06379672001
System cobas® 6800 (na stałej platformie)	05524245001, 06379664001 lub 09575154001
System cobas® 8800	05412722001 i 09575146001
Moduł próbkowy (tylko dla systemów cobas® 6800/8800)	06301037001 i 09936882001

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z asystentem użytkownika i/lub podręcznikiem użytkownika systemu cobas® 5800 lub systemów cobas® 6800/8800.

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

Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania

Ostrzeżenia i środki ostrożności

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

- Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.
- Wyniki dodatnie wskazują na obecność RNA wirusa SARS-CoV-2.
- Ze wszystkimi próbkami pacjentów należy obchodzić się tak jak z materiałem zakaźnym, stosując procedury dobrej praktyki laboratoryjnej, takie jak określone w dokumentach Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories oraz CLSI Document M29-A4.^{1,2} Procedurę tę powinien wykonywać wyłącznie personel przeszkolony w obchodzeniu się z materiałem zakaźnym, użytkowaniu testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** i systemu **cobas® 5800/6800/8800**.
- Wszystkie materiały pochodzenia ludzkiego należy uważać za potencjalnie zakaźne i postępować z nimi z zastosowaniem ogólnych środków ostrożności. W przypadku rozlania materiału należy natychmiast odkazić świeżo przygotowanym 0,5% roztworem podchlorynu sodu w destylowanej lub dejonizowanej wodzie (wybielacz rozcieńczony w stosunku 1:10) lub postępować zgodnie z procedurami przyjętymi w danym ośrodku.
- Zaleca się używanie jałowych jednorazowych pipet oraz końcówek pipet wolnych od nukleazy. W celu zagwarantowania optymalnego działania testu należy stosować wyłącznie dostarczone lub wymienione potrzebne materiały zużywalne.
- Karty charakterystyki są dostępne na żądanie w lokalnym przedstawicielstwie firmy Roche.
- Ścisłe przestrzegać podanych procedur i wytycznych w celu zapewnienia prawidłowego wykonania testu. Wszelkie odchylenia od procedur i wytycznych mogą mieć wpływ na optymalną skuteczność testu.
- Jeżeli w trakcie pracy z próbkami i ich przygotowywania nie stosuje się odpowiedniej kontroli kontaminacji pomiędzy próbkami, może dojść do uzyskania fałszywie dodatnich wyników.
- **W przypadku rozcieńczania i testowania spulowanego niektóre próbki dodatnie mogą nie zostać wykryte.** W momencie dodania do puli innych próbek próbki dodatniej następuje obniżenie stężenia RNA wirusa SARS-CoV-2 RNA, a ta redukcja jest odwrotnie proporcjonalna do rozmiaru puli. Jeżeli przykładowo w puli 6 próbek znajduje się tylko jedna dodatnia próbka, stężenie oryginalnej próbki musiałoby być sześciokrotnie wyższe od granicy wykrywalności, aby stężenie w obrębie puli wykaczało poza granicę wykrywalności.
- Należy poinformować lokalny właściwy organ o wszelkich poważnych zdarzeniach, które mogą wystąpić podczas stosowania tego testu.
- Uzyskanie wiarygodnych wyników z próbek śliny zależy od właściwego pobrania, przetwarzania i przechowywania próbki. Jeżeli w próbce śliny widoczne są cząstki lub doszło do jej odbarwienia, próbki nie należy dalej przetwarzać. Zamiast tego należy poprosić pacjenta o oddanie nowej próbki. Cząstki jedzenia i podwyższony poziom mucyny mogą powodować niepowodzenia przetwarzania próbki śliny.

Użytkowanie odczynników

- Aby uniknąć zanieczyszczenia pomiędzy próbkami lub kontrolami, ze wszystkimi odczynnikami, kontrolami i próbkami należy postępować zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej.
- Przed użyciem należy ocenić wzrokowo każdą kasę odczynnikową, rozcieńczalnik, odczynnik do lizy i odczynnik płuczający, aby upewnić się, że nie ma jakiegokolwiek wycieku. W razie wystąpienia wycieku nie wolno używać tego materiału do badania.
- **cobas omni** Lysis Reagent zawiera izotiocyanian guanidyny, potencjalnie niebezpieczną substancję chemiczną. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia.
- Zestawy **cobas®** SARS-CoV-2 Qualitative, **cobas®** SARS-CoV-2 Qualitative Control Kit, **cobas®** Buffer Negative Control Kit, odczynnik **cobas omni** MGP Reagent oraz rozcieńczalnik **cobas omni** Specimen Diluent zawierają azydek sodu jako substancję konserwującą. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia. Jeżeli dojdzie do rozlania wymienionych odczynników, przed wytarciem należy rozcieńczyć je wodą.
- Nie wolno dopuszczać do kontaktu **cobas omni** Lysis Reagent, zawierającego tiocyjanian guanidyny, z roztworem podchlorynu sodu (wybielaczem). Połączenie to może skutkować wytworzeniem silnie trującego gazu.
- Wszystkie materiały, które przypadkowo weszły w kontakt z próbkami i odczynnikami, należy utylizować zgodnie z przepisami krajowymi i lokalnymi.

Dobra praktyka laboratoryjna

- Nie należy pipetować za pomocą ust.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić tytoniu w obszarach roboczych.
- Podczas pracy z próbkami i odczynnikami należy nosić rękawiczki laboratoryjne, fartuch oraz osłonę oczu. W celu uniknięcia zanieczyszczenia należy zmieniać rękawiczki pomiędzy pracą z próbkami a następnie przeprowadzaniem testów **cobas®** SARS-CoV-2 Qualitative, pracą z zestawem **cobas®** SARS-CoV-2 Qualitative Control Kit, buforem z kontrolą ujemną **cobas®** Buffer Negative Control Kit oraz odczynników **cobas omni**. Podczas pracy z próbkami i kontrolami należy unikać zanieczyszczenia rękawiczek.
- Po zakończeniu pracy z próbkami i zestawami odczynnikowymi oraz po zdjęciu rękawiczek należy dokładnie umyć ręce.
- Dokładnie oczyścić i odkazić wszystkie laboratoryjne powierzchnie robocze świeżo przygotowanym roztworem 0,5% podchlorynu sodu w wodzie destylowanej lub dejonizowanej (rozcieńczyć domowy wybielacz w stosunku 1:10). Następnie przetrzeć powierzchnię 70% etanolem.
- Jeśli dojdzie do rozlania płynu na powierzchnię aparatu **cobas®** 5800 lub **cobas®** 6800/8800, należy postępować zgodnie z instrukcjami zamieszczonymi w podręczniku użytkownika i/lub instrukcji obsługi systemów **cobas®** w celu prawidłowego wyczyszczenia i odkażenia powierzchni aparatu.

Pobieranie, transport i przechowywanie próbek

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

Pobieranie próbek – próbki typu wymaz

Sprawdź, czy stosowane jest odpowiednie narzędzie do pobierania zgodnie z poniższą tabelą:

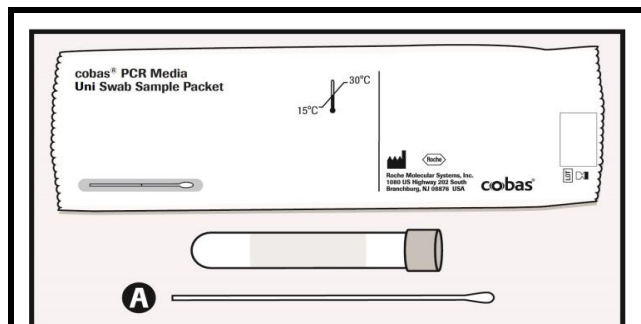
Tabela 12 Przegląd narzędzi do pobierania oraz typów próbek

Narzędzie do pobierania	Rodzaj próbki		
	Jama nosowo-gardłowa	Jama ustno-gardłowa	Jama nosowa
Copan Universal Transport Media (UTM-RT®)	✓	✓	✓
BD™ Universal Viral Transport (UVT)	✓	✓	✓
cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit			✓
cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit			✓
cobas® PCR Media Kit (oraz zestaw 100 probówek z podłożem PCR Media Kit)			✓
0,9% roztwór soli fizjologicznej			✓

- Probki z nosa, jamy nosowo-gardłowej lub jamy ustno-gardłowej należy pobrać zgodnie ze standardową techniką pobierania z użyciem wymazówki flokowanej lub z końcówką z wacikiem poliestrowym i niezwłocznie umieścić w 3 ml Copan Universal Transport Medium (UTM-RT) lub BD™ Universal Viral Transport (UVT).
- Probki z nosa należy pobrać zgodnie ze standardową techniką pobierania z użyciem wymazówki flokowanej lub z końcówką poliestrową i niezwłocznie umieścić w probówce z podłożem **cobas®** PCR Media z zestawu **cobas®** PCR Media Kit (P/N 06466281190).
- Probki z nosa należy pobrać za pomocą zestawu do pobierania próbek **cobas®** PCR Media Uni Swab Sample Kit (P/N 07958030190) lub **cobas®** PCR Media Dual Swab Sample Kit (P/N 07958021190) zgodnie z instrukcją poniżej.
- Więcej informacji dotyczących zagrożeń znajduje się w instrukcji użytkowania przyrządów do pobierania próbek.

Pobieranie próbek z nosa (nozdrza przednie) – pobranie przez pracownika służby zdrowia lub samodzielnie na miejscu

OSTRZEŻENIE: NIE ZWILŻAĆ WSTĘPNIE WYMAZÓWKI W PODŁOŻU
cobas® PCR MEDIA PRZED POBRANIEM!

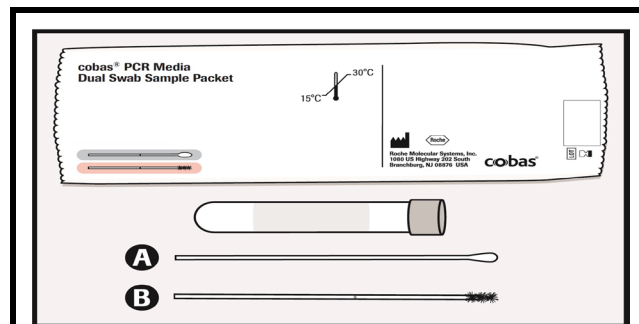


Zestaw **cobas®** PCR Media Uni Swab Sample Kit zawiera:

Probówka z podłożem **cobas®** PCR Media

Wymazówka z tkaniny: A

LUB

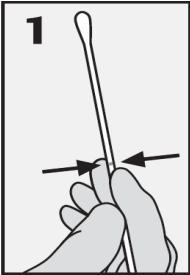
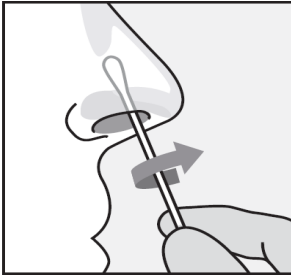
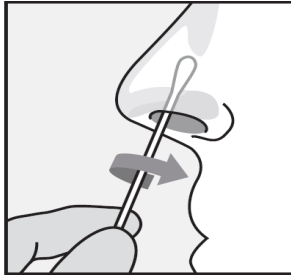
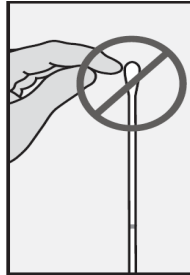


Zestaw **cobas®** PCR Media Dual Swab Sample Kit zawiera:

Probówka z podłożem **cobas®** PCR Media

Wymazówka z tkaniny: A

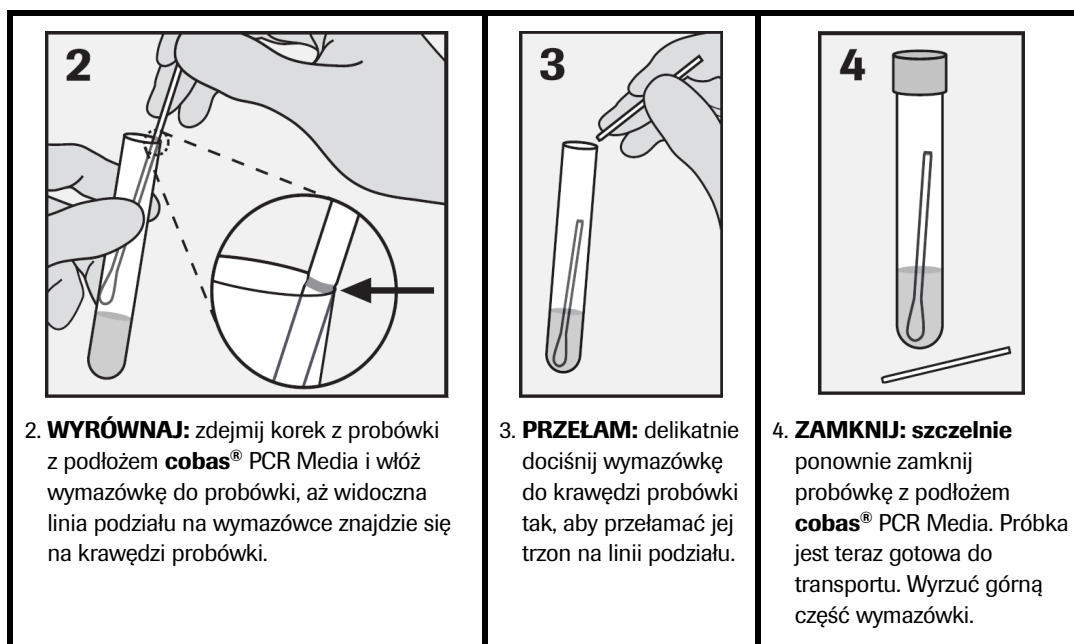
Wymazówka flokowana: B

NIE ZWILŻAĆ WSTĘPNIE WYMAZÓWKI W PODŁOŻU cobas® PCR MEDIA PRZED POBRANIEM!

1. **POBIERZ:** chwyć dłonią wymazówkę z wacikiem tkaninowym (wymazówka A) lub flokowaną (wymazówka B) powyżej linii podziału. Włóż wymazówkę na około 1–2 cm do jednego z nozdrzy. Obracaj wymazówkę pocierając o śluzówkę nosa przez około 3 sekundy i wyjmij. Powtórz tę czynność w drugim nozdrzu, używając tej samej wymazówki.

Uważaj, aby wymazówka nie dotknęła żadnej powierzchni przed jej umieszczeniem w probówce do pobrań.



- Próbkę z nosa należy pobierać zgodnie ze standardową techniką pobierania z użyciem wymazówki flokowanej lub z końcówką z wacikiem poliestrowym i niezwłocznie umieścić w 3 ml 0,9% roztworze fizjologicznym soli.

Pobieranie próbek – ślina

- Na 60 minut przed pobraniem próbki śliny NIE wolno nic jeść ani myć zębów.
- Pobrać ślinę zebraną na dnie jamy ustnej, pozwalając jej się tam zgromadzić bez połykania. Nie kaszleć.
- Wypluć pasywnie zgromadzoną ślinę do jałowego pojemnika do pobierania.
- Powtórzyć procedurę do momentu nagromadzenia w pojemniku co najmniej 1 ml, ale nie więcej niż 5 ml śliny.
- Założyć zakrętkę na pojemnik do pobierania śliny.
- Zwrócić pojemnik do pobierania śliny.

Pierwotną ślinę należy upłynnić w ciągu 9 dni od pobrania (48 godzin w temperaturze 2–25°C, a następnie 7 dni w temperaturze poniżej –18°C) poprzez oszacowanie objętości śliny i dodanie do pojemnika do pobierania śliny dwukrotnie większej ilości 0,9% roztworu soli fizjologicznej. Po dodaniu soli fizjologicznej a przed dalszym przechowywaniem lub przetworzeniem próbkę należy wymieszać (np. wortexując przez 10–20 sekund).

Transport i przechowywanie – próbki typu wymaz

- Transport pobranych próbek musi odbywać się zgodnie ze wszystkimi stosownymi przepisami dotyczącymi transportu czynników zakaźnych.
- Probki pobrane do próbki UTM-RT®,
 - Po pobraniu próbki można przechowywać do 48 godzin w temperaturze 2–25°C, a następnie do 3 dni w temperaturze 2–8°C oraz do 30 dni w temperaturze ≤ –70°C.
- Probki pobrane do próbki cobas® PCR Media,
 - Po pobraniu próbki można przechowywać do 24 godzin w temperaturze 2–25°C, a następnie do 3 dni w temperaturze 2–8°C oraz do 30 dni w temperaturze ≤ –70°C.
- Probki pobrane do 0,9% roztworu soli fizjologicznej
 - Po pobraniu próbki można przechowywać do 48 godzin w temperaturze 2–25°C, a następnie do 3 dni w temperaturze 2–8°C oraz do 30 dni w temperaturze ≤ –70°C.
- Probki zachowują stabilność przez maksymalnie dwa cykle zamrażania/rozmarzania w przypadku zamrożenia w temperaturze ≤ –70°C.

Transport i przechowywanie – ślina

- Transport pobranych próbek musi odbywać się zgodnie ze wszystkimi stosownymi przepisami dotyczącymi transportu czynników zakaźnych.
- Probki pierwotnej śliny pobrane do jałowego polipropylenowego pojemnika do pobierania.
 - Po pobraniu próbki można przechowywać do 48 godzin w temperaturze 2–25°C, a następnie do 7 dni w temperaturze ≤ –18°C.
- Upłynniona ślina,
 - Po dodaniu 2 części 0,9% roztworu soli fizjologicznej i intensywnym wymieszaniu upłynnioną próbkę śliny można przechowywać do 48 godzin w temperaturze 2–25°C, a następnie do 7 dni w temperaturze 2–8°C.

Instrukcja użytkowania

Uwagi proceduralne

- Nie należy używać **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative**, **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative Control Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit** i odczynników **cobas omni** po upływie ich daty ważności.
- Nie wykorzystywać ponownie materiałów zużywalnych. Są one przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku.
- Upewnić się, że etykiety z kodami kreskowymi na probówkach są widoczne przez otwory z boku statywów próbkowych. Specyfikacje kodów kreskowych oraz dodatkowe informacje dotyczące ładowania probówek próbkowych zawiera podręcznik użytkownika systemu **cobas® 5800** lub systemów **cobas® 6800/8800**.
- Instrukcje dotyczące prawidłowej konserwacji urządzeń zawiera podręcznik użytkownika i/lub instrukcja obsługi systemu **cobas® 5800** lub systemów **cobas® 6800/8800**.

Wykonywanie testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** przy użyciu próbek typu wymaz

Przy testowaniu próbek wymazów test **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** można wykonać przy minimalnej wymaganej objętości próbki wynoszącej 0,6 ml w probówce wtórnej **cobas omni** dla materiałów pobranych na podłoże Universal Transport Medium (UTM-RT) firmy Copan, BD™ Universal Viral Transport (UVT), **cobas® PCR Media** lub 0,9% roztwór soli fizjologicznej. Probki pobrane z użyciem zestawu do pobierania próbek z jedną lub dwiema wymazówkami i podłożem **cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit** lub **cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit** mogą być analizowane z probówek pierwotnych do pobierania przy minimalnej wymaganej objętości próbki wynoszącej 1,0 ml.

Probki pobrane do podłoża **cobas® PCR Media**, do 0,9% roztworu soli fizjologicznej, UTM-RT lub UVT

Materiał pobrany do probówek kompatybilnych z systemami **cobas® 5800** i **cobas® 6800/8800** można ładować bezpośrednio do systemów **cobas® 5800** i **cobas® 6800/8800**. Probki pobrane na podłoże Universal Transport Medium (UTM-RT) firmy Copan, BD™ Universal Viral Transport (UVT), **cobas® PCR Media** lub probówki z 0,9% roztworem soli fizjologicznej, które nie są kompatybilne z systemami **cobas® 5800** i **cobas® 6800/8800** muszą zostać przeniesione do probówki wtórnej przed przetworzeniem w systemie **cobas® 5800** i **cobas® 6800/8800**. Preferowane jest użycie probówki wtórnej **cobas omni**. Probki należy przetwarzać z użyciem wyboru typu próbki w interfejsie użytkownika, zgodnie z informacjami, które zawiera Tabela 13. Dostępne są dodatkowe probówki do wykonywania testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative**. Aby uzyskać szczegółowe instrukcje wykonywania testu oraz listę zamawiania probówek pierwotnych i wtórnych kompatybilnych z analizatorami, należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Roche.

Zawsze zachowaj ostrożność podczas przenoszenia próbek z pierwotnej probówki do pobierania do probówki wtórnej.

Do postępowania z próbkami należy używać pipet z końcówkami z barierą aerozolową lub dodatnim wyparciem.

Do każdej próbki zawsze używaj nowej końcówki pipetującej.

Przed przeniesieniem do probówki wtórnej *cobas omni* upewnij się, że próbki osiągnęły temperaturę pokojową.

Wykonaj czynności opisane poniżej w celu przeniesienia próbki z pierwotnej probówki do pobierania do probówki wtórnej **cobas omni**:

- Odkręć korek probówki pierwotnej z badaną próbką.
- Podnieś korek z dołączoną wymazówką, aby umożliwić umieszczenie pipety w probówce z próbką.
- Przenieś 0,6 ml materiału do przygotowanej, oznaczonej kodem kreskowym probówki wtórnej.
- Przenieś probówkę wtórną na statyw. Zamknij korek probówki pierwotnej z badaną próbką.

Próbki pobrane z użyciem zestawów do pobierania próbek z jedną lub dwiema wymazówkami cobas® PCR Media Uni lub Dual Swab Sample Kit lub cobas® PCR Media z zestawem cobas® Uni Swab 100 Kit

Próbki pobrane z użyciem zestawów do pobierania próbek z jedną lub dwiema wymazówkami i podłożem **cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit** lub **cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit** lub **cobas® PCR Media** wraz z zestawem **cobas® Uni Swab 100 Kit** muszą zostać otwarte i mogą zostać załadowane bezpośrednio do statywów w celu przetwarzania w systemach **cobas® 5800/6800/8800**. Transfer do próbki wtórnej nie jest wymagany. Probówki z podłożem **cobas® PCR Media** mieszczą się w jasnozielonym statywie MPA RACK 16 MM LIGHT GREEN 7001-7050 (P/N 03143449001) lub 16-pozycyjnym nośniku probówek (P/N 09224319001) i mogą być przetwarzane z wymazówką pozostawioną w probówce. Próbki pobrane za pomocą zestawu do pobierania próbek z jedną lub dwiema wymazówkami i podłożem **cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit** lub **cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit** lub **cobas® PCR Media** wraz z zestawem **cobas® Uni Swab 100 Kit** należy przetwarzać z użyciem wyboru typu próbki „cobas® PCR Media swab” w interfejsie użytkownika testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative**, zgodnie z informacjami, które zawiera Tabela 13.

Właściwie pobrana próbka wymazu powinna zawierać jedną wymazówkę z przełamanym na linii pobrania patyczkiem. Patyczki wymazówek przełamane ponad linię spowodują nieznaczne wydłużenie wymazówki, co z kolei może spowodować, że aby zmieściły się w probówce z pożywką **cobas® PCR Media**, muszą zostać zgięte. Może to spowodować zablokowanie systemu pipetowania, co może prowadzić do utraty próbki, wyników testu i/lub uszkodzenia mechanicznego urządzenia. Jeśli wymazówka ma patyczek przełamany w niewłaściwy sposób, należy wyjąć wymazówkę przed przystąpieniem do przetwarzania w systemie **cobas® 5800/6800/8800**. Zachować ostrożność przy utylizacji wymazówek z próbkami. Unikać spryskiwania lub dotykania wymazówkami innych powierzchni przy utylizacji, aby zapobiec zanieczyszczeniu.

Oczekujące na przetwarzanie probówki pierwotne z próbkami wymazów **cobas® PCR Media** niezawierające wymazówek lub z dwoma wymazówkami nie zostały pobrane zgodnie z instrukcją znajdującą się we właściwym zestawie i nie mogą zostać przetestowane. Jeśli konieczne jest wykonanie testów próbki zawierającej dwie wymazówki w probówce pierwotnej **cobas® PCR Media**, przenieś 0,6 ml materiału do przygotowanej, oznaczonej kodem kreskowym probówki wtórnej.

Czasami oczekujące na przetwarzanie próbki wymazów zawierają zbyt dużą ilość śluzu, który może być powodem błędu pipetowania (np. skrzep lub inny rodzaj zatkania) w systemach **cobas® 5800/6800/8800**. Przed ponownym przetestowaniem próbek z widocznymi podczas procesu wstępnego przetwarzania skrzepami należy wyjąć i wyrzucić wymazówkę, a następnie ponownie zamknąć korkiem i mieszać na mieszadle wibracyjnym przez 30 sekund, aby rozprościć nadmiar śluzu.

Próbki wymazów mogą dwukrotnie zostać poddane testowaniu w systemach **cobas® 5800/6800/8800**, gdy wymazówka znajduje się w probówce do pobierania. Jeśli konieczny jest dodatkowy proces oznaczania lub pierwsze oznaczenie nie powiodło się z powodu błędu pipetowania (np. skrzep lub innego rodzaju zanieczyszczenie), należy wyjąć wymazówkę, a pozostały płyn musi mieć co najmniej 1,0 ml objętości.

Wykonywanie testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative przy użyciu próbek śliny

Przed przetworzeniem należy upłynnić próbkę pierwotnej śliny pobrane do jałowego polipropylenowego pojemnika. Aby upłynnić próbkę pierwotnej śliny, należy oszacować jej objętość i dodać dwa razy większą objętość 0,9% roztworu soli fizjologicznej. Następnie należy zamknąć pojemnik do pobierania i wymieszać roztwór (np. worteksując przez 10 do 20 sekund) przed przeniesieniem do próbki wtórnej i przetworzeniem w analizatorze cobas® 5800/6800/8800. Preferowane jest użycie próbki wtórnej **cobas omni**. Próbki upłynnionej śliny przeniesione do próbek wtórnych należy przetwarzać z użyciem wyboru typu próbki „Saliva” w interfejsie użytkownika testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative.

Przy przenoszeniu próbek z pierwotnego pojemnika do pobierania do próbki wtórnej należy zawsze zachować ostrożność.

Do postępowania z próbkami należy używać pipet z końcówkami z barierą aerozolową lub dodatnim wyparciem.

Do każdej próbki zawsze używaj nowej końcówki pipetującej.

Przed upłynnieniem przeniesieniem do próbki wtórnej należy się upewnić, że próbki osiągnęły temperaturę pokojową.

W celu przeniesienia próbek śliny z pierwotnego pojemnika do pobierania do próbki wtórnej należy wykonać poniższe czynności:

- Odkręć korek pojemnika pierwotnego z próbką i zdejmij go.
- Oszacuj objętość pierwotnej śliny i dodaj dwa razy większą objętość 0,9% roztworu soli fizjologicznej.
- Ponownie zamknij pojemnik i wymieszaj (np. worteksując przez 10 do 20 sekund) do uzyskania jednorodnego roztworu.
- Odkręć korek pojemnika pierwotnego z próbką i zdejmij go.
- Przenieś 1,2 ml materiału do przygotowanej, oznaczonej kodem kreskowym próbki wtórnej.
- Zamknij pojemnik z pierwotną próbką, zakręcając korek.
- Przenieś próbkę wtórną na statyw.

Tabela 13 Wybór typu próbki w interfejsie użytkownika testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative

Typ zestawu do pobierania/podłoża	Minimalna objętość (ml) Próbki do przetwarzania	Przetwarzać jako typ próbki
Copan Universal Transport Medium BD™ Universal Viral Transport 0,9% roztwór soli fizjologicznej cobas® PCR Media Kit	0,6 ml Próbka wtórna cobas omni	VTM
cobas® PCR Media Uni lub Dual Swab Sample Kit Zestaw cobas® PCR Media Kit z zestawem cobas® Uni Swab 100 Kit	1,0 ml Próbka pierwotna	cobas® PCR Media swab
Upłynniona ślina w jałowym polipropylenowym pojemniku	1,2 ml Próbka wtórna cobas omni	Saliva

Pulowanie próbek w testach na wirusa SARS-CoV-2

Za pomocą testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative można badać pulę zawierającą maksymalnie 6 próbek. Wdrożony przez laboratorium rozmiar puli powinien bazować na wymaganym zwiększeniu skuteczności, odsetku wyników dodatnich wirusa SARS-CoV-2 w badanej populacji oraz potencjalnych zagrożeniach związanych z testowaniem spulowanym. Nie zwalidowano łączenia wielu typów próbek w obrębie puli.

Kiedy dostępność zasobów jest wystarczająca do spełnienia zapotrzebowania na liczbę testów, zaleca się, aby laboratoria rozważyły, czy zagrożenia związane z obniżoną czułością testu w przypadku korzystania z testów spulowanych przeważają nad korzyściami związanymi z oszczędnością zasobów.

- Należy stosować proces, który gwarantuje identyfikowalność indywidualnych identyfikatorów próbek i puli.
- Aby zmniejszyć ryzyko zanieczyszczenia systemów cobas® 5800/6800/8800, nie wolno przenosić próbek do probówek wtórnych, kiedy próbki są umieszczone w statywach 5-pozycyjnych firmy Roche (RD5 i/lub MPA i/lub 16-pozycyjny nośnik probówek).
- Należy dopilnować stosowania odpowiednich technik postępowania z próbką, aby ograniczyć ryzyko kontaminacji krzyżowej pomiędzy pulami i oryginalnymi próbkami pacjentów.

Uwaga: Pulowanie próbek nie ma zastosowania w przypadku śliny.

Metody pulowania

1. Zidentyfikować unikatowo oznaczoną probówkę wtórną przeznaczoną na pulowanie.
2. Skojarzyć pulowane próbki z identyfikatorem probówki na pulę, używając arkusza roboczego pulowania lub zwalidowanego systemu śledzenia próbek.
3. Firma Roche sugeruje korzystanie podczas obsługi próbek (tj. przenoszenia próbki do probówki drugorzędowej) z komór laminarnych (BSC, Biological Safety Cabinet) lub innych zatwierdzonych środków bezpieczeństwa.
4. W przypadku pulowania ręcznego zaleca się pracować jednocześnie wyłącznie z próbkami przeznaczonymi do jednej puli.
5. Należy się upewnić, że każda próbka ma wystarczającą objętość do utworzenia puli oraz wszelkich możliwych badań rozstrzygających (rozpulowanie puli), które mogą być wymagane. Przykład: dla puli zawierającej 6 próbek wymagana jest minimalna objętość 100 µl (na pulę) plus 600 µl (do badań rozstrzygania), co daje sumaryczną minimalną objętość próbki 700 µl przed rozpoczęciem pulowania (Tabela 14).

Tabela 14 Minimalne objętości próbek do pulowania

Wielkość puli	Objętość wymagana dla puli (ml)	Objętość wymagana do badań rozstrzygania (ml)	Minimalna objętość wymagana przed pulowaniem (ml)
6	0,100	0,600	0,700
5	0,120	0,600	0,720
4	0,150	0,600	0,750
3	0,200	0,600	0,800
2	0,300	0,600	0,900

6. Aby przygotować pulę, należy ostrożnie pipetować każdą indywidualną próbkę skojarzoną z daną pulą do odpowiedniej probówki wtórnej, używając skalibrowanego mikropipetora ze świeżą końcówką pipety dla każdej próbki.
7. Po dodaniu wszystkich próbek do probówki drugorzędowej należy zapewnić zupełne ich wymieszanie (poprzez pobieranie i dozowanie pipetą). Należy uważać, aby podczas mieszania nie doszło do utworzenia pęcherzyków, piany czy aerozolu.
8. W przypadku pulowania ręcznego zaleca się wzrokowo porównać objętość spulowanych próbek w probówce drugorzędowej z probówką drugorzędową zawierającą docelową objętość puli. Jeżeli w probówce pulowania znajduje się mniejsza lub większa ilość niż standardowa objętość puli, należy odrzucić ręcznie przygotowaną pulę i przygotować ją ponownie.
9. Spulowane próbki należy przetworzyć zgodnie z opisem przedstawionym na Ryc. 1 i Ryc. 2.

Raportowanie wyników puli oraz badania kontrolne

Interpretacja wyników puli jest taka sama, jak w przypadku wyników indywidualnych, co opisano w sekcji **Interpretacja wyników**.

- Jeżeli wynik puli jest ujemny, wówczas każda składowa próbka zostaje zgłoszona jako ujemna. Raport wyników powinien zawierać komentarz, że do badania wykorzystano technikę pulowania. Dodatkowe informacje dotyczące obniżonej czułości testowania spulowanego opisano w sekcji **Ostrzeżenia i środki ostrożności**.
- Jeżeli wynik puli jest dodatni lub prawdopodobnie dodatni, wówczas konieczne jest ponowne indywidualne zbadanie wszystkich próbek składowych. Do zagwarantowania badania odpowiednich próbek indywidualnych należy użyć używanego w laboratorium systemu śledzenia. Wyniki indywidualnych oznaczeń zastępują wynik puli.

Wykonywanie testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative w systemie cobas® 5800

Procedurę wykonywania testu opisano szczegółowo w Podręczniku użytkownika i/lub instrukcji obsługi systemu cobas® 5800. Na Ryc. 1 podsumowano tę procedurę.

Ryc. 1 Procedura testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative w systemie cobas® 5800

1	Zaloguj się do systemu
2	Wczytaj próbki do systemu: • Wczytaj statywy z próbkami do systemu • System przeprowadzi automatyczne przygotowanie • Złóż testy
3	Po poproszeniu przez system uzupełnij odczynniki i materiały zużywalne przez system: • Wczytaj swoistą dla testu kasetę (kasety) na odczynniki • Wczytaj mini statywy z kontrolami • Wczytaj końcówki do przetwarzania • Wczytaj końcówki do elucji • Wczytaj płytki do przetwarzania • Wczytaj płytki amplifikacyjne • Wczytaj kasetę MGP • Uzupełnij rozcieńczalnik próbki • Uzupełnij odczynnik lizujący • Uzupełnij odczynnik płuczący
4	Rozpocznij przebieg przez wybranie przycisku „Start processing” (Start przetwarzania) w interfejsie użytkownika; wszystkie kolejne przebiegi rozpoczną się automatycznie, o ile nie zostaną ręcznie odłożone
5	Sprawdź i wyeksportuj wyniki
6	W razie potrzeby wyjmij i zamknij próbki z próbkami spełniające wymogi dotyczące minimalnej objętości do użycia w przyszłości Oczyść aparat: • Wyjmij puste mini statywy z kontrolami • Wyładuj pustą swoistą dla testu kasetę (kasety) na odczynniki • Opróżnij szufladę na płytki amplifikacyjne • Usuń odpady płynne • Usuń odpady stałe

Wykonywanie testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative w systemach cobas® 6800/8800

Procedurę wykonywania testu opisano szczegółowo w Podręczniku użytkownika i/lub instrukcji obsługi systemów cobas® 6800/8800. Na Ryc. 2 podsumowano tę procedurę.

Ryc. 2 Procedura testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative w systemach cobas® 6800/8800

1	Zaloguj się do systemu Naciśnij przycisk Start, aby przygotować system Złóż testy
2	Po poproszeniu przez system uzupełnij odczynniki i materiały zużywalne przez system: • Załaduj swoistą dla testu kasetę na odczynniki • Załaduj kasety z kontrolami • Załaduj końcówki pipetujące • Załaduj płytki do przetwarzania • Załaduj odczynnik MGP Reagent • Załaduj płytki amplifikacyjne • Uzupełnij rozcieńczalnik próbki • Uzupełnij odczynnik lizujący • Uzupełnij odczynnik płuczący
3	Załaduj próbki do systemu: • Załaduj statywy na próbki i statywy na niedrożne końcówki do modułu podajnika próbek • Potwierdź, że próbki zostały przyjęte do modułu transferu
4	Rozpocznij przebieg przez wybranie przycisku Start manualnie w interfejsie użytkownika lub ustaw automatyczne rozpoczęcie przebiegu po 120 minutach bądź po zapełnieniu partii
5	Sprawdź i wyeksportuj wyniki
6	W razie potrzeby wyjmij i zamknij probówki z próbkami spełniające wymogi dotyczące minimalnej objętości do użycia w przyszłości Oczyść aparat: • Wyjmij puste kasety z kontrolami • Opróżnij szufladę na płytki amplifikacyjne • Usuń odpady płynne • Usuń odpady stałe

Wyniki

System **cobas**® 5800/6800/8800 automatycznie wykrywa wirusa SARS-CoV-2 dla każdej poddanej indywidualnej obróbce próbki i kontroli, wyświetlając poszczególne wyniki targetu dla próbek oraz ważność testu i wyniki ogólne dla kontroli.

Kontrola jakości i ważność wyników w systemie **cobas**® 5800 oraz w systemach **cobas**® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 2.0 lub nowszej

- Z każdą nową serią zestawu i co 72 godziny przetwarzany jest jeden bufor kontroli ujemnej **cobas**® Buffer Negative Control [BUF (-) C] i jedna kontrola dodatnia [SARS-CoV-2 QL (+) C]. Wykonywanie kontroli dodatnich i/lub ujemnych można zaplanować częściej, w zależności od procedury laboratorium i/lub miejscowych przepisów.
- Sprawdzić w oprogramowaniu i/lub raporcie obecność flag i powiązane z nimi wyniki, aby się upewnić co do ważności wyników (patrz „Lista kodów flag” w Asystencie użytkownika oprogramowania x800 Data Manager).

Wyniki są unieważniane automatycznie przez aparat na podstawie uzyskania niepomysłnych wyników kontroli ujemnej lub kontroli dodatniej.

UWAGA: system **cobas**® 5800 oraz systemy **cobas**® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 2.0 lub nowszej są dostarczane ze standardowymi ustawieniami oznaczania zestawu kontroli (dodatnich i ujemnych) z każdym cyklem pracy, ale można je skonfigurować do rzadszego wykonywania kontroli, aż do maksymalnego odstępu co 72 godziny, w zależności od procedur laboratorium i/lub miejscowych przepisów. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy skontaktować się z inżynierem serwisu firmy Roche i/lub pomocą techniczną firmy Roche.

Wyniki kontroli w systemie **cobas**® 5800 oraz w systemach **cobas**® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 2.0 lub nowszej

Wyniki kontroli przedstawia aplikacja „Controls” oprogramowania.

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

Interpretacja wyników w systemie cobas® 5800 oraz w systemach cobas® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 2.0 lub nowszej

Wyniki próbek są przedstawione w aplikacji „Results” oprogramowania.

W przypadku ważnej partii kontroli należy sprawdzić w oprogramowaniu i/lub raportach poszczególne próbki pod kątem obecności flag. Wyniki należy interpretować w następujący sposób:

Tabela 15 Przykład wyświetlania wyników testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative w systemie cobas® 5800 oraz systemach cobas® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 2.0 lub nowszej

ID próbki*	Test	Wynik kontroli	Flagi**	Stan	Wynik		Data utworzenia/godzina
Sample_01	SCoV2-QL	Valid		Released	SCoV2 Negative	PanSarb Negative	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_C1	SCoV2-QL	Invalid		Released	Invalid	Invalid	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_B1	SCoV2-QL	Valid		Released	SCoV2 Negative	PanSarb Positive	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_B2	SCoV2-QL	Valid		Released	SCoV2 Positive	PanSarb Positive	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_D1	SCoV2-QL	Valid		Released	SCoV2 Negative	PanSarb Negative	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_A6	SCoV2-QL	Valid		Released	SCoV2 Positive	PanSarb Negative	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_E1	SCoV2-QL	Valid		Released	SCoV2 Positive	Invalid	7/7/2021 8:27:39 AM
Sample_A2	SCoV2-QL	Valid		Released	Invalid	PanSarb Positive	7/7/2021 8:27:39 AM

* Tabela dotyczy wszystkich używanych typów próbek.

** W razie wystąpienia nieważnych wyników używany jest symbol flagi na przeglądzie wyników. Szczegółowe opisy flag są dostępne w szczegółach wyników.

- Próbkę powiązaną z ważną partią kontroli wyświetlane są jako „Valid” (Ważne) w kolumnie „Control result” (Wynik kontroli), jeśli wszystkie wyniki docelowe kontroli zgłaszane są jako ważne. Próbkę powiązaną z błędną partią kontroli wyświetlane są jako „Invalid” (Nieważne) w kolumnie „Wynik kontroli”, jeśli wyniki kontroli zgłaszane są jako nieważne.
- Jeśli powiązane kontrole wyniku próbki są nieważne, do wyniku próbki zostanie dodana określona flaga:
 - Q05D: niepowodzenie walidacji wyniku z powodu nieważnej kontroli dodatniej.
 - Q06D: niepowodzenie walidacji wyniku z powodu nieważnej kontroli ujemnej.
- Wartości w kolumnie „Result” (Wynik) dla poszczególnych wyników docelowych próbek powinny być interpretowane zgodnie z tym, co przedstawia Tabela 15 powyżej.
- Jeśli przynajmniej jedna wartość docelowa próbki jest oznaczona jako „Invalid” (Nieważny), oprogramowanie wyświetla flagę w kolumnie „Flags” (Flagi). Więcej informacji na temat powodu zgłoszenia wartości docelowej próbki jako nieważnej, włącznie z informacją o fladze, dostępnych jest w widoku szczegółowym.

Kontrola jakości i ważność wyników w systemach cobas® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 1.4

- Z każdą partią przetwarzany jest jeden bufor kontroli ujemnej **cobas®** Buffer Negative Control [BUF (-) C] i jedna kontrola dodatnia [SARS-CoV-2 QL (+)C].
- W celu zagwarantowania ważności partii należy sprawdzić w oprogramowaniu i/lub raporcie obecność flag oraz powiązane z nimi wyniki.
- Wszystkie flagi opisano w przewodniku użytkownika systemów **cobas®** 6800/8800.
- Partia jest ważna, jeśli nie ma oflagowań dla żadnej kontroli. Jeśli seria zostanie unieważniona, należy powtórzyć badanie całej serii.

Wyniki są poddane walidacji automatycznie przez oprogramowanie aparatu na podstawie uzyskania wyników kontroli ujemnej lub kontroli dodatniej.

Interpretacja wyników w systemach cobas® 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 1.4

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

- Ważna partia może obejmować zarówno ważne, jak i nieważne wyniki próbek.
- Przykłady ekranu wyników testu **cobas®** SARS-CoV-2 Qualitative przedstawia Tabela 16.
- Kolumny „Valid” (Ważny) i „Overall Result” (Wynik ogólny) nie dotyczą wyników próbek testu **cobas®** SARS-CoV-2 Qualitative.
- Możliwe jest wystąpienie wyników nieważnych dla jednej lub większej liczby kombinacji docelowych i wyniki takie są zgłaszane dla każdej sekwencji docelowej. W razie nieważnego wyniku dla dowolnej indywidualnej sekwencji docelowej, nie można określić obecności lub braku obecności danej indywidualnej sekwencji docelowej.
- Inne wstępnie ważne wyniki sekwencji docelowych można interpretować w sposób opisany w Tabeli 17.

Tabela 16 Przykład wyświetlania wyników testu **cobas®** SARS-CoV-2 Qualitative w systemach **cobas®** 6800/8800 z oprogramowaniem w wersji 1.4

Test	Sample ID	Valid*	Flags	Sample type	Overall result*	Target 1	Target 2
SCoV2-QL	Sample_01	NA		VTM	NA	SCoV2 Negative	PanSarB Negative
SCoV2-QL	Sample_C1	NA	Y40T	VTM	NA	Invalid	Invalid
SCoV2-QL	Sample_B1	NA		VTM	NA	SCoV2 Negative	PanSarB Positive
SCoV2-QL	Sample_B2	NA		VTM	NA	SCoV2 Positive	PanSarB Positive
SCoV2-QL	Sample_D1	NA		VTM	NA	SCoV2 Negative	PanSarB Negative
SCoV2-QL	Sample_A6	NA		VTM	NA	SCoV2 Positive	PanSarB Negative
SCoV2-QL	Sample_E1	NA	C01H2	VTM	NA	SCoV2 Positive	Invalid
SCoV2-QL	Sample_A2	NA	C01H1	VTM	NA	Invalid	PanSarB Positive
SCoV2-QL	C161420284090428828404	Yes		(-) Ctrl	Valid	Valid	Valid
SCoV2-QL	C161420284093009580264	Yes		SCoV2-QL (+) C	Valid	Valid	Valid

* Kolumny „Valid” (Ważny) i „Overall Result” (Wynik ogólny) nie dotyczą wyników próbek testu **cobas®** SARS-CoV-2 Qualitative. Szczegółowe instrukcje dotyczące interpretacji wyników testu, patrz Tabela 17, Interpretacja wyników testu **cobas®** SARS-CoV-2 Qualitative.

Tabela 17 Przykład interpretacji wyników testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative w systemach cobas® 5800/6800/8800

Target 1	Target 2	Interpretacja
SCoV2 Positive	PanSarb Positive	Wszystkie wyniki targetu były ważne. Wynik dla RNA SARS-CoV-2 to Detected (Wykryto).
SCoV2 Positive	PanSarb Negative	Wszystkie wyniki targetu były ważne. Wynik dla RNA SARS-CoV-2 to Detected (Wykryto). Dodatni wynik Target 1 i ujemny Target 2 sugeruje: 1) stężenie próbki na granicy lub poniżej granicy wykrywalności testu, 2) mutacja w rejonie docelowym Targetu 2, 3) inne czynniki.
SCoV2 Negative	PanSarb Positive	Wszystkie wyniki targetu były ważne. Wynik dla RNA SARS-CoV-2 to Presumptive Positive (Prawdopodobnie dodatni). Ujemny wynik Target 1 i dodatni Target 2 sugeruje: 1) stężenie próbki na granicy lub poniżej granicy wykrywalności testu, 2) mutacja w rejonie docelowym Target 1 w miejscach wiązania oligonukleotydów, 3) zakażenie innym przedstawicielem podrodzaju Sarbecovirus (np. SARS-CoV lub innym wirusem z podrodzaju Sarbecovirus, co do którego wcześniej nie stwierdzono zakażeń u ludzi), 4) inne czynniki. W przypadku próbek z wynikiem Presumptive Positive (Prawdopodobnie dodatni) można wykonać dodatkowe testy potwierdzające, jeśli jest to wymagane do rozróżnienia między SARS-CoV-2 a SARS-CoV-1 lub innymi wirusami z podrodzaju Sarbecovirus, co do których obecnie nie wiadomo, by zakażały ludzi, dla potrzeb epidemiologii lub postępowania klinicznego.
SCoV2 Negative	PanSarb Negative	Wszystkie wyniki targetu były ważne. Wynik dla RNA SARS-CoV-2 to Not Detected (Nie wykryto).
SCoV2	Invalid	Nie wszystkie wyniki targetu były ważne. Wynik dla RNA SARS-CoV-2 to Detected (Wykryto).
Invalid	PanSarb Positive	Nie wszystkie wyniki targetu były ważne. Wynik dla RNA SARS-CoV-2 to Presumptive Positive (Prawdopodobnie dodatni). W przypadku próbek z wynikiem Presumptive Positive (Prawdopodobnie dodatni) można wykonać dodatkowe testy potwierdzające, jeśli jest to wymagane do rozróżnienia między SARS-CoV-2 a SARS-CoV-1 lub innymi wirusami z podrodzaju Sarbecovirus, co do których obecnie nie wiadomo, by zakażały ludzi, dla potrzeb epidemiologii lub postępowania klinicznego.
SCoV2 Negative	Invalid	Nie wszystkie wyniki targetu były ważne. Konieczne jest ponowne przetestowanie próbki. Jeżeli wynik nadal jest nieważny, należy pobrać nową próbkę.
Invalid	PanSarb Negative	Nie wszystkie wyniki targetu były ważne. Konieczne jest ponowne przetestowanie próbki. Jeżeli wynik nadal jest nieważny, należy pobrać nową próbkę.
Invalid	Invalid	Wszystkie wyniki targetu były nieważne.* Konieczne jest ponowne przetestowanie próbki. Jeżeli wynik nadal jest nieważny, należy pobrać nową próbkę.

* Dalsze informacje opisano w części **Ograniczenia metody**.

Ograniczenia metody

- Test **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** został oceniony jedynie pod kątem stosowania z **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative Control Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit**, **cobas omni MGP Reagent**, **cobas omni Lysis Reagent**, **cobas omni Specimen Diluent** i **cobas omni Wash Reagent** do użytku w systemach **cobas® 5800/6800/8800**.
- Na wykrywanie RNA wirusa SARS-CoV-2 wpływ mogą mieć: metoda pobrania próbki, czynniki zależne od pacjenta (np. wiek, obecność objawów) i (lub) stadium zakażenia.
- Uzyskanie wiarygodnych wyników zależy od prawidłowych procedur pobierania, przechowywania i dalszego postępowania z próbkami.
- Ze względu na charakterystykę próbek śliny oraz indywidualną zmienność pacjentów, może występować podwyższona częstość wyników nieważnych i skrzepów. Ponadto cząstki jedzenia i podwyższony poziom mucyny (na co może potencjalnie wskazywać odbarwienie próbki) mogą powodować niepowodzenia przetwarzania próbki śliny. Odpowiednie środki ostrożności, które należy przedsięwziąć podczas pobierania, aby zagwarantować optymalną wydajność opisano w części **Pobieranie próbek – ślina**.
- Czasami oczekujące na przetwarzanie próbki śliny mogą spowodować błąd pipetowania (np. skrzep lub inny rodzaj niedrożności) w systemach **cobas® 5800/6800/8800**. Potencjalnym dodatkowym etapem przetwarzania przy ponownym testowaniu próbek, w których wystąpiły skrzepy podczas pierwszego przetwarzania jest odwirowanie próbek przy 2000 g przez 1 minutę i ponowne załadowanie próbek do analizatora. Podczas wirowania mogą powstawać aerozole. Aby uniknąć zanieczyszczenia lub przeniesienia wirusa, należy obchodzić się ostrożnie z odwirowywanymi próbkami.
- Test przeznaczony jest do wykrywania RNA SARS-CoV-2 w próbkach wymazów z nosa, jamy nosowo-gardłowej i jamy ustno-gardłowej pobranych do systemu UTM-RT firmy Copan lub BD™ Universal Viral Transport System (UVT) oraz próbek wymazów z nosa pobranych na podłoże **cobas® PCR Media** i 0,9% roztwór fizjologiczny soli. Ponadto test jest przeznaczony do wykrywania RNA wirusa SARS-CoV-2 w próbkach śliny upłynnionych przy użyciu 0,9% roztworu soli fizjologicznej. Badanie innych rodzajów próbek przy użyciu testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** może dawać nieprawidłowe wyniki.
- Podobnie jak w przypadku każdego testu molekularnego, mutacje w obrębie regionów docelowych testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** mogą wpływać na wiązanie startera i/lub sondy, prowadząc do niewykrycia wirusa.
- Z uwagi na różnice pomiędzy metodami zaleca się, aby przed zmianą użytkownik przeprowadził w laboratorium badania korelacji stosowanych metod w celu określenia występujących pomiędzy nimi różnic jakościowych. Ze względu na wspomniane wyżej różnice w metodach nie należy oczekiwać stuprocentowej zgodności między wynikami. Użytkownicy powinni postępować zgodnie z własnymi określonymi zasadami/procedurami.
- Wyniki fałszywie ujemne lub nieważne mogą wynikać z wpływu różnych substancji. Do testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** dołączona jest kontrola wewnętrzna, aby pomóc w identyfikacji próbek zawierających substancje mogące interferować z izolacją kwasu nukleinowego i amplifikacją w trakcie reakcji PCR.
- Dodanie do mastermiks testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** enzymu AmpErase umożliwia selektywną amplifikację docelowego RNA; jednak dla uniknięcia zanieczyszczenia odczynników konieczne jest stosowanie dobrej praktyki laboratoryjnej i dokładne przestrzeganie procedur wyszczególnionych w niniejszej instrukcji użytkowania.

Stosowanie pulowania z uwzględnieniem chorobowości

Pulowanie może zwiększyć przepustowość w laboratoriach testujących próbki pochodzące z populacji o niskiej chorobowości SARS-CoV-2. W populacjach o wyższej chorobowości wskazane może być stosowanie puli o mniejszej liczbie próbek lub testowanie indywidualnych próbek.

Przy rozważaniu strategii pulowania laboratoria powinny uwzględnić stosowność strategii pulowania na podstawie odsetku wyników dodatnich w badanej populacji oraz wydajności procesu pulowania. Laboratoria mogą wziąć również pod uwagę czułość testów spulowanych na podstawie granicy wykrywalności danego oznaczenia.

Tabela 18 to szacunkowa maksymalna wydajność uzyskana na podstawie pulowania N próbek oraz odsetku w populacji dodatnich próbek względem wirusa SARS-CoV-2.

Tabela 18 Wydajność pulowania z uwzględnieniem chorobowości

P, procentowa wartość dodatnich pacjentów w badanej populacji	n_{maks.} wydajność (n odpowiadające maksymalnej wydajności)	Wydajność (F) pulowania n próbek (maksymalne zwiększenie liczby testowanych pacjentów przy korzystaniu ze strategii pulowania n próbek Dorfmana)
1–4%	6	4,44–2,60
5–6%	6	2,32–2,10
7–12%	6	1,92–1,42
13–25%	6	1,36–1,01
1–4%	5	4,02–2,60
5–6%	5	2,35–2,15
7–12%	5	1,98–1,49
13–25%	5	1,43–1,04
1–4%	4	3,46–2,50
5–6%	4	2,30–2,13
7–12%	4	1,99–1,54
13–25%	4	1,48–1,07
1–4%	3	2,75–2,23
5–6%	3	2,10–1,99
7–12%	3	1,89–1,53
13–25%	3	1,48–1,10
1–4%	2	1,92–1,73
5–6%	2	1,67–1,62
7–12%	2	1,57–1,38
13–25%	2	1,35–1,07

Ponieważ pula o dodatnim wyniku wymaga ponownego zbadania każdej próbki indywidualnie, wydajność każdej strategii pulowania zależy od odsetku wyników dodatnich. Wydajność pulowania n próbek (F) przy danym odsetku wyników dodatnich (P) można wyliczyć, korzystając z następującego wzoru: $F = 1 / (1 + 1/n - (1 - P)n)$. Wydajność (F) wskazuje, ile próbek więcej można przetestować przy użyciu puli składającej się z n próbek w porównaniu do testów próbek indywidualnych. Przykładowo w przypadku strategii tworzenia puli z 6 próbek można uzyskać 2,1-krotne zwiększenie liczby testowanych próbek przy 6% odsetku wyników dodatnich P ($F = 2,10$). Przy $F = 2,10$, 1000 testów pozwala średnio przebadać 2100 próbek.

Niekliniczna ocena wiarygodności

Czułość analityczna (granica wykrywalności) – dla próbek typu wymaz

Badania granicy wykrywalności (LoD) określają najniższe wykrywane stężenie wirusa SARS-CoV-2, przy którym przynajmniej 95% wszystkich (prawdziwie dodatnich) powtórzeń z wynikiem dodatnim.

Aby określić LoD wykonano rozcieńczenia seryjne międzynarodowego wzorca WHO dla RNA wirusa SARS-CoV-2 (kod NIBSC: 20/146) w symulowanej macierzy próbek klinicznych. Przetestowano łącznie 5 poziomów stężeń z 3 niezależnymi seriami rozcieńczeń, z łącznie 24 powtórzeniami dla każdego stężenia, z dodatkowymi 60 powtórzeniami próbki ślepej (tj. puli próbek klinicznych).

Jak przedstawia Tabela 19 i Tabela 20, poziomy stężenia z obserwowanym wskaźnikiem trafności wynoszącym przynajmniej 95% wynosiły 250 i 125 IU/ml odpowiednio dla wirusa SARS-CoV-2 (sekwencja docelowa nr 1) i wspólnej sekwencji podrodzaju Sarbecovirus (sekwencja docelowa nr 2), a prognozowane w analizie probitowej 95% wskaźnik trafności wynosił 200 i 102 IU/ml odpowiednio dla wirusa SARS-CoV-2 (sekwencja docelowa nr 1) i wspólnej sekwencji podrodzaju Sarbecovirus (sekwencja docelowa nr 2).

Tabela 19 Podsumowanie LoD dla wirusa SARS-CoV-2 przy użyciu międzynarodowego wzorca WHO (kod NIBSC: 20/146)

Szczep wirusa	Seria zestawu	95% wartość probitowa [IU/ml]	95% CI wartości probitowej [IU/ml]	Odsetek trafności $\geq 95\%$ [IU/ml]	Średnie Ct przy odsetku trafności $\geq 95\%$
Międzynarodowy wzorec WHO dla wirusa SARS-CoV-2 RNA (kod NIBSC: 20/146)	Seria nr 1	202	157–319	250	33,2
	Seria nr 2	121	97–183	125	34,1
	Seria nr 3	259	196–413	250	33,2
	Seria nr 1–3	200	170–252	250	33,4

Tabela 20 Podsumowanie LoD dla wspólnej sekwencji docelowej podrodzaju Sarbecovirus przy użyciu międzynarodowego wzorca WHO (kod NIBSC: 20/146)

Szczep wirusa	Seria zestawu	95% wartość probitowa [IU/ml]	95% CI wartości probitowej [IU/ml]	Odsetek trafności $\geq 95\%$ [IU/ml]	Średnie Ct przy odsetku trafności $\geq 95\%$
Międzynarodowy wzorec WHO dla wirusa SARS-CoV-2 RNA (kod NIBSC: 20/146)	Seria nr 1	83	64–127	125	35,2
	Seria nr 2	67	46–454	125	36,0
	Seria nr 3	132	99–233	125	34,8
	Seria nr 1–3	102	83–140	125	35,3

Ponadto określono czułość oznaczenia przy użyciu pochodzącego z hodowli wirusa wyizolowanego od pacjenta z USA (USA-WA1/2020, numer katalogowy NR-52281, numer serii 70033175, $2,8E+05$ TCID₅₀/ml[§]) rozcieńczonego seryjnie w symulowanym materiale klinicznym. Przetestowano łącznie 7 poziomów stężeń z trzykrotnymi rozcieńczeniami seryjnymi między poziomami z łącznie 21 powtórzeniami dla każdego powtórzenia, z dodatkowymi 10 powtórzeniami próbki ślepej (tj. symulowanego materiału klinicznego).

Jak prezentuje Tabela 21, poziomy stężenia z obserwowanym wskaźnikiem trafności wynoszącym przynajmniej 95% wynosiły 0,009 i 0,003 TCID₅₀/ml odpowiednio dla SARS-CoV-2 (Target 1) i wspólnej sekwencji podrodzaju Sarbecovirus (Target 2). Jak prezentuje Tabela 22, wskaźniki trafności wynoszące przynajmniej 95% przewidziane na podstawie analizy Probit wynosiły 0,007 i 0,004 TCID₅₀/ml odpowiednio dla SARS-CoV-2 (Target 1) i wspólnej sekwencji podrodzaju Sarbecovirus (Target 2).

Tabela 21 Określenie LoD z użyciem szczepu USA-WA1/2020

Szczep	Stężenie [TCID ₅₀ /ml]	Wyniki ważne łącznie	Odsetek trafień [%]**		Średnia wartość Ct*	
			Target 1	Target 2	Target 1	Target 2
USA-WA1/2020* (stężenie wyjściowe $2,8E+05$ TCID ₅₀ /ml) Seria nr 70033175***	0,084	21	100	100	31,0	33,0
	0,028	21	100	100	31,8	34,1
	0,009	21	100	100	32,7	35,2
	0,003	21	38,1	100	33,5	36,4
	0,001	21	0	52,4	Nie dotyczy	37,9
	0,0003	21	0	14,3	Nie dotyczy	37,2
	0,0001	21	0	9,5	Nie dotyczy	38,5
	0 (ślepa)	10	0	0	Nie dotyczy	Nie dotyczy

* Poniższy odczynnik został przekazany przez Centers for Disease Control and Prevention (Centrum Kontroli Zachorowań i Profilaktyki) i uzyskany przez BEI Resources, NIAID, NIH: SARS-Related Coronavirus 2, izolat USA-WA1/2020, NR-52281.

** Wszystkie powtórzenia, dla których uzyskano wynik dodatni dla sekwencji Targetu 1 miały również wynik dodatni dla Targetu 2.

*** Na podstawie informacji zawartych w certyfikacie analizy przekazanym przez dostawcę, 1 TCID₅₀/ml jest równoważny 7393 odpowiednikom genomowym w ddPCR.

Tabela 22 Przewidywana metodą Probit 95% trafność dla szczepu USA-WA1/2020

Szczep	Przewidywana metodą Probit 95% trafność [TCID ₅₀ /ml]	
	Target 1	Target 2
USA-WA1/2020 (stężenie wyjściowe $2,8E+05$ TCID ₅₀ /ml)	0,007 (95% CI: 0,005–0,036)	0,004 (95% CI: 0,002–0,009)

Czułość analityczna (granica wykrywalności) – próbki śliny

Badania granicy wykrywalności (LoD) określają najniższe wykrywane stężenie wirusa SARS-CoV-2, przy którym przynajmniej 95% wszystkich (prawdziwie dodatnich) powtórzeń z wynikiem dodatnim.

Aby określić LoD wykonano rozcieńczenia seryjne międzynarodowego wzorca WHO dla RNA wirusa SARS-CoV-2 (kod NIBSC: 20/146) w pulach ujemnych próbek klinicznych śliny. Przetestowano łącznie 8 poziomów stężeń z 3 niezależnymi seriami rozcieńczeń/pulami śliny, z łącznie 32 powtórzeniami dla każdego stężenia, z dodatkowymi 96 powtórzeniami próbki ślepej (tj. puli próbek klinicznych).

Jak przedstawia Tabela 23 i Tabela 24, poziomy stężenia z obserwowanym wskaźnikiem trafności wynoszącym przynajmniej 95% wynosiły 150 i 75 IU/ml odpowiednio dla wirusa SARS-CoV-2 (sekwencja docelowa nr 1) i wspólnej sekwencji podrodzaju Sarbecovirus (sekwencja docelowa nr 2), a prognozowane w analizie probitowej 95% wskaźnik trafności wynosił 92 i 72 IU/ml odpowiednio dla wirusa SARS-CoV-2 (sekwencja docelowa nr 1) i wspólnej sekwencji podrodzaju Sarbecovirus (sekwencja docelowa nr 2).

Tabela 23 Podsumowanie LoD dla wirusa SARS-CoV-2 przy użyciu międzynarodowego wzorca WHO (kod NIBSC: 20/146)

Szczep wirusa	Seria zestawu	95% wartość probitowa [IU/ml]	95% CI wartości probitowej [IU/ml]	Odsetek trafności ≥ 95% [IU/ml]	Średnie Ct przy odsetku trafności ≥ 95%
Międzynarodowy wzorzec WHO dla wirusa SARS-CoV-2 RNA (kod NIBSC: 20/146)	Seria nr 1	102	76–156	150	34,0
	Seria nr 2	92	71–140	150	33,9
	Seria nr 3	82	64–121	150	33,8
	Seria nr 1–3	92	78–114	150	33,9

Tabela 24 Podsumowanie LoD dla wspólnej sekwencji docelowej podrodzaju Sarbecovirus przy użyciu międzynarodowego wzorca WHO (kod NIBSC: 20/146)

Szczep wirusa	Seria zestawu	95% wartość probitowa [IU/ml]	95% CI wartości probitowej [IU/ml]	Odsetek trafności ≥ 95% [IU/ml]	Średnie Ct przy odsetku trafności ≥ 95%
Międzynarodowy wzorzec WHO dla wirusa SARS-CoV-2 RNA (kod NIBSC: 20/146)	Seria nr 1	62	48–94	75	36,6
	Seria nr 2	75	54–128	150	35,6
	Seria nr 3	79	58–130	75	36,5
	Seria nr 1–3	72	60–92	75	36,5

Inkluzywność

Inkluzywność testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative w zakresie wykrywania wirusa SARS-CoV-2 potwierdzono, testując dziewięć szczepów SARS-CoV-2, w tym sześć szczepów wariantów. Najniższe stężenie analitu docelowego, przy którym wszystkie cztery testowane powtórzenia uzyskały wynik dodatni przedstawia Tabela 25.

Tabela 25 Zestawienie danych dotyczących inkluzywności

Szczep	Numer katalogowy	Numer serii	Stężenie testowe przy 100% odsetku wyników dodatnich
Hongkong/VM20001061/2020	0810590CFHI	325659	1,06E+02 kopii/ml
Włochy-INMI1	0810589CFHI	325658	1,00E+02 kopii/ml
USA-WA1/2020	0810587CFHI	325656	5,03E+01 kopii/ml
Wielka Brytania (B.1.1.7)	0810614CFHI	326230	2,4E+01 kopii/ml
Japonia/Brazylia (P.1)	NR-54982	70042875	1,9E+02 kopii/ml
Republika Południowej Afryki (B.1.351)	0810613CFHI	326229	2,4E+01 kopii/ml
USA, Nowy Jork (B.1.526)	NR-55359	70043342	1,9E+02 kopii/ml
Indie (B.1.617.1)	NR-55486	70044706	2,5E+02 kopii/ml
Indie (B.1.617.2)	NR-55611	70045238	7,0E+01 kopii/ml

Precyzja

Precyzję w obrębie laboratorium zbadano przy użyciu panelu hodowli wirusa SARS-CoV-2 (USA-WA1/2020, inaktywowanego cieplnie) rozcieńczonych w symulowanej macierzy klinicznej na uniwersalnym podłożu transportowym. Źródła zmienności zbadano przy użyciu panelu obejmującego trzy poziomy stężeń, przy użyciu trzech partii odczynników testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative oraz trzech aparatów, w ciągu 15 dni analizatora

(2 serie/dzień × 3 analizatory × 5 dni/analizator), co dało łącznie 30 serii oznaczeń. Opis panelu precyzji oraz zaobserwowane odsetki wyników dodatnich przedstawia Tabela 26. Wszystkie elementy paneli ujemnych w testach pozostały ujemne.

Analiza odchylenia standardowego i procentowego współczynnika zmienności (CV) wartości Ct z testów przeprowadzonych na elementach panelu dodatniego (patrz Tabela 27) doprowadziła do uzyskania procentowej wartości CV w zakresie od 1,1% do 2,2% dla cobas® SARS-CoV-2 Qualitative.

Tabela 26 Podsumowanie precyzji wewnątrzlaboratoryjnej

Docel. typ	Człon panelu	Poziom (× LoD)	Wyniki dodatnie	Całkowity wynik	Współczynnik % wyników dodatnich	Dolna granica dwustronnego 95% przedziału ufności	Górna granica dwustronnego 95% przedziału ufności
Target 1 (SARS-CoV-2)	Słabododatni	~0,3×	9	90	10%	5%	18%
	Niskododatni	~1,0×	82	90	91%	83%	96%
	Umiarkowanie dodatni	~3,0×	90	90	100%	96%	100%
Target 2 (podrodzaj Sarbecovirus)	Słabododatni	~0,3×	31	90	34%	25%	45%
	Niskododatni	~1,0×	84	90	93%	86%	97%
	Umiarkowanie dodatni	~3,0×	90	90	100%	96%	100%
Nie dotyczy	Ujemny	Próba ślepa	0	90	0%	0%	4%

Tabela 27 Łączne wartości średnie, odchylenia standardowe i współczynniki zmienności dla wartości Ct według elementu panelu dodatniego

Docel. typ	Poziom (× LoD)	Odsetek trafień	Średnia wartość Ct	Między aparatami		Między seriami		Między dniami		Pomiędzy przebiegami testowymi		W obrębie przebiegu		Ogółem	
				OS	CV%	OS	CV%	OS	CV%	OS	CV%	OS	CV%	OS	CV%
Target 1 (SARS-CoV-2)	~0,3×	10,0%	32,51	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,5	1,4	0,5	1,4
	~1,0×	91,1%	32,1	0,0	0,0	0,2	0,6	0,1	0,3	0,0	0,0	0,6	1,8	0,6	1,9
	~3,0×	100,0%	31,18	0,0	0,0	0,2	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,9	0,4	1,1
Target 2 (podrodzaj Sarbecovirus)	~0,3×	34,4%	35,36	0,0	0,0	0,5	1,3	0,3	0,8	0,1	0,2	0,5	1,5	0,8	2,2
	~1,0×	93,3%	34,21	0,0	0,0	0,1	0,3	0,2	0,6	0,0	0,0	0,7	2	0,7	2,2
	~3,0×	100,0%	32,9	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	1,1	0,4	1,1

Swoistość analityczna / reaktywność krzyżowa

W celu oceny swoistości analitycznej, użyto testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** do przetestowania panelu składającego się z 48 wirusów, bakterii i grzybów (łącznie z tymi, które powszechnie występują w układzie oddechowym). Podane drobnoustroje (Tabela 28) dodano w stężeniu 1×10^5 jednostek/ml w przypadku wirusów i 1×10^6 jednostek/ml w przypadku pozostałych drobnoustrojów, o ile nie podano inaczej.

Testy wykonywano przy braku każdego potencjalnie zakłócającego działanie drobnoustroju oraz przy obecności sekwencji docelowej wirusa SARS-CoV-2 (dodany w stężeniu $\sim 3 \times \text{LoD}$). Żaden z drobnoustrojów nie wpływał na skuteczność testu. Testy wirusa SARS-CoV-1 spowodowały uzyskanie oczekiwanego wyniku dodatniego dla sekwencji wspólnej podrodzaju Sarbecovirus.

Tabela 28 Wyniki testu reaktywności krzyżowej

Drobnoustrój	Stężenie
Ludzki koronawirus 229E	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Ludzki koronawirus OC43	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Ludzki koronawirus HKU1	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Ludzki koronawirus NL63	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Koronawirus MERS	$1,0\text{E}+05$ odpowiednika genomowego/ml
Koronawirus SARS	$1,0\text{E}+05$ PFU/ml
Adenowirus B (typ 34)	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Bocavirus	$1,0\text{E}+05$ kopii/ml
Wirus cytomegalii	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Wirus Epsteina-Barra	$1,0\text{E}+05$ kopii/ml
Ludzki metapneumowirus (hMPV)	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Wirusy odry	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Wirus świnki	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Wirus paragrypy, typ 1	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Wirus paragrypy, typ 2	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Wirus paragrypy, typ 3	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Wirus paragrypy, typ 4	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Wirus grypy A (H1N1)	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Wirus grypy typu A (H1N1-2009, H1N3, H3N2)	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Wirus grypy B	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Enterowirus E (typ 1)	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Parechovirus	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Wirus syncytium nabłonka oddechowego	$1,0\text{E}+05$ PFU/ml
Rinowirus	$1,0\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
<i>Candida albicans</i>	$1,0\text{E}+06$ CFU/ml
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	$1,0\text{E}+06$ TCID ₅₀ /ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	$1,0\text{E}+06$ CFU/ml

Drobnoustrój	Stężenie
<i>Escherichia coli</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Lactobacillus gasseri</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Legionella pneumophila</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Legionella jordanis (non-pneumophila)</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1,0E+06 komórki/ml
<i>Neisseria elongata</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Neisseria meningitidis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	1:20 próbki pacjenta
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Streptococcus salivarius</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Bordetella pertussis</i>	1,0E+06 CFU/ml
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,0E+06 CFU/ml
Pula wypłuczyn z nosa	1:20 próbki pacjenta

Substancje wpływające na wynik testu

Oceniono działanie substancji egzogennych potencjalnie wydzielanych do próbek z układu oddechowego (Tabela 29). Każdą potencjalną substancję interferującą przetestowano w stężeniu potencjalnie istotnym klinicznie lub wyższym w ujemnym symulowanym materiale klinicznym stabilizowanym przy użyciu uniwersalnego podłoża transportowego przy obecności i nieobecności sekwencji docelowej wirusa SARS-CoV-2 (dodawanej w stężeniu $\sim 3 \times \text{LoD}$).

Żadna z substancji nie wpływała na skuteczność testu przez generowanie wyników fałszywie ujemnych, fałszywie dodatnich lub nieważnych.

Tabela 29 Lista egzogennych substancji testowanych pod kątem interferencji

Substancja	Stężenie
Oksymetazolina	0,011 mg/ml
<i>Galphimia glauca</i> , <i>Luffa operculata</i> , <i>Sabadilla</i>	0,023 mg/ml
Lidokaina i fenylefryna	2,68 mg/ml
Budezonid	0,039 mg/ml
Fenol	0,47 mg/ml
Propionian flutykazonu	166,67 µg/ml
Mupirocyna	0,20 mg/ml
Zanamiwir	0,0015 mg/ml
Oseltamiwir	0,0073 mg/ml
Benzokaina i mentol	5,00 mg/ml
Tobramycyna	0,018 mg/ml
Wazelina Petroleum Jelly	1% (wag./obj.)
Nikotyna	1% (wag./obj.)
Syntetyczny olejek kamforowy, olejek eukaliptusowy i maść mentolowa	1% (wag./obj.)
0,65% NaCl, alkohol benzylowy, chlorek benzalkoniowy	1% (wag./obj.)

Zbadano pod kątem zakłóceń substancje endogenne, które mogą występować w próbkach z układu oddechowego (Tabela 30). Każdą potencjalną substancję interferującą przetestowano w stężeniu potencjalnie istotnym klinicznie lub wyższym w ujemnym symulowanym materiale klinicznym stabilizowanym przy użyciu uniwersalnego podłoża transportowego przy obecności i nieobecności sekwencji docelowej wirusa SARS-CoV-2 (dodawanej w stężeniu $\sim 3 \times \text{LoD}$).

Żadna z substancji nie wpływała na skuteczność testu przez generowanie wyników fałszywie ujemnych, fałszywie dodatnich lub nieważnych.

Tabela 30 Lista endogennych substancji testowanych pod kątem interferencji

Substancja	Stężenie
Ludzki DNA genomowy	20 ng/ μl
Śluz	Jeden wymaz płwociny/ml
Ludzkie jednojądrzaste komórki krwi obwodowej (ang. <i>Peripheral Blood Mononuclear Cells</i> , PBMC)	1,0E+03 komórki/ μl
Ludzka krew pełna	1% (udział objętościowy)
Ludzka krew pełna	2% (udział objętościowy)
Ludzka krew pełna	5% (udział objętościowy)

Równoważność macierzy – UTM-RT/UVT, cobas® PCR Media i 0,9% roztwór soli fizjologicznej

Oceniono równoważność różnych podłoży do pobierania (UTM-RT/UVT, cobas® PCR Media i soli fizjologicznej). Równoważność podłoży do pobierania UTM-RT/UVT i cobas® PCR Media oceniano przy użyciu wzorca międzynarodowego WHO dla RNA wirusa SARS-CoV-2 (kod NIBSC: 20/146). Międzynarodowy wzorec WHO wykorzystano do uzyskania stężenia docelowego wynoszącego w przybliżeniu $2 \times \text{LoD}$ (wynik niskododatni) i $4 \times \text{LoD}$ (wynik umiarkowanie dodatni) w sparowanych indywidualnych ujemnych próbkach klinicznych, przy stabilizacji przy użyciu uniwersalnego podłoża transportowego (UTM-RT/UVT), lub cobas® PCR Media (CPM).

Równoważność podłoża do pobierania UTM-RT/UVT i 0,9% roztworem soli fizjologicznej oceniano przy użyciu pochodzącego z hodowli wirusa (szczep USA-WA1/2020). Pochodzącego z hodowli wirusa wykorzystano do uzyskania stężenia docelowego wynoszącego w przybliżeniu $2 \times \text{LoD}$ (wynik niskododatni) i $4 \times \text{LoD}$ (wynik umiarkowanie dodatni) w sparowanych indywidualnych ujemnych próbkach klinicznych stabilizowanych przy użyciu uniwersalnego podłoża transportowego (UTM-RT/UVT) lub 0,9% roztworu soli fizjologicznej (NaCl).

Dla każdego typu podłoża do pobierania przetestowano co najmniej 20 replikatów na próbkę niskododatnią i 10 replikatów na próbkę umiarkowanie dodatnią. Wszystkie replikaty dały wynik dodatni w zakresie wirusa SARS-CoV-2 we wszystkich trzech typach podłoży do pobierania. Podłoża UTM-RT/UVT, cobas® PCR Media i 0,9% roztwór soli fizjologicznej można stosować z testem cobas® SARS-CoV-2 Qualitative.

Błąd całego systemu

Częstość występowania błędu całego systemu oceniono poprzez przetestowanie 100 próbek symulowanej macierzy klinicznej, do której dodano międzynarodowy wzorec WHO dla RNA wirusa SARS-CoV-2 (inaktywowany kwasem/ ciepłem izolat szczepu Anglia/02/2020, kod NIBSC: 20/146) aż do uzyskania stężenia wynoszącego w przybliżeniu $3 \times \text{LoD}$. Wyniki tego badania wykazały, że we wszystkich powtórzeniach stwierdzono ważność i reaktywność względem wirusa SARS-CoV-2, co dało częstość występowania błędu systemowego na poziomie 0% (górny jednostronny 95% przedział ufności wynoszący 2,95%).

Kontaminacja między próbkami

Przeprowadzono badania w celu oceny potencjalnej kontaminacji pomiędzy próbkami w systemach cobas® 6800/8800 z użyciem testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative. Kontaminacja krzyżowa próbek może spowodować uzyskanie wyników fałszywie dodatnich. W tym badaniu wydajności odsetek kontaminacji krzyżowej pomiędzy próbkami testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative wyniósł 0,0% (0/239; przy górnym jednostronnym 95% przedziale ufności wynoszącym 1,25%) w próbkach UTM i 0,6% (3/480; przy 95% przedziale ufności w zakresie od 0,1% do 1,8%) w próbkach śliny przy naprzemiennym testowaniu próbek ujemnych i próbek dodatnich o wysokiej wiremii w ciągu wielu serii oznaczeń. Probki dodatnie z wysoką wiremą zostały przygotowane w badaniu w celu uzyskania wartości Ct przekraczającej 95. percentyl wszystkich próbek dodatnich zaobserwowanych w ramach monitorowania w rzeczywistych warunkach przy użyciu testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative (> 10 milionów wyników). Prawdopodobieństwo napotkania takich próbek w rutynowym stosowaniu testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative jest proporcjonalne do częstości występowania SARS-CoV-2 w badanej populacji. W związku z tym częstość kontaminacji pomiędzy próbkami w przypadku próbek śliny przy rutynowym stosowaniu testu cobas® SARS-CoV-2 Qualitative najprawdopodobniej będzie niższa od $0,6\% \times 5\% \times \text{prewalencja}$

SARS-CoV-2 (w procentach) w badanej populacji. Przy zakładanej prevalencji wynoszącej 10% szacowana częstość kontaminacji krzyżowej wyniesie $0,6\% \times 5\% \times 10\% = 0,003\%$.

Wydajność testu w pulach próbek

Wydajność cobas® SARS-CoV-2 Qualitative stosowanego do badania próbek z jamy nosowo-gardłowej pobieranych na podłoże UTM lub UVT oceniano przy użyciu jednego systemu cobas® 6800 i jednego systemu cobas® 8800. Trzydzieści próbek dodatnich przetestowano indywidualnie i w 6-elementowych pulach zawierających 1 próbkę dodatnią i 5 próbek ujemnych oraz w 3-elementowych pulach zawierających 1 próbkę dodatnią i 2 próbki ujemne. Ponadto próbki ujemne przetestowano indywidualnie w 20 6-elementowych pulach ujemnych oraz w 20 2-elementowych pulach ujemnych.

30 indywidualnie dodatnich próbek miało wartości Ct dla 2. sekwencji docelowej wspólnej dla Sarbecovirus w przedziale od 15,1 do 35,3, w tym występowała podgrupa 8 próbek niskododatnich (~27% próbek) z wartościami Ct dla 2. sekwencji docelowej w przedziale od 33,4 do 35,3. Podgrupa próbek niskododatnich zawierała się w obrębie 2–3 wartości Ct (wartość rzeczywista 1,1–3) średniej wartości Ct dla 2. sekwencji docelowej przy granicy wykrywalności.

Wydajność testowania puli 6- i 3-elementowych zawierających jedną próbkę dodatnią porównano do testowania próbek indywidualnych i przedstawiono odpowiednio w Tabeli 31 i Tabeli 32. Wyniki dodatnie i prawdopodobnie dodatnie (zgodnie z definicją, którą zawiera Tabela 17) wykorzystano do wyliczenia procentowej zgodności wyników dodatnich (pule vs. indywidualne), gdyż wszystkie próbki składowe wymagały ponownego przetestowania jako oddzielne próbki indywidualne. Wyniki podsumowano dla wszystkich próbek oraz oddzielnie podsumowano dla podgrupy próbek niskododatnich dla każdej badanej wielkości puli.

Tabela 31 Reaktywność w dodatnich pulach 6-elementowych

Próbki w pulach 6-elementowych	Ujemne wyniki puli	Nieważne wyniki puli	Dodatnie lub prawdopodobnie dodatnie wyniki puli	Łączna liczba N ważnych wyników puli	Procentowa zgodność wyników dodatnich (pule vs. indywidualnie)
Dodatni (w tym niskododatni)	0	0	30*	30	100% (30/30) (95% CI: 88,6–100%)
Niskododatni	0	0	8*	8	100% (8/8) (95% CI: 67,6–100%)

* Uwaga: jedna niskododatnia próbka była prawdopodobnie dodatnia przy testowaniu w puli 6-elementowej.

Tabela 32 Reaktywność w dodatnich pulach 3-elementowych

Próbki w pulach 3-elementowych	Ujemne wyniki puli	Nieważne wyniki puli	Dodatnie lub prawdopodobnie dodatnie wyniki puli	Łączna liczba N ważnych wyników puli	Procentowa zgodność wyników dodatnich (pule vs. indywidualnie)
Dodatni (w tym niskododatni)	0	0	30	30	100% (30/30) (95% CI: 88,6–100%)
Niskododatni	0	0	8	8	100% (8/8) (95% CI: 67,6–100%)

Tabela 33 przedstawia porównanie wydajności testowania puli 6- i 2-elementowych zawierających tylko próbki ujemne oraz testowania próbek indywidualnych.

Tabela 33 Swoistość w ujemnych pulach zawierających 6 i 2 próbki

Wielkość puli	Ujemne wyniki puli	Nieważne wyniki puli	Dodatnie lub prawdopodobnie dodatnie wyniki puli	Łączna liczba N ważnych wyników puli	Zaobserwowany odsetek wyników ujemnych
Pule po 6	20	0	0	20	100% (20/20) (95% CI: 83,9–100%)
Pule po 2	20	0	0	20	100% (20/20) (95% CI: 83,9–100%)

Uwaga: w przypadku rozcieńczania i testowania spulowanego niektóre próbki dodatnie mogą nie zostać wykryte.

Powyższe oszacowanie wydajności może zaniżać wpływ utraty zdolności wykrywania w przypadku testowania w pulach.

Przy ocenianiu testowania w pulach laboratoria powinny również wziąć pod uwagę granicę wykrywalności oznaczenia (patrz sekcja **Ostrzeżenia i środki ostrożności**).

Ocena klinicznej wiarygodności testu

Wydajność w zakresie próbek klinicznych – wymazy

Wydajność testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** oceniano w trzech badaniach z wykorzystaniem zarchiwizowanych lub świeżych próbek pobranych prospektywnie. W połączeniu, wszystkie trzy badania porównywały wydajność testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** w zakresie czterech zewnętrznych ośrodków badawczych (jeden ośrodek w UE, 3 w USA) przy użyciu testu CE-IVD SARS-CoV-2 o wysokiej czułości jako metody porównawczej. Materiały we wszystkich badaniach pobierano na podłoże VTM.

W pierwszym badaniu wykorzystywano archiwalne próbki wymazów z jamy nosowo-gardłowej (NPS, *Nasopharyngeal Swab*) pobrane od osób z objawami przedmiotowymi i podmiotowymi zakażenia dróg oddechowych, które oceniano w jednym ośrodku zewnętrznym. Drugie badanie obejmowało jeden ośrodek badawczy oceniający archiwalne próbki pobrane od osób bez objawów czy innych powodów, aby podejrzewać chorobę COVID-19. Ostatnie badanie było dużym badaniem wieloośrodkowym, w ramach którego trzy zewnętrzne ośrodki badawcze oceniały prospektywnie pobrane świeże próbki kliniczne pochodzące od osób z objawami przedmiotowymi i podmiotowymi infekcji dróg oddechowych. Uczestnicy w 12 położonych w różnych lokalizacjach ośrodkach rekrutacyjnych przekazali próbki NPS i NS (*Nasal Swab*, wymaz z nosa) w ramach procedury podwójnego pobierania, gdzie (a) kolejność pobierania była zmienna, gdzie pierwsza pobierana próbka to w około 50% przypadków był wymaz NPS, a w około 50%, wymaz NS; (b) metoda pobierania próbek NS również była zmienna, aby uzyskać około 50% próbek pobranych samodzielnie i około 50% próbek pobranych przez pracownika ochrony zdrowia.

W ramach trzech badań do oceny zakwalifikowano i uwzględniono w analizie danych łącznie 1500 wyników z badania wymazów z jamy nosowo-gardłowej od kątem wirusa SARS-CoV-2. Dokładność (korelacja metody) testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** w porównaniu do testu CE-IVD SARS-CoV-2 o wysokiej czułości przedstawia Tabela 34. Ogółem procentowa zgodność wyników dodatnich (PPA) testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** wyniosła 97,2% (140/144), a procentowa zgodność wyników ujemnych (NPA) wyniosła 99,9% (1354/1356).

Tabela 34 Podsumowanie wydajności klinicznej z próbkami NPS testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative**

Typ próbki	Docel. typ	Całkowita liczba (N)	PPA	PPA LCL punktacja 95% CI	PPA UCL punktacja 95% CI	NPA	NPA LCL punktacja 95% CI	NPA UCL punktacja 95% CI
Jama nosowo-gardłowa	SARS-CoV-2	1500	97,2% (140/144)	93,1%	98,9%	99,9% (1354/1356)	99,5%	100%

CI = Confidence Interval, przedział ufności, LCL = Lower Confidence Limit, dolna granica przedziału ufności, NPA = Negative Percent Agreement, procentowa zgodność wyników ujemnych, PPA = Positive Percent Agreement, procentowa zgodność wyników dodatnich, UCL = Upper Confidence Limit, górna granica przedziału ufności.

Ponadto wymienione powyżej prospektywne wieloośrodkowe badanie oceniające miało oceniać wydajność testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** przy użyciu próbek NPS i NS pobranych od pacjentów z podejrzeniem infekcji układu oddechowego. W tym badaniu wykorzystano złożoną metodę porównawczą, gdzie ośrodki laboratoryjne wykorzystywały do 3 testów CE-IVD SARS-CoV-2 o wysokiej czułości w celu określenia statusu zakażenia, wykorzystując zasadę większości. Wynik złożonej metody porównawczej zdefiniowano jako zgodne wyniki z 2 testów porównawczych (test A i B). W przypadku rozbieżności pomiędzy wynikami 2 wstępnych testów porównawczych, próbka była testowana przy użyciu trzeciego testu (test C), a wynik tego testu określał status złożonej metody porównawczej.

Po porównaniu z wynikiem złożonej metody porównawczej test **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** charakteryzował się procentową zgodnością wyników dodatnich (PPA) na poziomie 98,7% w przypadku próbek NPS i 96,2% w przypadku próbek NS. Procentowa zgodność wyników ujemnych (NPA) wyniosła 99,7% w przypadku próbek NPS i 100% w przypadku próbek NS. Ponadto wykazano podobną wydajność testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** w przypadku wymazów z jamy nosowej pobieranych samodzielnie oraz pobieranych przez pracownika ochrony zdrowia, co przedstawia Tabela 35.

Tabela 35 Podsumowanie wiarygodności klinicznej testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** z próbkami NPS/NS – ocena prospektywna

Typ próbki	Docel. typ	Całkowita liczba (N)	PPA	PPA LCL punktacja 95% CI	PPA UCL punktacja 95% CI	NPA	NPA LCL punktacja 95% CI	NPA UCL punktacja 95% CI
Jama nosowo-gardłowa*	SARS-CoV-2	938	98,7% (77/78)	93,1%	99,8%	99,7% (857/860)	99,0%	99,9%
Wymaz z jamy nosowej	SARS-CoV-2	941	96,2% (76/79)	89,4%	98,7%	100,0% (862/862)	99,6%	100,0%
Wymaz z jamy nosowej – pobierany samodzielnie	SARS-CoV-2	481	100,0% (40/40)	91,2%	100,0%	100,0% (441/441)	99,1%	100,0%
Wymaz z jamy nosowej – pobierany przez POZ	SARS-CoV-2	460	92,3% (36/39)	79,7%	97,3%	100,0% (421/421)	99,1%	100,0%

CI = *Confidence Interval*, przedział ufności, LCL = *Lower Confidence Limit*, dolna granica przedziału ufności, NPA = *Negative Percent Agreement*, procentowa zgodność wyników ujemnych, PPA = *Positive Percent Agreement*, procentowa zgodność wyników dodatnich, UCL = *Upper Confidence Limit*, górna granica przedziału ufności, POZ = pracownik ochrony zdrowia.

* Pochodzące z badania prospektywnego dane dotyczące próbek pobranych z jamy nosowo-gardłowej przedstawia Tabela 34 i Tabela 35. Test A złożonej metody porównawczej SARS-CoV-2 był taki sam, jak w przypadku pojedynczej metody porównawczej w analizie podsumowującej wszystkich trzech badań.

Wydajność w zakresie próbek klinicznych – próbki śliny

Wydajność testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** oceniano przy użyciu prospektywnie pobranych próbek. W badaniu porównano wydajność testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** w obrębie jednego zewnętrznego ośrodka badawczego na terenie UE z wynikiem sparowanej próbki z jamy nosowo-gardłowej badanej przy użyciu testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** jako metody porównawczej. Probki z jamy nosowo-gardłowej pobierano na podłoże RT-UTM, a próbki śliny pobierano do jałowego pojemnika jako ślinę pierwotną.

W badaniu oceniano prospektywnie pobrane próbki kliniczne od osób z przedmiotowymi i podmiotowymi objawami zakażenia układu oddechowego oraz od osób bez przedmiotowych i podmiotowych objawów zakażenia układu oddechowego. Uczestnicy przekazali próbki wymazu z jamy nosowo-gardłowej oraz próbki śliny w ramach procedury pobierania podwójnego.

Do oceny zakwalifikowano i uwzględniono w analizie danych sparowane próbki pobrane łącznie od 652 pacjentów, z których 298 (45,7%) było objawowych a 354 (54,3%) było bezobjawowych w momencie pobrania próbki. Dokładność (korelacja metody) testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** przy użyciu próbek śliny w porównaniu do testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** przy użyciu wymazów z jamy nosowo-gardłowej przedstawia Tabela 36. Ogółem procentowa zgodność wyników

dotatnich (PPA) testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** pomiędzy próbkami śliny i wymazami z jamy nosowo-gardłowej wyniosła 82,2% (120/146), a procentowa zgodność wyników ujemnych (NPA) wyniosła 97,2% (492/506).

Tabela 36 Podsumowanie wydajności klinicznej testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** przy użyciu próbek śliny w porównaniu do próbek NPS

Typ próbki	Docel. typ	Całkowit a liczba (N)	PPA	PPA LCL punktacja 95% CI	PPA UCL punktacja 95% CI	NPA	NPA LCL punktacja 95% CI	NPA UCL punktacja 95% CI
Saliva	SARS-CoV-2	652	82,2% (120/146)	75,2%	87,5%	97,2% (492/506)	95,4%	98,3%

CI = *Confidence Interval*, przedział ufności, LCL = *Lower Confidence Limit*, dolna granica przedziału ufności, NPA = *Negative Percent Agreement*, procentowa zgodność wyników ujemnych, PPA = *Positive Percent Agreement*, procentowa zgodność wyników dodatnich, UCL = *Upper Confidence Limit*, górna granica przedziału ufności.

Procentową zgodność wyników dodatnich testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** przy użyciu próbek śliny w porównaniu do testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** przy użyciu wymazów z jamy nosowo-gardłowej z podziałem na umowne grupy wirerii przedstawia Tabela 37. Procentowa zgodność wyników dodatnich (PPA) testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** pomiędzy próbkami śliny i wymazami z jamy nosowo-gardłowej wyniosła 97,9% (47/48) w przypadku próbek NPS o wysokiej wirerii (Ct sekwencji docelowej 1 (SARS-CoV-2) $\leq$ 23), 100,0% (50/50) w przypadku próbek NPS o umiarkowanej wirerii (Ct sekwencji docelowej 1 (SARS-CoV-2) $>$ 23 do 30), i 47,9% (23/48) w przypadku próbek NPS o niskiej wirerii i poniżej granicy wykrywalności próbek NPS (Ct sekwencji docelowej 1 (SARS-CoV-2) $>$ 30).

Tabela 37 Procentowa zgodność wyników dodatnich dla testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** przy używaniu próbek śliny w porównaniu do poziomu wirerii wykrywanego w sparowanej próbce NPS

Poziom wirerii na podstawie Ct* sparowanej próbki NPS	Docel. typ	Całkowita liczba (N)	PPA	PPA LCL punktacja 95% CI	PPA UCL punktacja 95% CI
Wysokie (NPS Ct $\leq$ 23)	SARS-CoV-2	48	97,9% (47/48)	89,1%	99,6%
Umiarkowane (NPS Ct $>$ 23 do Ct $\leq$ 30)	SARS-CoV-2	50	100,0% (50/50)	92,9%	100,0%
Niskie (NPS Ct $>$ 30, przy lub pod LoD próbek typu NPS)	SARS-CoV-2	48	47,9% (23/48)	34,5%	61,7%

CI = *Confidence Interval*, przedział ufności, LCL = *Lower Confidence Limit*, dolna granica przedziału ufności, NPA = *Negative Percent Agreement*, procentowa zgodność wyników ujemnych, PPA = *Positive Percent Agreement*, procentowa zgodność wyników dodatnich, UCL = *Upper Confidence Limit*, górna granica przedziału ufności.

* Ct sekwencji docelowej 1 (SARS-CoV-2)

Testy 40 próbek śliny, w przypadku których uzyskano rozbieżne wyniki pomiędzy sparowanym próbkami wymazu z jamy nosowo-gardłowej oraz próbkami śliny zostały przeprowadzone przy użyciu alternatywnego testu CE-IVD NAT o wysokiej czułości i dały 100% zgodność z wynikiem testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** przeprowadzonego przy użyciu próbki śliny. Wszystkie 14 ujemne w teście **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** próbki NPS, ale dodatnie wyniki próbki śliny zostały potwierdzone jako dodatnie próbki śliny przy użyciu alternatywnego testu, a wszystkich 26 dodatnich wyników **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** przy użyciu próbek NPS, ale ujemnych przy użyciu próbek śliny zostało potwierdzonych przy użyciu alternatywnego testu jako ujemne próbki śliny. Wskazuje to, że rozbieżność wyników przy używaniu próbek śliny zależy od różnic pomiędzy tymi dwoma typami próbek, a nie od wydajności oznaczenia.

Ponadto przeprowadzono bezpośrednie porównanie próbek śliny badanych przy użyciu testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** i testów Hologic Aptima™ SARS-CoV-2 (Tabela 38). Oba testy w porównywalny sposób umożliwiały wykrycie RNA wirusa SARS-CoV-2 w próbkach śliny, przy czym ogólna procentowa zgodność wyników dodatnich (PPA) wyniosła 97,8% (131/134), a procentowa zgodność wyników ujemnych (NPA) wyniosła 99,4% (514/517). Granice 95% przedziału ufności wynosiły odpowiednio 93,6% i 99,2% w przypadku PPA oraz 98,3% i 99,8% w przypadku NPA. W przypadku wszystkich próbek śliny cobas-/Aptima+ uzyskano wyniki ujemne dla sparowanych próbek NPS. W przypadku próbek śliny cobas+/Aptima- dwa z trzech wyników były dodatnie dla sparowanych próbek NPS. W przypadku trzeciej próbki śliny cobas+/Aptima- uzyskano wynik dodatni testu tylko dla sekwencji docelowej nr 2 (podrodzaj Sarbecovirus) przy późnej wartości Ct wskazującej na niski, zbliżony do granicy wykrywalności poziom RNA wirusa SARS-CoV-2.

Tabela 38 Korelacja między testami **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** i **Aptima™ SARS-CoV-2**

Typ próbki	SARS-CoV-2				PPA [Punktacja 95% CI]	NPA [Punktacja 95% CI]
	Con +	Con -	cobas + Aptima -	cobas - Aptima +		
Ślina	131	515	3	3	97,8% (131/134) [93,6–99,2%]	99,4% (515/518) [98,3–99,8%]

Con = zgodny; + = dodatni; - = ujemny; CI = przedział ufności; NPA = zgodność procentowa wyników ujemnych; PPA = zgodność procentowa wyników dodatnich

Odtwarzalność

Odtwarzalność testu **cobas® SARS-CoV-2 Qualitative** oceniano w odniesieniu do wielu czynników, które mogą teoretycznie wpływać na zgłaszane wyniki, w tym: seria odczynników, ośrodek testujący/analizator, dzień i przebieg. Ocena została przeprowadzona w 3 ośrodkach badawczych przy użyciu 3 serii odczynników i 4-elementowego panelu próbek dodatnich i ujemnych, co dało łącznie 216 testów na stężenie (nieuwzględniając kontroli). Dodatkowo elementy panelu zawierały materiał hodowlany wirusa SARS-CoV-2 (międzynarodowy wzorzec WHO wirusa SARS-CoV-2 RNA [kod NIBSC: 20/146]) w 3 różnych stężeniach na uniwersalnym podłożu transportowym (UTM) a bazie symulowanej macierzy klinicznej. W każdym ośrodku badawczym badano dwie partie odczynników przez 6 dni. Każdego dnia wykonywano dwa przebiegi, a w każdym analizowano 3 powtórzenia każdego elementu panelu. Ogólny wynik dodatni w zakresie wirusa SARS-CoV-2 był określany przez dodatnie wykrycie w kanale wirusa SARS-CoV-2 i/lub w kanale sekwencji wspólnej podrodzaju Sarbecovirus. Zestawienie wyników oceny, patrz Tabela 39.

Wyniki testu wykazały odpowiedni poziom zmienności pomiędzy seriami, pomiędzy aparatami (w obrębie ośrodka), dniami i partiami dla elementów panelu $\sim 0,3 \times \text{LoD}$, $\sim 1 \times \text{LoD}$ i $\sim 3 \times \text{LoD}$ (Tabela 39). Niezależnie od wiremii oraz stężenia wirusowych sekwencji docelowych, większość zmienności występowała w obrębie partii i zawierała się w zakresie od 79,5% do 100%. Zmienność pomiędzy ośrodkami wahała się od 0,0% do 10,1%, a pomiędzy partiami od 0,0% do 16,0%.

Tabela 39 Całkowita szacunkowa średnia, odchylenie standardowe i współczynniki zmienności (%) dla wartości cyklu progowego oraz oczekiwane stężenie wirusów (dodatknie elementy panelu)

Docelowy wirus	Stężenie elementu panelu	N*/N	Średnia wartość Ct**	Ośrodek SD	Ośrodek CV (%)	Seria SD	Seria CV (%)	Dzień SD	Dzień CV (%)	Partia SD	Partia CV (%)	W obrębie partii SD	W obrębie partii CV (%)	Całkowite SD**	Całkowite CV (%)***
SARS-CoV-2	~0,3 × LoD	45/216	33,6	0,00	0,0	0,00	0,0	0,11	0,3	0,00	0,0	0,35	1,1	0,37	1,1
SARS-CoV-2	~1 × LoD	196/216	33,2	0,00	0,0	0,09	0,3	0,00	0,0	0,17	0,5	0,37	1,1	0,42	1,3
SARS-CoV-2	~3 × LoD	216/216	32,2	0,05	0,2	0,02	0,1	0,00	0,0	0,03	0,1	0,24	0,8	0,25	0,8
Podrodzaju Sarbecovirus	~0,3 × LoD	158/216	36,5	0,18	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,71	2,0	0,74	2,0
Podrodzaju Sarbecovirus	~1 × LoD	214/216	35,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,67	1,9	0,67	1,9
Podrodzaju Sarbecovirus	~3 × LoD	216/216	34,1	0,11	0,3	0,05	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,32	0,9	0,34	1,0

Ct = *Cycle threshold*, wartość progowa cyklu; LoD = *Limit of Detection*, granica wykrywalności; SD = *Standard Deviation*, odchylenie standardowe; CV (%) = *Coefficient of Variation*, procentowy współczynnik zmienności; SARS-CoV-2 = koronawirus 2 wywołujący zespół ostrej niewydolności oddechowej.

Uwaga: SARS-CoV-2 to test z dwiema sekwencjami docelowymi. Inaktywowany materiał z hodowli wirusowej rozcieńczono do stężenia $\sim 0,3/1/3 \times \text{LoD}$ na podstawie LoD sekwencji docelowej nr 2 (SARS-CoV-2).

* n to liczba testów dodatnich, które wniosły wartości Ct do analizy. N to całkowita liczba ważnych testów na element panelu.

** Szacunkowe wartości średniej i całkowitego odchylenia standardowego (SD) zostały wyliczone na podstawie procedury PROC MIXED.

*** Całkowite CV (%) = $(\text{SD} \div \text{Średnia}) \times 100$.

System wykazał 99,1% procentową zgodność wyników ujemnych przy 95% CI, 96,7–99,9%. Z 216 ważnych testów 2 testy były dodatnie (1 dla wirusa SARS-CoV-2 i 1 dla sekwencji wspólnej podrodzaju Sarbecovirus). Sekwencjonowanie DNA po amplifikacji potwierdziło obecność produktu amplifikacji w 1 próbce (dodatniej pod względem sekwencji wspólnej podrodzaju Sarbecovirus, Ct 36,7) i nie wykryło produktu amplifikacji dla żadnej sekwencji docelowej w drugiej próbce (dodatniej pod względem wirusa SARS-CoV-2, Ct 34,4). Wartości Ct oraz analiza krzywej reaktywnego ujemnego elementu panelu mogą sugerować niski poziom kontaminacji podczas obsługi próbek.

Równoważność/porównanie systemu

Równoważność systemów cobas® 5800, cobas® 6800 i cobas® 8800 wykazano przez badanie skuteczności. Wyniki przedstawione w instrukcji użytkowania potwierdzają równoważne działanie wszystkich systemów.

09467157001-03PL

Dodatkowe informacje

Najważniejsze cechy testu

Rodzaj próbek

Próbki wymazów z jamy nosowo-gardłowej i z jamy ustno-gardłowej pobrano do systemu UTM-RT firmy Copan lub do systemu BD™ UVT.

Próbki wymazów z nosa pobrano do systemu UTM-RT firmy Copan lub do systemu BD™ UVT, podłoża **cobas®** PCR Media i 0,9% roztwór fizjologiczny soli.

Próbki śliny

Wymagana ilość próbek

Próbki wymazów 0,6 lub 1,0 ml*, **

Uplynniona ślina: 1,2 ml

Objętość przetwarzania

Próbki wymazów 0,4 ml

Uplynniona ślina: 0,85 ml

* Dla próbek wtórnych **cobas omni** określono objętość martwą wynoszącą 0,2 ml. Dla próbek pierwotnych **cobas®** PCR Media określono objętość martwą wynoszącą 0,6 ml. Inne próbki zgodne z systemami **cobas®** 5800/6800/8800 (patrz podręcznik użytkownika) mogą mieć inną objętość martwą i wymagać większej lub mniejszej objętości minimalnej.

** Przy pulowaniu wymagana jest dodatkowa objętość.

Oznaczenia

Na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR stosuje się następujące oznaczenia.

Tabela 40 Oznaczenia stosowane na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR

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

Pomoc techniczna

W celu uzyskania wsparcia (pomocy) technicznego należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Wytwórca i importer

Tabela 41 Wytwórca i importer



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

Made in USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Znaki towarowe i patenty

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

Prawo autorskie

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Piśmiennictwo

1. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Wersja dokumentu

Informacje dotyczące wersji dokumentu	
Doc Rev. 2.1 12/2024	Dodano informacje o wersji 2.0 oprogramowania systemów cobas ® 6800/8800. W razie jakichkolwiek pytań prosimy o kontakt z lokalnym przedstawicielem Roche.