

cobas[®] HIV-1

Kvantitativt nukleinsyratest för användning på cobas[®] 5800/6800/8800 Systems

För *in vitro*-diagnostisk användning

cobas[®] HIV-1

P/N: 09040803190

cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

P/N: 09040773190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 09051554190

Innehållsförteckning

Avsedd användning	5
Sammanfattning och förklaring av testet	5
Reagens och material	8
cobas® HIV-1-reagens och -kontroller	8
cobas omni-reagens för provberedning.....	11
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent	12
Förvaring av reagens	13
Extramaterial som behövs för cobas® 5800 System.....	15
Extramaterial som behövs för cobas® 6800/8800 Systems	15
Instrument och programvara som behövs.....	16
Försiktighetsåtgärder och information om hantering	17
Varningar och säkerhetsåtgärder	17
Reagenshantering	18
God laboratoriesed	18
Provtagning, transport och förvaring av plasmaprover.....	19
EDTA-plasmaprover.....	19
Torkade PSC-plasmaprover.....	20
Bruksanvisning	22
Anmärkningar om testet	22
Beredning av torkade PSC-plasmaprover och preanalytisk procedur	22
Köra cobas® HIV-1 på cobas® 5800 System	27
Köra cobas® HIV-1 på cobas® 6800/8800 Systems.....	29

Resultat	30
Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på cobas® 5800 System	30
Kontrollresultat på cobas® 5800 System	30
Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på cobas® 6800/8800 Systems	31
Kontrollflaggor på cobas® 6800/8800 Systems	31
Tolkning av resultat	31
Tolkning av resultat för cobas® 5800 System	32
Tolkning av resultat för cobas® 6800/8800 Systems	32
Testets begränsningar	33
Utvärdering av icke-klinisk prestanda	34
Viktiga prestandaegenskaper för EDTA-plasmaprover som körs på cobas® 6800/8800 Systems	34
Detektionsgräns (LoD)	34
Linjärt intervall	35
Precision – inom laboratoriet	36
Verifiering av subtyp	37
Specificitet	39
Analytisk specificitet	40
Analytisk specificitet – interfererande substanser	40
Metodkorrelation – prestanda jämfört med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0	41
Felfrekvens inom hela systemet	42
Korskontamination	42
Viktiga prestandaegenskaper för torkade PSC-plasmaprover	43
Detektionsgräns (LoD) med PSC-kortet	43
Linjärt intervall med PSC-kortet	44
Verifiering av subtyp med PSC	46
Specificitet med PSC	46
Felfrekvens inom hela systemet med PSC	46
Prestanda för torkade PSC-plasmaprover jämfört med plasmaprover	47

Utvärdering av klinisk prestanda.....	48
Reproducerbarhet.....	48
Validering av kvantifiering av virusmängd.....	49
Klinisk utvärdering	53
Slutsats	55
Systemekvivalens/systemjämförelse	55
Ytterligare information.....	56
Viktiga testegenskaper för EDTA-plasmaprover.....	56
Viktiga testegenskaper för torkade PSC-plasmaprover	56
Symboler	57
Teknisk support.....	58
Tillverkare och importör	58
Varumärken och patent.....	58
Copyright.....	58
Referenser.....	59
Revidering av dokumentet	61

Avsedd användning

cobas® HIV-1 är ett *in vitro*-test för nukleinsyraamplifiering för kvantifiering av humant immunbristvirus typ 1 (HIV-1) i EDTA-plasma eller från torkad plasma som erhållits via ett plasmasepareringskort cobas® Plasma Separation Card (PSC) från HIV-1-infekterade personer.

Testet är avsett att användas i kombination med en klinisk bedömning och andra laboratoriemarkörer för den kliniska hanteringen av HIV-1-infekterade patienter. Testet kan användas för att bekräfta HIV-1-infektion hos antikroppsreaktiva personer och för att bedöma patientprognosen genom att mäta baseline HIV-1-nivån eller för att övervaka effekterna av antiretroviral behandling genom att mäta förändringar i HIV-1-RNA-nivåer under den antiretrovirala behandlingen.

Sammanfattning och förklaring av testet

Bakgrund

Humant immunbristvirus (HIV) är etiologisk agens för förvärvat immunbristsyndrom (AIDS). Efter serokonversion går infekterade personer oftast in i en kliniskt stabil, relativt asymtomatisk fas som kan vara i flera år. Den asymtomatiska perioden karakteriseras av en bestående plasmaviremi vid fastställda punkter som bestäms av värdgenetiken och en gradvis minskning av CD4+ T-lymfocyter. Även om virusnivåerna i det perifera blodet är relativt låga under den asymtomatiska fasen av infektionen, verkar virusreplikering och rening vara dynamiska processer där stora delar av virusproduktionen och infektion av CD4+-celler balanseras av höga nivåer av virusrening, celldöd hos infekterade celler och förnyelse av CD4+-celler, vilket resulterar i relativt stabila nivåer av både plasmaviremi och CD4+-celler i ungefär 8 år hos en genomsnittlig person som lever med HIV.

Kvantitativa mätningar av HIV-viremi i plasma har visat att högre virusnivåer korrelerar med snabbare klinisk progression av HIV-sjukdom.^{1,2} Dessutom har närmare två decenniers klinisk forskning fastställt att minskning i plasmavirusnivåer med hjälp av antiretroviral behandling (ART) avsevärt minskar risken för klinisk progression, inklusive dödsfall, utveckling av AIDS, opportunistiska infektioner och HIV-associerad morbiditet.³ HIV-virusmängden är även prediktiv för risken för överföring av HIV, och randomiserade kontrollerade kliniska försök har fastställt att tidig påbörjan av ART med hämmande av virusmängden minskar HIV-överföringen med 96 %.⁴

Princip för HIV-1-testning

Det finns för närvarande ett stort antal antiretrovirala läkemedel som är inriktade på virusproteaset, integraset, höljet och det omvända transkriptaset. Genotypiska analyser av virus av olika klader har uppvisat naturligt förekommande och läkemedelsinducerade nukleotidförändringar, polymorfismer och sekundära mutationer inom regionerna för omvänt transkriptas, integras och proteas för HIV-1-polgenen. Resistenstestning har blivit ett viktigt diagnostiskt verktyg vid hantering av HIV-1-infektioner och påbörjas när en patients virusmängd har ökat till en nivå som kan detekteras med sekvenseringsanalys. Övervakning av virusmängd har visats minska risken för läkemedelsresistens, och kliniskt sett anses virusmängden vara en övervakande indikator för aktiv virusreplikering som förebådar virusutvecklingen hos patienter som behandlas.^{5,6} Ett flertal nationella och internationella riktlinjer rekommenderar därför att HIV-1-virusmängden ska mätas.^{3,7-9}

Under ett antal år indikerade riktlinjerna att ett viktigt mål med behandlingen var hämmande av HIV-1-virusmängden till en nivå under detektionsgränsen för ett test (t.ex. 50 kopior/ml). 2011 började riktlinjerna i USA att indikera att resultat för virusmängd på upp till 200 kopior/ml hos patienter under ART-behandling eventuellt inte indikerade en misslyckad behandling eftersom vissa patienter kan ha låg nivå av viremi utan virologiskt genombrott.³ I Europa fortsatte riktlinjerna

att säga att virusmängden ska hämmas till under 50 kopior/ml.⁷ Skillnader i det lägre intervallet mellan olika tester av virusmängd kan leda till viktiga skillnader i den kliniska tolkningen av resultaten för virusmängd vid övervakning av respons på behandling,^{10, 11} eftersom målet med behandlingen är hämmande av virus till en nivå där det är minst sannolikt att läkemedelsresistens uppstår, en nivå som ännu inte har definierats fullständigt.¹² I juli 2013 började WHO också att rekommendera användning av tester av virusmängd i sammanhang med begränsade resurser, där man definierade 1 000 kopior/ml som tröskelvärde för definition av virologisk status som kräver beslut om behandling. WHO rekommenderar nu även användning av torkade prover för att göra det möjligt att testa virusmängd i en större omfattning i områden med begränsade resurser där det saknas möjligheter till flebotomi eller där tillförlitlig transport av EDTA-plasmaprover inte kan garanteras.⁸ Torkade PSC-plasmaprover, där även HIV-RNA i den torkade plasman stabiliseras, kan utöka täckningsområdet för testning av virusmängd genom att det blir möjligt att transportera proverna längre sträckor och i mer krävande miljöer än EDTA-plasma.

Förutom att övervaka respons på behandling rekommenderar riktlinjerna bedömning av virusmängden för att avgöra om en patient vars cellräkning för CD4+ är > 500 celler/mm³ (virusmängd $> 100\,000$ kopior/ml) ska påbörja ART, och för att säkerställa att sekvensering för läkemedelsresistens lyckas hos aktuella patienter (patienter med en virusmängd $> 1\,000$ kopior/ml eller en suboptimal virusmängdsrespons på ART). Bedömning av virusmängden ska utföras prenatalt för att fastställa om förlossning med kejsarsnitt behövs för att förhindra att HIV-infektion överförs från modern till barnet (för gravida kvinnor med en virusmängd på $> 1\,000$ kopior/ml).

Förklaring av testet

cobas® HIV-1 är ett kvantitativt test som utförs på **cobas® 5800 System**, **cobas® 6800 System** eller **cobas® 8800 System**. **cobas® HIV-1** möjliggör detektion och kvantifiering av HIV-1-RNA i EDTA-plasma eller torkade PSC-plasmaprover hos infekterade patienter. Två prover används för att detektera och kvantifiera men inte diskriminera grupp M-subtyper av HIV-1 och av HIV-1 grupp O och grupp N. Virusmängden kvantifieras mot en icke-HIV-1 armored RNA-kvantifieringsstandard (RNA-QS), som tillsätts i varje prov under provbearbetningen. RNA-QS fungerar som en intern kontroll för övervakning av hela provberednings- och PCR-amplifieringsprocessen. Dessutom används tre externa kontroller i testet: en positiv med hög titer, en positiv med låg titer och en negativ kontroll. De högpositiva och lågpositiva externa kontrollerna tillverkas av spädning från stammaterial med en titer som är spårbar till WHO:s internationella standard för HIV-1. Varje amplifierings-/detektionskit-lot är kalibrerad spårbart till WHO:s internationella standard för HIV-1.

Användningsprinciper

cobas® HIV-1 är baserat på helt automatisk provberedning (extraktion och rening av nukleinsyra) följt av PCR-amplifiering och detektion. **cobas® 5800 System** är utformat som ett integrerat instrument. **cobas® 6800/8800 Systems** består av en provinmatningsmodul, överföringsmodul, processmodul och analysmodul. Automatisk datahantering utförs av **cobas® 5800-** eller **cobas® 6800/8800 System-programmen** som tilldelar testresultat för alla tester enligt följande: mål inte detekterat, $< \text{LLoQ}$ (nedre kvantifieringsgräns), $> \text{ULoQ}$ (övre kvantifieringsgräns) eller HIV-1-RNA detekterat, ett värde i det linjära intervallet $\text{LLoQ} < x < \text{ULoQ}$. Resultaten kan visas direkt i systemfönstret, exporteras eller skrivas ut som en rapport.

Nukleinsyra från patientprover, externa kontroller och tillsatta armored RNA-molekyler (RNA-QS) extraheras samtidigt. Sammanfattningsvis frisätts viral nukleinsyra genom tillsats av proteinas och lyseringsreagens i provet. Den frisatta nukleinsyran binder till kiselytan på de tillsatta magnetiska glaspartiklarna. Obundna substanser och föroreningar, till

exempel denaturerat protein, cellrester och potentiella PCR-hämmare tas bort med efterföljande tvättreagenssteg, och renad nukleinsyra elueras från de magnetiska glaspartiklarna med hjälp av elueringsbuffert vid förhöjd temperatur.

Selektiv amplifiering av mål-nukleinsyra från provet uppnås genom användning av mål-virusspecifika forward- och reverse-primers som väljs från maximalt konserverade regioner i HIV-1-genomet. HIV-1 gag-genen och HIV-1 LTR-regionen (dubbel target) amplifieras med **cobas® HIV-1**. Selektiv amplifiering av RNA-QS uppnås genom användning av sekvensspecifika forward- och reverse-primers som väljs för att inte ha någon homologi med HIV-1-genomet. Ett värmebeständigt DNA-polymerasenzym används för både reverse transcription och PCR-amplifiering. Mål- och RNA-QS-sekvenserna amplifieras samtidigt med hjälp av en universell PCR-amplifieringsprofil med fördefinierade temperatursteg och antal cykler. I master-mixen ingår deoxiuridintrifosfat (dUTP) istället för deoxitymidintrifosfat (dTTP), som inkorporerats i det nyligen syntetiserade DNA:t (amplikon).¹³⁻¹⁵ Eventuellt kontaminerande amplikon från tidigare PCR-körningar elimineras med hjälp av AmpErase-enzymet (ingår i PCR-master-mixen) under det första termocyklingssteget. Nybildade amplikon elimineras dock inte eftersom AmpErase-enzymet inaktiveras när det utsätts för temperaturer över 55 °C.

cobas® HIV-1-master-mixen innehåller två detektionsprober som är specifika för HIV-1-målsekvenserna och en som är specifik för RNA-QS. Proberna är märkta med målspecifika fluorescerande reporterfluorokromer som möjliggör samtidig detektion av HIV-1-mål och RNA-QS i två olika kanaler.^{16, 17} Fluorescenssignalen för intakta prober hämmas av en quencherfluorokrom när den inte är bunden till target-sekvensen. Under PCR-amplifieringssteget hybridiserar proberna specifikt till respektive mål på det enkelsträngade DNA:t, vilket resulterar i klyvning av proben genom 5'-till-3'-exonukleasaktiviteten i DNA-polymeraset, vilket i sin tur resulterar i separation av reporter- och quencherfluorokromen och gör att en fluorescenssignal genereras. För varje PCR-cykel genereras ökande mängder klyvda prober, och som en följd av detta ökar den sammanlagda signalen för reporterfluorokromen. Realtidsdetektion och urskiljning av PCR-produkter uppnås genom att mäta fluorescensen i de frisläppta reporterfluorokromerna för de virala målen respektive för RNA-QS.

Reagens och material

cobas® HIV-1-reagens och -kontroller

Alla öppnade reagens och kontroller ska sparas enligt rekommendationerna i Tabell 1 till Tabell 5.

Tabell 1 cobas® HIV-1

cobas® HIV-1 Förvaras i 2–8 °C Kassett med 192 tester (P/N 09040803190)		
Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit 192 tester
Proteinaslösning (PASE)	Trisbuffert, < 0,05 % EDTA, kalciumklorid, kalciumacetat, 8 % (vikt/volym) proteinas EUH210: Säkerhetsdatablad finns att rekvirera. EUH208: Innehåller subtilisin. Kan orsaka allergisk reaktion.	22,3 ml
RNA-kvantifierings- standard (RNA-QS)	Trisbuffert, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % icke-HIV-relaterad armored RNA-konstrukt som innehåller primer- och probspecifika sekvensregioner (ej infektiöst RNA i MS2-bakteriofag), < 0,1 % natriumazid	21,2 ml
Elueringsbuffert (EB)	Trisbuffert, 0,2 % metyl-4 hydroxybensoat	21,2 ml
Master Mix-reagens 1 (MMX-R1)	Manganacetat, kaliumhydroxid, < 0,1 % natriumazid	7,5 ml
HIV-1 Master Mix- reagens 2 (HIV-1 MMX-R2)	Tricinbuffert, kaliumacetat, 18 % dimetylsulfoxid, glycerol, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01% uppströms- och nedströms-HIV-primers, < 0,01 % forward- och reverse-primers för kvantifieringsstandard, < 0,01 % fluorescensmärkta oligonukleotidprober specifika för HIV och HIV-kvantifieringsstandard, < 0,01 % oligonukleotid-aptamer, < 0,1 % Z05D DNA-polymeras, < 0,10 % AmpErase-enzym (uracil-N-glykosylas) (mikrobiellt), < 0,1 % natriumazid	9,7 ml

Tabell 2 cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit Förvaras i 2–8 °C (P/N 09040773190)			
Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit	Säkerhetssymbol och varning*
HBV/HCV/HIV-1 lågpositiv kontroll (HBV/HCV/HIV-1 L(+)C)	< 0,001 % armored HIV-1 grupp M-RNA inkapslat i MS2-bakteriofagens skalprotein, < 0,001 % syntetiskt (plasmid) HBV-DNA inkapslat i Lambda-bakteriofagens skalprotein, < 0,001 % syntetiskt (armored) HCV-RNA inkapslat i MS2-bakteriofagens skalprotein, normal human plasma, icke-reaktiv enligt licensierade tester för antikropp mot HCV, antikropp mot HIV-1/2, HBsAg, antikropp mot HBc; HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA och HBV-DNA icke detekterbart med PCR-metoder 0,1 % ProClin® 300 konserveringsmedel**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  VARNING H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. P261: Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. P273: Undvik utsläpp till miljön. P280: Använd skyddshandskar. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P362 + P364: Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. P501: Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. 55965-84-9 Reaktionsmassa av: 5-klor-2-metyl-4-isothiazolin-3-on [EC-nr 247-500-7] och 2-metyl-2H-isothiazol-3-on [EC-nr 220-239-6] (3:1).
HBV/HCV/HIV-1 högpositiv kontroll (HBV/HCV/HIV-1 H(+)C)	< 0,001 % syntetiskt (armored) HIV-1 grupp M-RNA med hög titer inkapslat i MS2-bakteriofagens skalprotein, < 0,001 % syntetiskt (plasmid) HBV-DNA inkapslat i Lambda-bakteriofagens skalprotein, < 0,001 % syntetiskt (armored) HCV-RNA inkapslat i MS2-bakteriofagens skalprotein, normal human plasma, icke-reaktiv enligt licensierade tester för antikropp mot HCV, antikropp mot HIV-1/2, HBsAg, antikropp mot HBc; HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA och HBV-DNA icke detekterbart med PCR-metoder 0,1 % ProClin® 300 konserveringsmedel**	5,2 ml (8 × 0,65 ml)	  VARNING H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. P261: Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. P272: Nedstänkta arbetskläder får inte avlägsnas från arbetsplatsen. P280: Använd skyddshandskar. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P362 + P364: Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. P501: Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. 55965-84-9 Reaktionsmassa av: 5-klor-2-metyl-4-isothiazolin-3-on [EC-nr 247-500-7] och 2-metyl-2H-isothiazol-3-on [EC-nr 220-239-6] (3:1).

* Produktsäkerhetsmärkningsen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

** Farlig substans.

Tabell 3 cobas® NHP Negative Control Kit

cobas® NHP Negative Control Kit Förvaras i 2–8 °C (P/N 09051554190)			
Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit	Säkerhetssymbol och varning*
Negativ kontroll, normal human plasma (NHP-NC)	Normal human plasma, icke-reaktiv enligt licensierade tester för antikropp mot HCV, antikropp mot HIV-1/2, HBsAg, antikropp mot HBc; HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA och HBV-DNA icke detekterbart med PCR-metoder < 0,1 % ProClin® 300 konserveringsmedel**	16 ml (16 × 1 ml)	  VARNING H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. P261: Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. P272: Nedstänkta arbetskläder får inte avlägsnas från arbetsplatsen. P280: Använd skyddshandskar. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P362 + P364: Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. P501: Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. 55965-84-9 Reaktionsmassa av: 5-klor-2-metyl-4-isothiazolin-3-on [EC-nr 247-500-7] och 2-metyl-2H-isothiazol-3-on [EC-nr 220-239-6] (3:1).

* Produktsäkerhetsmärkningen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

** Farlig substans.

cobas omni-reagens för provberedning

Tabell 4 cobas omni-reagens för provberedning*

Reagens	Reagensingredienser	Kvantitet per kit	Säkerhetssymbol och varning**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Förvaras i 2–8 °C (P/N 06997546190)	Magnetiska glaspartiklar, Trisbuffert, 0,1 % metyl-4 hydroxybensoat, < 0,1 % natriumazid	480 tester	Ej tillämpligt
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Förvaras i 2–8 °C (P/N 06997511190)	Trisbuffert, 0,1 % metyl-4 hydroxybensoat, < 0,1 % natriumazid	4 × 875 ml	Ej tillämpligt
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Förvaras i 2–8 °C (P/N 06997538190)	43 % (vikt/vikt) guanidintiocyanat***, 5 % (vikt/volym) polydokanol***, 2 % (vikt/volym) ditiotreitol, natriumdivätecitrat	4 × 875 ml	 FARA H302 + H332: Skadligt vid förtäring eller vid inandning. H314: Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. EUH032: Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra. P261: Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. P273: Undvik utsläpp till miljön. P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. P303 + P361 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten. P304 + P340 + P310: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P305 + P351 + P338 + P310: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. 593-84-0 Guanidintiocyanat 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-ditioerytritol
cobas omni Wash Reagent (WASH) Förvaras i 15–30 °C (P/N 06997503190)	Natriumcitrat-dihydrat, 0,1 % metyl-4 hydroxybensoat	4,2 l	Ej tillämpligt

* Dessa reagens ingår inte i cobas® HIV-1-testkitet. Se lista med ytterligare material som behövs (Tabell 11).

** Produktsäkerhetsmärkningen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

*** Farlig substans.

cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent

Obs! Detta reagens är valfritt och ska endast användas tillsammans med PSC för att ta fram torkade plasmaprover. Se PSC-metodbladet ms_09411763190.

Tabell 5 cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent

cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent Förvaras i 2–8 °C (P/N 08064695190)			
Reagens	Reagensingredienser	Kvantitet per kit	Säkerhetssymbol och varning*
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER)	28 % (vikt/vikt) guanidintiocyanat**, 6 % (vikt/volym) polydokanol**, 1 % (vikt/volym) ditiotreitol, natriumdivätecitrat	600 ml (15 × 40 ml)	  FARA H302: Skadligt vid förtäring. H314: Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. H412: Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. EUH032: Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra. P273: Undvik utsläpp till miljön. P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. P301 + P330 + P331: VID FÖRTÄRING: Skölj munnen. Framkalla INTE kräkning. P303 + P361 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten. P304 + P340 + P310: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P305 + P351 + P338 + P310: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. 593-84-0 Guanidintiocyanat 9002-92-0 Polidokanol

* Produktsäkerhetsmärkningen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

** Farlig substans.

Förvaring av reagens

Reagens ska förvaras och hanteras enligt specifikationerna i Tabell 6, Tabell 7 och Tabell 8. **cobas®** Specimen Pre-Extraction Reagent som används i arbetsflödet för torkade PSC-plasmaprover ska förvaras och hanteras enligt specifikationerna i Tabell 9. Kraven för förvaring och hantering av PSC-kort anges i **PSC-metodbladet ms_09411763190**.

När reagensen inte är laddade i **cobas®** 5800 och **cobas®** 6800/8800 Systems ska de förvaras i den temperatur som anges i Tabell 6.

Tabell 6 Förvaring av reagens (när reagenset inte är i systemet)

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

Reagenshantering för cobas® 5800 System

Reagens som laddas i **cobas®** 5800 System förvaras i rätt temperatur och deras utgångsdatum övervakas av systemet. Systemet tillåter endast att reagens används om alla villkor som anges i Tabell 7 är uppfyllda. Systemet förhindrar automatiskt användning av reagens som har passerat utgångsdatum. Tabell 7 visar de villkor för hantering av reagens som upprätthålls av **cobas®** 5800 System.

Tabell 7 Villkor för hållbarhet för reagens som upprätthålls av **cobas®** 5800 System

Reagens	Utgångsdatum för kitet	Hållbarhet i öppnat kit	Antal körningar som kitet kan användas	Hållbarhet i instrumentet
cobas® HIV-1	Datomet har inte passerats	90 dagar från första användning	Max 40 körningar	Max 36 dagar*
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Datomet har inte passerats	Ej tillämpligt ^a	Ej tillämpligt	Max 36 dagar*
cobas® NHP Negative Control Kit	Datomet har inte passerats	Ej tillämpligt ^a	Ej tillämpligt	Max 36 dagar*
cobas omni Lysis Reagent	Datomet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni MGP Reagent	Datomet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Specimen Diluent	Datomet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Wash Reagent	Datomet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt

^a Reagens för engångsbruk.

* Tiden mäts från första gången reagenset laddas i **cobas®** 5800 System.

Reagenshantering för cobas® 6800/8800 Systems

Reagens som laddas i cobas® 6800/8800 Systems förvaras i rätt temperatur och deras utgångsdatum övervakas av systemet. cobas® 6800/8800 Systems tillåter endast att reagens används om alla villkor som anges i Tabell 8 är uppfyllda. Systemet förhindrar automatiskt användning av reagens som har passerat utgångsdatum. Tabell 8 visar de villkor för hantering av reagens som upprätthålls av cobas® 6800/8800 Systems.

Tabell 8 Villkor för hållbarhet för reagens som upprätthålls av cobas® 6800/8800 Systems

Reagens	Utgångsdatum för kitet	Hållbarhet i öppnat kit	Antal körningar som kitet kan användas	Hållbarhet i instrumentet (sammanlagd tid i instrumentet utanför kylskåp)
cobas® HIV-1	Datumet har inte passerats	90 dagar från första användning	Max 40 körningar	Max 40 timmar
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	Datumet har inte passerats	Ej tillämpligt ^a	Ej tillämpligt	Max 8 timmar
cobas® NHP Negative Control Kit	Datumet har inte passerats	Ej tillämpligt ^a	Ej tillämpligt	Max 10 timmar
cobas omni Lysis Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni MGP Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Specimen Diluent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt
cobas omni Wash Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från laddning*	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt

^a Reagens för engångsbruk.

* Tiden mäts från första gången reagenset laddas i cobas® 6800/8800 Systems.

cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent är hållbart till angivet utgångsdatum. I öppnad förpackning är reagenset hållbart i 30 dagar om det förvaras i 2–8 °C inklusive sammanlagt 13 timmar i 30 °C, dock längst till det utgångsdatum som anges i Tabell 9.

Tabell 9 cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent, villkor för hållbarhet

Reagens	Utgångsdatum för kitet	Hållbarhet i öppnat kit	Antal körningar som kitet kan användas	Hållbarhet i 30 °C utanför kylskåp (sammanlagd tid)
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent	Datumet har inte passerats	30 dagar från första användning	Ej tillämpligt	Max 13 timmar

Extramaterial som behövs för cobas® 5800 System

Tabell 10 Material och förbrukningsartiklar för användning på cobas® 5800 System

Material	P/N
cobas omni Processing Plate 24	08413975001
cobas omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Tip CORE TIPS med filter, 1 ml	04639642001
Tip CORE TIPS med filter, 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
Påse för fast avfall eller Påse för fast avfall med insats	07435967001 eller 08030073001

Extramaterial som behövs för cobas® 6800/8800 Systems

Tabell 11 Material och förbrukningsartiklar för användning på cobas® 6800/8800 Systems

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
Påse för fast avfall och behållare för fast avfall eller Påse för fast avfall med insats och kit-låda	07435967001 och 07094361001 eller 08030073001 och 08387281001

Tabell 12 Övrigt material och förbrukningsartiklar som krävs endast för användning av torkade PSC-plasmaprover

Material
Plasmasepareringskort cobas® Plasma Separation Card (P/N 07963084190 eller P/N 09411763190)*
Tänger eller pincetter, antingen sterila eller avsedda för engångsbruk**
140 µl-kapillär (t.ex. Vitrex-plaströr) med kompatibel dispenser (t.ex. Vitrex-pipethållare)*
Lansett för engångsbruk (t.ex. Greiner Bio-one: MiniCollect®-säkerhetslansett med penetrationsdjup 2,00 mm)*
Provpåse (av transparent plast, med återförslutningsbart ziplock) och torkmedelspåsar med kiselgel (för totalt 4 gram) (för förvaring och transport av PSC, se PSC-metodbladet ms_09411763190)
Transportpåse (t.ex. Wicoseal 180 × 60 × 240 mm)
Pipett (t.ex. Multistep®-pipett)
Eppendorf Thermomixer® (t.ex. modell R 5355 eller C eller motsvarande) med termoblock för 24 kryorör
Rör, 5 ml, invändig gänga, 12,5 mm diameter, polypropylen (dvs. Greiner Bio-one Cryo.s™) med lock

* Mer information om PSC-provtagning finns i **PSC-metodbladet ms_09411763190**.

** Använd en ny tång för varje patient för att förhindra överföring av smitta! Vi rekommenderar att du använder metalltänger som autoklaveras efter att de har använts en gång.

Instrument och programvara som behövs

cobas® 5800 System-programmet och **cobas®** HIV-1-analyspaketet för **cobas®** 5800 System måste installeras på instrumentet **cobas®** 5800. Programmet Data Manager och en pc för **cobas®** 5800 System medföljer systemet.

cobas® 6800/8800 Systems-programmet och **cobas®** HIV-1-analyspaketet för **cobas®** 6800/8800 Systems måste installeras på instrumentet/instrumenten. För användning av torkade PSC-plasmaprover på **cobas®** 6800/8800 Systems ska **cobas®** HIV-PSC ASAP (Assay Specific Analysis Package) installeras på de aktuella instrumenten. IG-servern (Instrument Gateway) medföljer systemet.

Tabell 13 Instrument

Utrustning	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System (flyttbart alternativ)	05524245001 och 06379672001
cobas® 6800 System (fast plattform)	05524245001 och 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Provinmatningsmodul	06301037001

Mer information finns i användarassistenten och/eller användarhandboken till **cobas®** 5800 System eller **cobas®** 6800/8800 Systems.

Obs! Kontakta Roche kundsupport om du vill ha en detaljerad beställningslista över provrack, rack för igensatta spetsar och rackbrickor som kan användas på instrumenten.

Försiktighetsåtgärder och information om hantering

Varningar och säkerhetsåtgärder

Liksom för alla testmetoder är det mycket viktigt att använda god laboratorieled för att denna analys ska fungera korrekt. Med hänsyn till testets höga sensitivitet är noggrann hantering nödvändig så att reagens- och amplifieringsblandningarna hålls rena.

- Endast för *in vitro*-diagnostisk användning.
- **cobas® HIV-1** har inte utvärderats för användning som ett screeningtest för förekomst av HIV-1 i blod eller blodprodukter.
- Alla patientprover ska hanteras som smittbärande material i enlighet med säkra laboratorierutiner som beskrivs i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories och i CLSI-dokumentet M29-A4.^{18, 19} Endast personal som har erfarenhet av att hantera smittbärande material och att använda **cobas® HIV-1** och **cobas® 5800/6800/8800 Systems** får utföra denna procedur.
- Allt material av humant ursprung ska betraktas som potentiellt smittbärande och hanteras enligt allmänna säkerhetsföreskrifter. Om spill sker, desinficera omedelbart med en färsk lösning bestående av natriumhypoklorit 0,5 % i destillerat eller avjoniserat vatten (hushållsblekmedel utspätt 1:10) eller följ de lokala rutinerna.
 - Om spill sker av torkade PSC-plasmaprover i **cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent** (som innehåller guanidintiocyanat) ska du se till att det inte kommer i kontakt med desinficeringsmedel som innehåller natriumhypoklorit, till exempel blekmedel. Denna blandning kan bilda en mycket giftig gas.
- **cobas® HBV/HCV/HIV-1-kontrollkitet** och **cobas® NHP negativ kontroll-kitet** innehåller plasma som härstammar från humant blod. Källmaterialet har testats med licensierade antikroppstester och befunnits icke-reaktivt för antikropp mot HCV, antikropp mot HIV-1/2, HBsAg och antikropp mot HBc. Testning av normal human plasma med PCR-metoder visade inte något detekterbart HIV-1-RNA (grupperna M och O), HIV-2-RNA, HCV-RNA och HBV-DNA. Det finns inga testmetoder som garanterar att produkter från humant blod inte kan överföra smitta.
- Fler varningar och säkerhetsåtgärder finns i **PSC-metodbladet ms_09411763190**.
- **Frys inte helblod eller prover som sparas i primärrör.**
- **cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent** är ljuskänsligt och levereras i ljusskyddade flaskor.
- Använd endast de förbrukningsartiklar som medföljer eller efterfrågas för att säkerställa optimal testprestanda.
- Säkerhetsdatablad (SDS) erhålls på begäran från Roche kundsupport.
- Följ noga de rutiner och riktlinjer som medföljer för att säkerställa att testet utförs korrekt. Avvikelse från rutinerna och riktlinjerna kan göra att testets prestanda inte blir optimal.
- Falskt positiva resultat kan förekomma om kontrollen av carryover av prover är otillräcklig vid provhantering och -bearbetning.
- Informera berörd lokal myndighet om eventuella allvarliga incidenter som inträffar när du använder den här analysen.

Reagenshantering

- Hantera alla reagens, kontroller och prover enligt god laboratorieled för att förhindra carryover av prover eller kontroller.
- Kontrollera varje reagenskassett, spädningslösning, lyseringsreagens och tvättreagens före användning och försäkra dig om att det inte finns tecken på läckage. Använd inte material om det finns tecken på läckage.
- **cobas omni** Lysis Reagent innehåller guanidintiocyanat, en potentiellt farlig kemikalie. Undvik att reagens kommer i kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Tvätta omedelbart med rikliga mängder vatten vid eventuell kontakt. Brännskador kan annars uppstå.
- **cobas® HIV-1-kit**, **cobas omni** MGP Reagent och **cobas omni** Specimen Diluent innehåller natriumazid som konserveringsmedel. Undvik att reagens kommer i kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Tvätta omedelbart med rikliga mängder vatten vid eventuell kontakt. Brännskador kan annars uppstå. Vid spill av dessa reagens, späd med vatten innan spillet torkas upp.
- Låt inte **cobas omni** Lysis Reagent eller **cobas®** Specimen Pre-Extraction Reagent, som innehåller guanidintiocyanat, komma i kontakt med natriumhypokloritlösning (blekmedel). Denna blandning kan bilda en mycket giftig gas.
- Kassera allt material som har kommit i kontakt med prover och reagens enligt gällande nationella, regionala och lokala föreskrifter.

God laboratorieled

- Pipettera inte med munnen.
- Ät, drick eller rök inte i laboratoriet.
- Använd laboratoriehandskar, laboratorierock och ögonskydd när du hanterar prover och reagens. Handskar ska bytas mellan hantering av prover och **cobas® HIV-1-kit** och **cobas omni**-reagens för att förhindra kontaminering. Undvik att förorena handskarna när du hanterar prover och kontroller.
- Tvätta händerna noga efter hantering av prover och kitets reagens, och efter att du har tagit av dig handskarna.
- Rengör och desinficera noga alla arbetsytor i laboratoriet med en nyberedd lösning bestående av 0,5 % natriumhypoklorit i destillerat eller avjoniserat vatten (hushållsblekmedel utspätt 1:10). Torka därefter av ytan med 70-procentig etanol.
- Om spill förekommer på **cobas® 5800**-instrumentet ska anvisningarna i användarassistansen och/eller användarhandboken till **cobas® 5800 Systems** följas för att rengöra och dekontaminera ytan på instrumentet på rätt sätt.
- Om spill förekommer på **cobas® 6800/8800**-instrumentet ska anvisningarna i användarassistansen och/eller användarhandboken till **cobas® 6800/8800 Systems** följas för att rengöra och dekontaminera ytan på instrumentet på rätt sätt.

Provtagning, transport och förvaring av plasmaprover

Obs! Hantera alla prover och kontroller som potentiellt smittbärande.

Förvara alla prover vid de angivna temperaturerna.

Provernans hållbarhet påverkas vid förhöjda temperaturer.

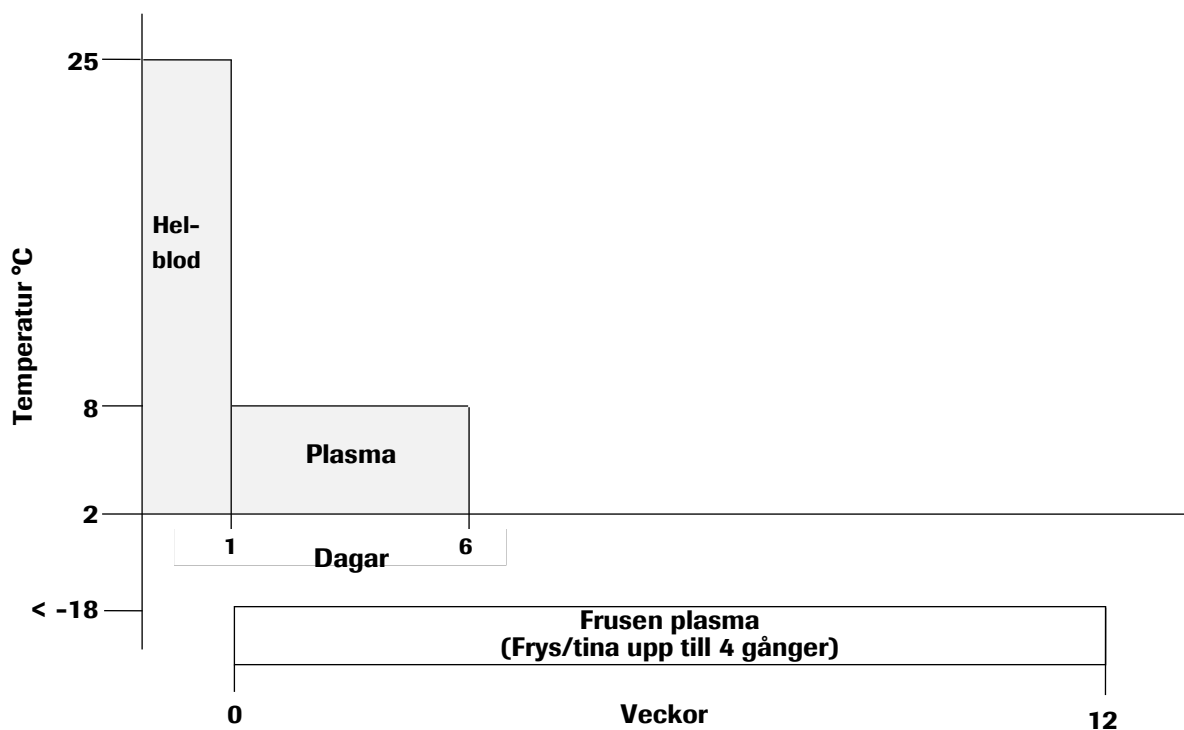
Om du använder frusna prover i sekundärrör placerar du proverna i rumstemperatur (15–30 °C) tills de är helt tinade, och sedan blandar du dem en kort stund (t.ex. genom att vortexa 3–5 sekunder) och centrifugerar dem för att samla hela provvolymen i botten av röret.

Obs! Om det finns en risk att celler har resuspenderats i plasman efter centrifugeringen bör du centrifugera om innan bearbetning i instrumentet.

EDTA-plasmaprover

- Helblod ska samlas upp i BD Vacutainer® PPT™-plasma-preparationsrör för molekyldiagnostiska testmetoder eller i sterila rör med EDTA som antikoagulant. Följ provrörstillverkarens instruktioner. Se Bild 1.
- Helblod som samlats in i EDTA-rör kan förvaras och/eller transporteras i upp till 24 timmar i 2 °C till 25 °C innan plasmapreparation. Centrifugering ska utföras enligt tillverkarens instruktioner.
- Efter separation kan EDTA-plasmaprover förvaras i sekundärrör upp till 6 dagar i 2 °C till 8 °C eller i upp till 12 veckor i ≤ -18 °C. Vid längre förvaring rekommenderas temperaturer på ≤ -60 °C.
- Plasmaprover är hållbara i upp till fyra frys/tiningscykler om de fryses i ≤ -18 °C.

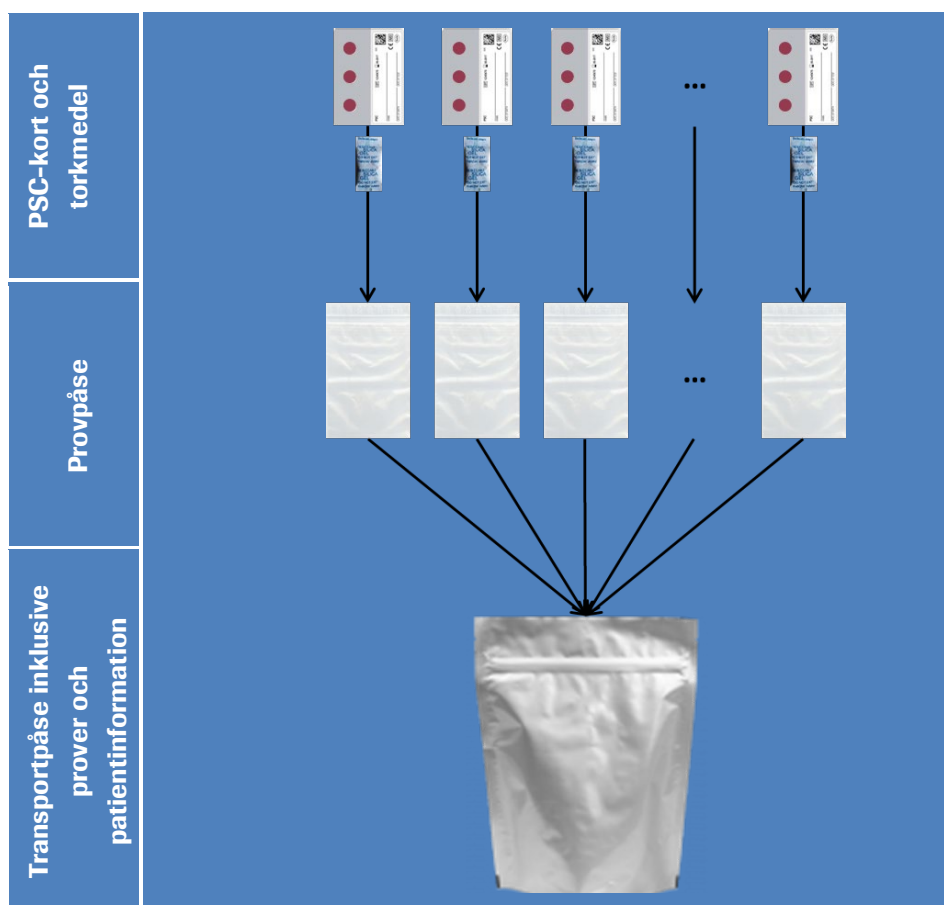
Bild 1 Villkor för förvaring av EDTA-plasmaprover



Om prover ska transporteras ska de förpackas och etiketteras i enlighet med nationella och/eller internationella föreskrifter för transport av prover och etiologiska agens.

Torkade PSC-plasmaprover

- Använd lämpliga kliniska procedurer för att samla in torkade PSC-plasmaprover (se **PSC-metodbladet ms_09411763190**).
- Kontrollera utgångsdatumet för PSC-kortet och fortsätt endast om PSC-kortet inte har passerat utgångsdatumet.
- Kontrollera att den förseglade påsen med PSC-kortet är helt försluten och oskadad.
- Märk PSC-kortet med patientens namn, födelsedatum samt datum och tid för provtagningen.
- Använd en lämplig kapillär och dispenser för att tillsätta 140 µl helblod i varje cirkel på PSC-membranet som avgränsas av spotting-lagret. Vi rekommenderar att du tillsätter blod på alla tre skivorna på PSC-kortet för att möjliggöra omtestning.
- Tillsätt inte blodprover från mer än en patient på ett PSC-kort.
- Se till att membranen inte kommer i kontakt med handskar, instrument eller andra ytor som kan vara kontaminerade under processen.
- Kontrollera att BÅDA sidorna på PSC-skivorna (framsidan: membran med blod; baksidan: skiva med plasma) är mättade efter 5 minuter. Kontrollera baksidan genom det transparenta lagret på baksidan.
- Låt PSC-kortet torka i rumstemperatur i minst 4 timmar (som längst över natten) och skydda det mot direkt solljus.
- Ta inte bort spotting-lagret. Detta görs på laboratoriet, innan provextraktionen.
- Efter torkningen ska PSC-kortet läggas i en individuell provpåse tillsammans med 4 gram torkmedel. Förslut påsen. De insamlade provpåsarerna måste förpackas i en transportpåse tillsammans med de tillhörande patientinformationsbladen. Vi rekommenderar att maximalt 25 PSC-kort förpackas i en transportpåse (en översikt finns i Bild 2).

Bild 2 Översikt över förpackningsproceduren för transport av PSC-kort

- Om prover ska transporteras ska de förpackas och etiketteras i enlighet med nationella och/eller internationella föreskrifter för transport av prover och etiologiska agens. PSC-kort kan transporteras i 28 dagar i 18–45 °C och upp till 85 % luftfuktighet innan de analyseras. PSC-kort i individuella provpåsar med 4 gram torkmedel som i sin tur ligger i en transportpåse kan förvaras i rumstemperatur (18–30 °C), i 2–8 °C eller i ≤ -10 °C i upp till 56 dagar efter transport (med och utan lagerseparering).

Bruksanvisning

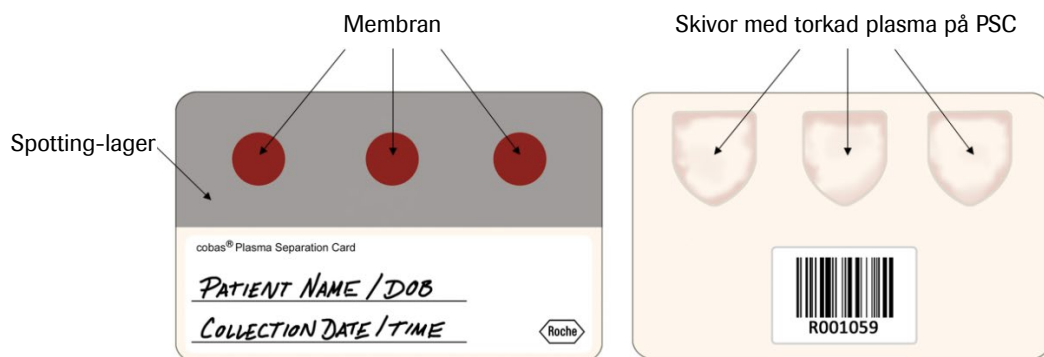
Anmärkningar om testet

- Använd inte **cobas®** HIV-1-testreagens, **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, **cobas®** NHP Negative Control Kit eller **cobas omni**-reagens efter utgångsdatum.
- Återanvänd inte förbrukningsartiklar. De är endast avsedda för engångsbruk.
- I användarassistenten och/eller användarhandboken till **cobas®** 5800 System eller **cobas®** 6800/8800 Systems finns instruktioner om hur underhåll av instrumenten ska utföras.

Beredning av torkade PSC-plasmaprover och preanalytisk procedur

- Kontrollera att transportpåsen är intakt innan du öppnar den. Fortsätt endast om transportpåsen är fullständigt försluten.
- Öppna transportpåsen och fortsätt sedan endast om följande villkor är uppfyllda för varje provpåse:
 - Laboratoriets beställningsformulär är helt ifyllt.
 - Streckkoden på laboratoriets beställningsformulär och PSC-kortet överensstämmer.
 - Provpåsen är helt försluten och innehåller ett PSC-kort med 4 gram torkmedel.
 - Ett datum för provtagningen är angivet, och provtagningen utfördes de senaste 28 dagarna och innan utgångsdatumet för PSC-kortet (se Bild 3).
 - PSC-kortet har inte passerat utgångsdatumet.
 - Skivan med torkad plasma på PSC-kortet ser homogen ut på framsidan och är helt täckt med plasma när den observeras från baksidan (se Bild 3).

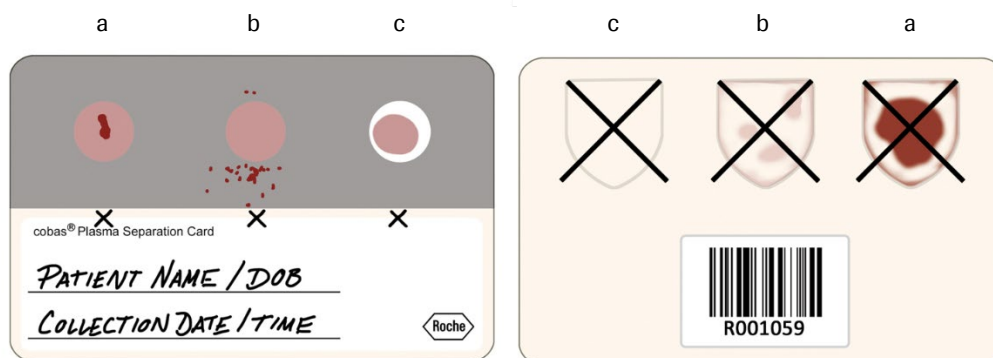
Bild 3 Skivor med torkad plasma på PSC-kortet som ska bearbetas (till vänster: framsidan, till höger: baksidan)



- Skivorna med torkad plasma på PSC ska markeras och avvisas om:
 - det syns blodspill (Bild 4b) eller om membranet inte är helt täckt med blod (Bild 4c) och området på PSC-skivans framsida därför inte är homogent och/eller om en baksida inte är helt täckt med plasma (syns genom racket).
 - membranet är skadat (Bild 4a) och området på PSC-skivans framsida därför inte är homogent och baksidan är mörkröd-brunaktig (syns genom racket).

Obs! De tre skivorna är avsedda för omtestning. Ett PSC-kort kan innehålla en skiva med dålig kvalitet, men ändå tillhandahålla prover som är bra testmaterial. Märk ut skivorna med dålig kvalitet tydligt så att det är enkelt att känna igen dem. Märk dem inte på spotting-lagret. Jämför alltid de tre skivorna med varandra för att bedöma kvaliteten på dem.

Bild 4 Avvisningskriterier för PSC-skivor (till vänster: framsida; till höger: baksida) Skivor där det finns spill (b), där membranet inte är täckt (c) eller där membranet är synligt skadat (a) ska inte bearbetas. Skivor som avvisas ska markeras tydligt.

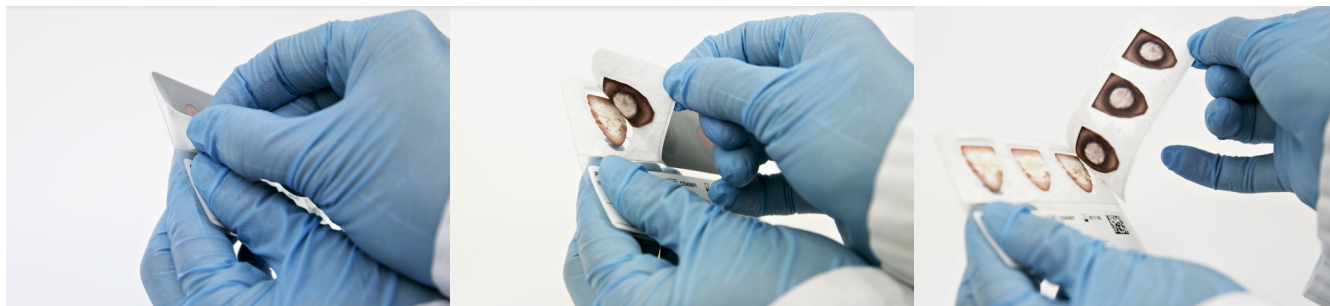


- Märk ett rör (5 ml, invändig gänga, 12,5 mm diameter, polypropylen [dvs. Greiner Bio-one Cryo.s™]) för varje PSC-kort med motsvarande streckkod på laboratoriets beställningsformulär (Bild 5) och placera dem i ett rack. Flytta rören till en laminärflödesbänk tillsammans med provpåsarna som innehåller PSC-korten. I användarassistansen och/eller användarhandboken till **cobas® 5800** och **cobas® 6800/8800 Systems** finns instruktioner om korrekt streckkodsmärkning.

Bild 5 Märkning av röret med motsvarande streckkod för PSC-kortet



- Ta bort locken från rören under laminärflödesbänken.
- Öppna provpåsen för det valda PSC-kortet och ta bort spotting-lagret (Bild 6).

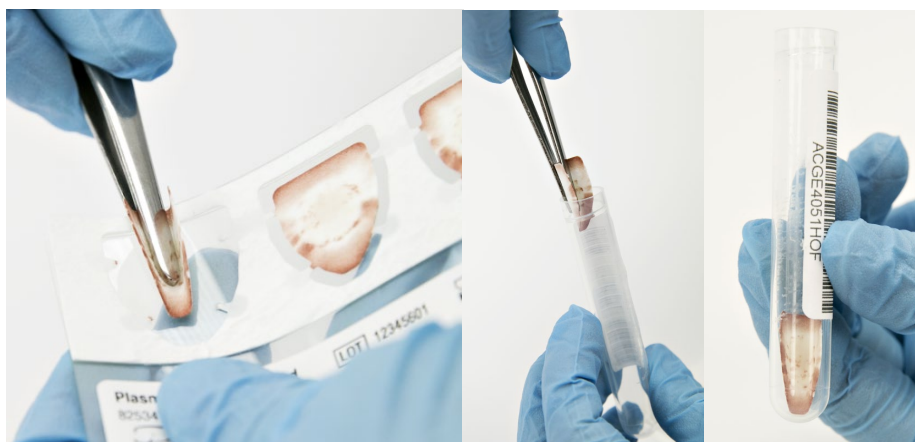
Bild 6 Borttagning av spotting-lagret

- Böj PSC-kortet något och ta bort en skiva med torkad plasma med en steril tång eller pincett genom att dra den uppåt. Böj den borttagna skivan med torkad plasma på PSC-kortet för att göra det enklare att föra in den i röret (Bild 7). Använd en tång eller pincett per patient.

Obs! Skivor med torkad plasma kan bli sköra vid förvaring. Se information om krav på förvaring av PSC-kort. Hantera dem varsamt när de sätts in i röret.

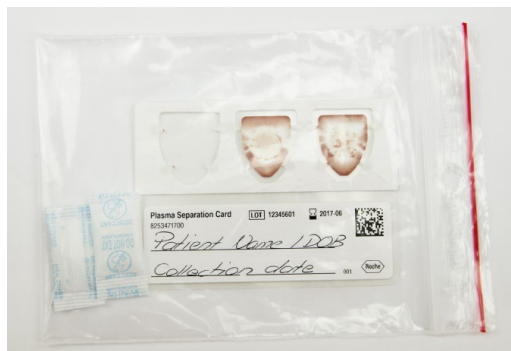
Bild 7 Borttagning och böjning av PSC-skivan med torkad plasma

- Överför en böjd PSC-skiva med torkad plasma till motsvarande rör så att den nedre spetsen på PSC-skivan med torkad plasma når ned till botten på röret och fäster på rörets vägg. Detta görs för att förhindra pipetteringsfel (Bild 8). Ändra läge för PSC-skivan med torkad plasma med en steril pipettspets om det behövs. Kontrollera att röret och PSC-kortet för den överförda PSC-skivan med torkad plasma har samma streckkod.

Bild 8 Överföring av PSC-skiva med torkad plasma till röret

- Lätt tillbaka PSC-kortet med de återstående skivorna med torkad plasma i den ursprungliga provpåsen med 4 gram nytt torkmedel för eventuell omtestning (Bild 9). PSC-kort kan förvaras i 56 dagar efter transport med och utan separerat spotting-lager (i 18–30 °C, 2–8 °C eller i ≤ –10 °C).

Bild 9 PSC-kort i provpåse för eventuell omtestning



- Låt cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER) värmas till rumstemperatur innan det används. Pipettera 1 300 µl SPER i rören som innehåller PSC-skivorna med torkad plasma (Bild 10) och förslut rören. Kontrollera att rören är ordentligt förslutna för att förhindra avdunstning.

Bild 10 Tillsättning av 1 300 µl SPER



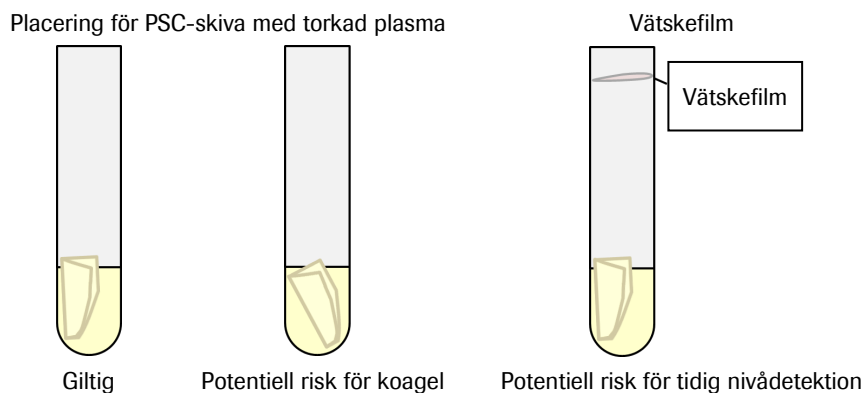
- Placera rören i position 1–24 i en förvärmad Eppendorf Thermomixer® (t.ex. modell R 5355 eller C eller motsvarande) med termoblock för 24 kryorör och inkubera i 10 minuter i 56 °C och 1 000 rpm för att extrahera viruset från den torkade plasman (Bild 11). Starta inkuberingen direkt efter tillsättningen av SPER.

Bild 11 Inkubering

- Överför rören till ett provrack och ta bort locken från ett rör i taget för att minimera risken för överföring av smitta (Bild 12). Byt handskar när alla lock har tagits bort.

Bild 12 Borttagning av lock från rören

- Kontrollera att PSC-skivan med torkad plasma är korrekt placerad längs rörets vägg (Bild 13) för att undvika att koagel bildas. Ändra läge för PSC-skivan med torkad plasma med en steril pipettspets om det behövs.
- Ta bort eventuell vätskefilm som finns ovanför ytan med hjälp av en steril pipettspets (för att undvika tidig nivådetektion).
- Sätt in rören i **cobas**® 5800 System eller **cobas**® 6800/8800 Systems.

Bild 13 Beredning av PSC-skiva med torkad plasma innan det analytiska arbetsflödet

Obs! Kontrollera att du har tagit bort all eventuell vätskefilm som har bildats under processen.

Köra cobas® HIV-1 på cobas® 5800 System

Krav för körning av cobas® HIV-1 är två minimiprovvolymer på 350 µl (för provarbetsflödet med 200 µl) och 650 µl (för provarbetsflödet med 500 µl). En detaljerad beskrivning av testproceduren finns i användarassistansen och/eller användarhandboken till cobas® 5800 System. Bild 14 sammanfattar proceduren nedan.

cobas® HIV-1 kan köras med 1 300 µl cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (för PSC-provarbetsflödet med 850 µl). Observera att PSC-arbetsflödet för cobas® HIV-1 kan köras i fleranalysformat med plasma- eller serumprover och cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative-proceduren för torkade blodprover. En detaljerad beskrivning av testproceduren finns i användarassistansen och/eller användarhandboken till cobas® 5800 System. Bild 14 sammanfattar proceduren även för torkade PSC-plasmaprover.

Kontrollera att rätt provtyp (PSC) och rätt ASAP används (cobas® HIV-PSC ASAP) innan du startar testproceduren.

Bild 14 cobas® HIV-1-testprocedur på cobas® 5800 System

1	Logga in i systemet
2	Ladda prover i systemet: • Ladda provrack i systemet • Systemet förbereds automatiskt • Beställ tester
3	Fyll på reagens och förbrukningsartiklar vid uppmaning från systemet: • Ladda testspecifika reagenskassetter • Ladda kontroll-minirack • Ladda processpetsar • Ladda elueringspetsar • Ladda processplattor • Ladda vätskeavfallsplattor • Ladda amplifieringsplattor • Ladda MGP-kassett • Fyll på spädningsbuffert • Fyll på lyseringsreagens • Fyll på tvättreagens
4	Starta körningen genom att trycka på knappen "Start processing" (Starta bearbetning) i användargränssnittet. Alla efterföljande körningar startar automatiskt om de inte skjuts upp manuellt
5	Granska och exportera resultat
6	Förslut alla provrör som uppfyller kraven för minimivolym för framtida användning om det behövs Gör i ordning instrumentet: • Mata ut tomma kontroll-minirack • Mata ut tomma testspecifika reagenskassetter • Töm lådan för amplifieringsplattan • Töm vätskeavfallet • Töm det fasta avfallet

Köra cobas® HIV-1 på cobas® 6800/8800 Systems

Krav för körning av cobas® HIV-1 är två minimiprovvolymer på 350 µl (för provarbetsflödet med 200 µl) och 650 µl (för provarbetsflödet med 500 µl). En detaljerad beskrivning av testproceduren finns i användarassistansen och/eller användarhandboken till cobas® 6800/8800 Systems. Bild 15 sammanfattar proceduren nedan.

cobas® HIV-1 kan köras med 1 300 µl cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (för PSC-provarbetsflödet med 850 µl). Observera att PSC-arbetsflödet för cobas® HIV-1 endast har utvärderats i fleranalysläge med cobas® HIV-1/HIV-2 Qualitative-arbetsflödet för torkade blodprover. En detaljerad beskrivning av testproceduren finns i användarassistansen och/eller användarhandboken till cobas® 6800/8800 Systems. Bild 15 sammanfattar proceduren även för torkade PSC-plasmaprover.

Kontrollera att rätt provtyp (PSC) och rätt ASAP används (cobas® HIV-PSC ASAP) innan du startar testproceduren.

Bild 15 cobas® HIV-1-testprocedur på cobas® 6800/8800 Systems

1	Logga in i systemet Tryck på Start för att förbereda systemet Beställ tester
2	Fyll på reagens och förbrukningsartiklar vid uppmaning från systemet • Ladda testspecifik reagenskasset • Ladda kontrollkassetter • Ladda pipettspetsar • Ladda processplattor • Ladda MGP-reagens • Ladda amplifieringsplattor • Fyll på spädningsbuffert • Fyll på lyseringsreagens • Fyll på tvättreagens
3	Ladda prover i systemet • Ladda provrack och racket för igensatta spetsar påProvinmatningsmodulen • Bekräfta att proverna har tagits emot i överföringsmodulen
4	Starta körningen genom att trycka på knappen "Start manually" (Starta manuellt) i användargränssnittet eller låt körningen starta automatiskt efter 120 minuter eller om provomgången är full
5	Granska och exportera resultat
6	Förslut alla provrör som uppfyller kraven för minimivolymer för framtida användning om det behövs Gör i ordning instrumentet • Mata ut tomma kontrollkassetter • Töm lådan för amplifieringsplattan • Töm vätskeavfallet • Töm det fasta avfallet

Resultat

cobas® 5800 System och **cobas® 6800/8800 Systems** fastställer automatiskt HIV-1-RNA-koncentrationen för proverna och kontrollerna. HIV-1-RNA-koncentrationen uttrycks i kopior per milliliter (kp/ml) eller i internationella enheter per milliliter (IU/ml). Omvandlingsfaktorn för **cobas® HIV-1** är 0,6 kp/IU.

Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på **cobas® 5800 System**

- En negativ kontroll [(-) C] och två positiva kontroller, en lågpositiv kontroll [HIV-1 L(+)C] och en högpositiv kontroll [HIV-1 H(+)C] bearbetas minst var 72:a timme eller i varje ny kitlot. Positiva och/eller negativa kontroller kan schemaläggas mer frekvent baserat på laboratorierutinerna och/eller de gällande bestämmelserna.
- Kontrollera om det finns flaggor till resultaten i **cobas® 5800**-programmet och/eller i rapporten för att säkerställa giltigheten för provomgången.
- Provomgången är giltig om inga flaggor visas för samtliga tre kontroller, vilket inkluderar en negativ kontroll och två positiva kontroller: HIV-1 L(+)C, HIV-1 H(+)C. Resultatet för den negativa kontrollen visas som (-) C och den lågpositiva och högpositiva kontrollen visas som HxV L(+)C och HxV H(+)C.

Ogiltigförklarande av resultat utförs automatiskt av **cobas® 5800**-programmet baserat på misslyckade negativa eller positiva kontroller.

OBS! **cobas® 5800 System** levereras med standardinställningen för körning av en uppsättning kontroller (positiva och negativa) i varje körning, men kan konfigureras till ett mindre frekvent körschema på upp till var 72:a timme, baserat på laboratorierutinerna och/eller de gällande bestämmelserna. Kontakta Roche kundsupport om du vill ha mer information.

Kontrollresultat på **cobas® 5800 System**

Resultaten för kontrollerna visas i **cobas® 5800**-programmet i appen "Controls".

- Kontroller är markerade med "Valid" (Giltig) i kolumnen "Control result" (Kontrollresultat) om alla targets för kontrollen har rapporterats som giltiga. Kontroller är markerade med "Invalid" (Ogiltig) i kolumnen "Control result" (Kontrollresultat) om alla targets eller en target för kontrollen har rapporterats som ogiltig.
- Kontroller som är markerade med "Invalid" (Ogiltig) har en flagga i kolumnen "Flags" (Flaggor). Mer information om varför kontrollen har rapporterats som ogiltig (inklusive flagginformation) visas i vyn med detaljerad information.
- Om en av de positiva kontrollerna är ogiltig upprepar du testningen av alla positiva kontroller och alla associerade prover. Om den negativa kontrollen är ogiltig upprepar du testningen av alla kontroller och alla associerade prover.

Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten på cobas® 6800/8800 Systems

- En negativ kontroll (–) C och två positiva kontroller, en lågpositiv kontroll HIV-1 L(+)C och en högpositiv kontroll HIV-1 H(+)C bearbetas i varje provomgång.
- Kontrollera om det finns flaggor till resultaten i cobas® 6800/8800-programmet och/eller i rapporten för att säkerställa giltigheten för provomgången.
- Provomgången är giltig om inga flaggor visas för samtliga tre kontroller, vilket inkluderar en negativ kontroll och två positiva kontroller: HIV-1 L(+)C, HIV-1 H(+)C. Resultatet för den negativa kontrollen visas som (–) C och den lågpositiva och högpositiva kontrollen visas som HxV L(+)C och HxV H(+)C.

Ogiltigförklarande av resultat utförs automatiskt av cobas® 6800/8800-programmet baserat på misslyckade negativa och positiva kontroller.

Kontrollflaggor på cobas® 6800/8800 Systems

Tabell 14 Kontrollflaggor för negativa och positiva kontroller

Negativ kontroll	Flagga	Resultat	Betydelse
(–) C	Q02 (Misslyckad kontrollbatch)	Ogiltig	Ett ogiltigt resultat eller det beräknade titerresultatet för den negativa kontrollen är inte negativt.
Positiv kontroll	Flagga	Resultat	Betydelse
HxV L(+)C	Q02 (Misslyckad kontrollbatch)	Ogiltig	Ett ogiltigt resultat eller det beräknade titerresultatet för den lågpositiva kontrollen ligger inte inom det tilldelade intervallet.
HxV H(+)C	Q02 (Misslyckad kontrollbatch)	Ogiltig	Ett ogiltigt resultat eller det beräknade titerresultatet för den högpositiva kontrollen ligger inte inom det tilldelade intervallet.

Om omgången är ogiltig måste du upprepa testningen av hela omgången inklusive prover och kontroller.

HxV L(+)C står för cobas® HBV/HCV/HIV-1 lågpositiv kontroll och HxV H(+)C står för cobas® HBV/HCV/HIV-1 högpositiv kontroll i cobas® 6800/8800-programmet.

Tolkning av resultat

För en giltig kontrollomgång ska varje enskilt prov kontrolleras avseende flaggor i cobas® 5800 System- och cobas® 6800/8800 Systems-programmen och/eller i rapporter. Tolkningen av resultaten ska göras på följande sätt:

- En giltig omgång kan innehålla både giltiga och ogiltiga provresultat.

Tabell 15 Tolkning av enskilda target-resultat

Resultat	Betydelse
Target Not Detected	HIV RNA inte detekterat. Rapportera resultat som "HIV not detected".
< Titer Min	Beräknad titer ligger under analysens nedre kvantifieringsgräns (LLOQ). Rapportera resultat som "HIV detected, less than (Titer Min)". Titer min = 20 kp/ml och 33 IU/ml (500 µl plasma) Titer min = 50 kp/ml och 83 IU/ml (200 µl plasma) Titer min = 790 kp/ml och 1 317 IU/ml (PSC)
Titer	Beräknad titer ligger inom analysens linjära intervall – större än eller lika stor som Titer Min och mindre än eller lika stor som Titer Max. Rapportera resultat som "(Titer) of HIV-1 detected".
> Titer Max ^a	Beräknad titer ligger över analysens övre kvantifieringsgräns (ULOQ). Rapportera resultat som "HIV detected, greater than (Titer Max)". Titer max = 1,00E+07 kp/ml och 1,67E+07 IU/ml (500 µl, 200 µl och PSC)

^a Provresultat > Titer Max hänvisar till HIV-1-positiva prover som detekterats med titrar över analysens övre kvantifieringsgräns (ULOQ). Om ett kvantitativt resultat önskas ska det ursprungliga provet spädas med HIV-1-negativ EDTA-plasma, beroende på det ursprungliga provets typ, och testet upprepas. Multiplicera det rapporterade resultatet med spädningsfaktorn.

Tolkning av resultat för cobas® 5800 System

Resultaten för proverna visas i **cobas® 5800**-programmet i appen "Results".

För en giltig kontrollomgång ska varje enskilt prov kontrolleras avseende flaggor i **cobas® 5800 System**-programmet och/eller i rapporten. Tolkningen av resultaten ska göras på följande sätt:

- Prover associerade med en giltig kontrollomgång visas som "Valid" (Giltig) i kolumnen "Control result" (Kontrollresultat) om alla kontroll-target-resultat har rapporterats som giltiga. Prover associerade med en misslyckad kontrollomgång visas som "Invalid" (Ogiltig) i kolumnen "Control result" (Kontrollresultat) om alla kontroll-target-resultat har rapporterats som ogiltiga.
- Om de associerade kontrollerna för ett provresultat är ogiltiga läggs en specifik flagga till enligt följande:
 - Q05D: Fel vid resultatvalidering på grund av en ogiltig positiv kontroll
 - Q06D: Fel vid resultatvalidering på grund av en ogiltig negativ kontroll
- Värdena i kolumnen "Results" (Resultat) för enskilda prov-target-resultat ska tolkas enligt Tabell 15 ovan.
- Om ett eller flera prov-targets har markerats med "Invalid" (Ogiltig) visar **cobas® 5800**-programmet en flagga i kolumnen "Flags" (Flaggor). Mer information om varför prov-targets har rapporterats som ogiltiga (inklusive flagginformation) visas i vyn med detaljerad information.

Tolkning av resultat för cobas® 6800/8800 Systems

För en giltig omgång ska varje enskilt prov kontrolleras avseende flaggor i **cobas® 6800/8800 Systems**-programmet och/eller i rapporten. Tolkningen av resultaten ska göras på följande sätt:

- Prover markeras med "Yes" i kolumnen "Valid" om alla begärda target-resultat rapporterade giltiga resultat. Prover som markeras med "No" i kolumnen "Valid" kan behöva tolkas och åtgärdas ytterligare.
- Värdena för enskilda prov-target-resultat ska tolkas enligt Tabell 15 ovan.

Testets begränsningar

- Plasma-arbetsflödet för **cobas®** HIV-1 har endast validerats för användning tillsammans med **cobas®** HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, **cobas®** NHP Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent och **cobas omni** Wash Reagent för användning på **cobas®** 5800/6800/8800 Systems.
- Tillförlitliga resultat förutsätter rätt provtagning, förvaring och hantering av prover.
- Kvantifiering av HIV-1-RNA är beroende av antalet viruspartiklar i provet och kan påverkas av provtagningsmetoder, patientfaktorer (dvs. ålder, förekomst av symptom) och/eller infektionsstadium.
- I sällsynta fall kan mutationer inom de maximalt konserverade regionerna på ett virusgenom som täcks in av **cobas®** HIV-1 påverka primer- och/eller probbindning, vilket resulterar i för låg kvantifiering av virus eller misslyckad detektering av förekomst av virus.
- På grund av inneboende skillnader mellan metoder rekommenderas användaren, innan en metod byts ut mot en annan, att genomföra metodkorrelationsanalyser i laboratoriet för att bestämma skillnaderna mellan metoderna. Användarna ska följa sina egna specifika regler och procedurer.
- **cobas®** HIV-1 är inte avsett för användning som ett screeningtest för förekomst av HIV-1 i blod eller blodprodukter.

Utvärdering av icke-klinisk prestanda

Viktiga prestandaegenskaper för EDTA-plasmaprover som körs på cobas® 6800/8800 Systems

Detektionsgräns (LoD)

WHO:s internationella standard

Detektionsgränsen för cobas® HIV-1 fastställdes genom analys av seriella spädningar av WHO:s andra internationella standard för HIV-1-RNA grupp M subtyp B för NAT-testning (Nucleic Acid Amplification Technology) erhållet från NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control), i HIV-negativ human EDTA-plasma med provbearbetningsvolymerna på 500 µl och 200 µl. Paneler med fem koncentrationsnivåer plus ett negativt prov testades med tre loter av cobas® HIV-1-testreagens under flera körningar och dagar och med olika användare och instrument.

Resultaten för EDTA-plasma från båda provbearbetningsvolymerna visas i Tabell 16 och Tabell 17. Studien visar att cobas® HIV-1 detekterade HIV-1-RNA vid en koncentration på 13,2 kp/ml (22,0 IU/ml) fastställt med Probit-analys med en träffsannolikhet på 95 % för provbearbetningsvolymen 500 µl och vid en koncentration på 35,5 kp/ml (59,2 IU/ml) eller mer fastställt med Probit-analys med en träffsannolikhet på 95 % för provbearbetningsvolymen 200 µl.

Tabell 16 Detektionsgräns i EDTA-plasma (500 µl)

Input-koncentration för titer (HIV-1-RNA kp/ml)	Input-koncentration för titer (HIV-1-RNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i %
40,0	66,7	189	189	100,0 %
20,0	33,3	189	186	98,4 %
10,0	16,7	189	171	90,5 %
5,0	8,3	189	125	66,1 %
2,5	4,2	189	67	35,4 %
0,0	0,0	189	0	0,0 %
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet		13,2 kp/ml; 95-procentigt konfidensintervall: 11,4–15,9 kp/ml 22,0 IU/ml; 95-procentigt konfidensintervall: 19,0–26,5 IU/ml		

Tabell 17 Detektionsgräns i EDTA-plasma (200 µl)

Input-koncentration för titer (HIV-1-RNA kp/ml)	Input-koncentration för titer (HIV-1-RNA IU/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i %
200,0	333,3	189	189	100,0 %
100,0	166,7	188	188	100,0 %
50,0	83,3	189	186	98,4 %
25,0	41,7	189	164	86,8 %
12,5	20,8	189	112	59,3 %
0,0	0,0	188	0	0,0 %
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet		35,5 kp/ml; 95-procentigt konfidensintervall: 30,8–43,2 kp/ml 59,2 IU/ml; 95-procentigt konfidensintervall: 51,3–72,0 IU/ml		

Linjärt intervall

Studien av linjäritet för **cobas**® HIV-1 utfördes med hjälp av en spädningsserie som bestod av 12 panelprover (500 µl provbearbetningsvolym) och 11 panelprover (200 µl provbearbetningsvolym) som omfattade det linjära intervallet för den dominerande HIV-1-gruppen M subtyp B. Panelproverna bereddes från ett HIV-1-RNA-positivt cellodlingssupernatant-prov med hög titer. Utvärderingen utfördes enligt CLSI-riktlinjen EP06-A.²⁰ Tre reagensloter analyserades på tre **cobas**® 6800/8800 Systems, med tre användare och totalt 16 replikat per panelprov och lot under fyra testdagar (fyra replikat per kitlot och dag).

Med provbearbetningsvolymen 500 µl är **cobas**® HIV-1 linjärt från 20 kp/ml till 1,00E+07 kp/ml (33,3 IU/ml till 1,67E+07 IU/ml) och visar en absolut avvikelse från den bättre passande icke-linjära regressionen på mindre än $\pm 0,2 \log_{10}$ i human EDTA-plasma (se Bild 16). Över hela det linjära intervallet var noggrannheten för testet inom $\pm 0,2 \log_{10}$.

Med provbearbetningsvolymen 200 µl är **cobas**® HIV-1 linjärt från 50 kp/ml till 1,00E+07 kp/ml (83,3 IU/ml till 1,67E+07 IU/ml) och visar en absolut avvikelse från den bättre passande icke-linjära regressionen på mindre än $\pm 0,2 \log_{10}$ i human EDTA-plasma (se Bild 17). Över hela det linjära intervallet var noggrannheten för testet inom $\pm 0,2 \log_{10}$.

Bild 16 Bestämning av linjärt intervall i EDTA-plasma (500 µl)

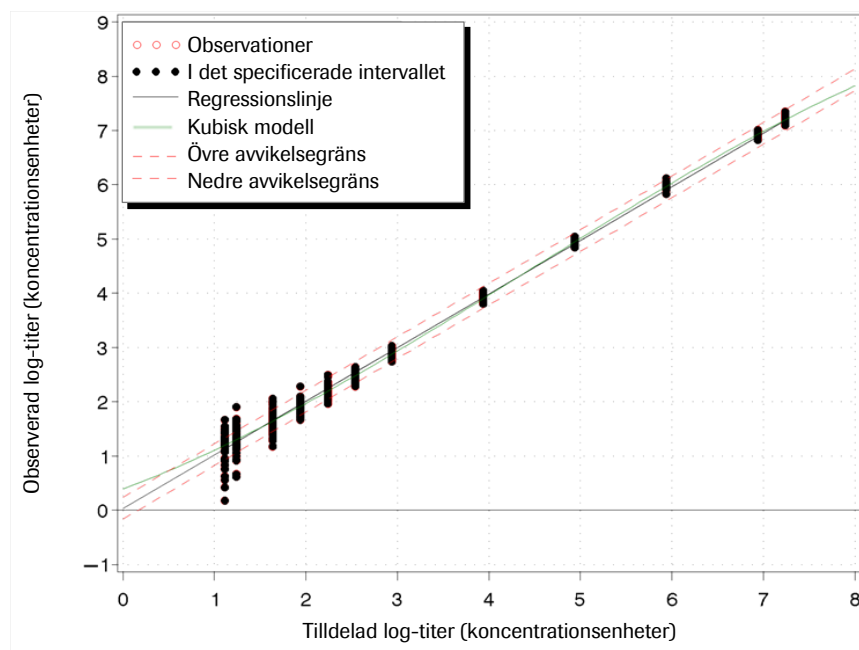
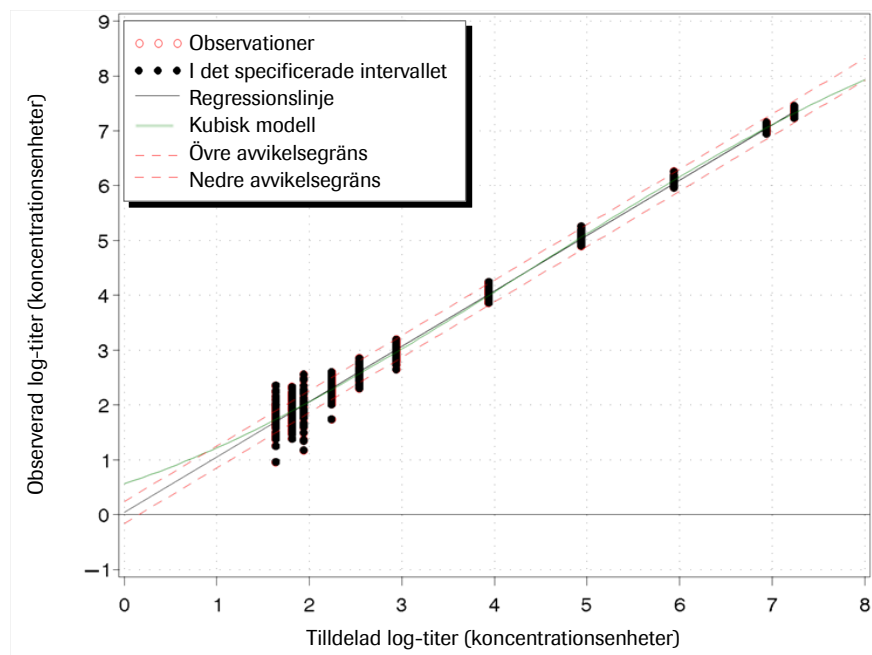


Bild 17 Bestämning av linjärt intervall i EDTA-plasma (200 µl)

Precision – inom laboratoriet

Precisionen för **cobas**® HIV-1 bestämdes genom analys av seriella spädningar av ett HIV-1 högpositivt prov (grupp M subtyp B; odlat virus) i HIV-negativ EDTA-plasma. Åtta spädningsnivåer (500 µl provbearbetningsvolym) och sju spädningsnivåer (200 µl provbearbetningsvolym) testades i 48 replikat för varje nivå och provbearbetningsvolym med tre loter av **cobas**® HIV-1-testreagens med tre instrument och tre användare under 12 dagar. Varje prov genomgick hela **cobas**® HIV-1-testproceduren på det helt automatiska **cobas**® 6800/8800 Systems. Precisionsresultaten som anges här representerar alla aspekter av testproceduren. Resultaten visas i Tabell 18 och Tabell 19.

cobas® HIV-1 visade hög precision för tre reagensloter som testades i ett koncentrationsintervall från 1,00E+02 kp/ml till 1,00E+07 kp/ml med 500 µl provbearbetningsvolym och 2,00E+02 kp/ml till 1,00E+07 kp/ml med 200 µl provbearbetningsvolym.

Tabell 18 Precision inom laboratoriet för **cobas®** HIV-1 (EDTA-plasmaprover – provbearbetningsvolym 500 µl)*

Nominell koncentration (kp/ml)	Tilldelad koncentration (kp/ml)	Källmaterial	EDTA-plasma			
			Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alla loter
			SD	SD	SD	Poolad SD
1,00E+07	8,67E+06	Cellodling	0,04	0,06	0,03	0,05
1,00E+06	8,67E+05	Cellodling	0,06	0,05	0,04	0,05
1,00E+05	8,67E+04	Cellodling	0,05	0,07	0,04	0,05
1,00E+04	8,67E+03	Cellodling	0,06	0,06	0,04	0,05
1,00E+03	8,67E+02	Cellodling	0,07	0,06	0,07	0,07
4,00E+02	3,47E+02	Cellodling	0,09	0,10	0,09	0,09
2,00E+02	1,73E+02	Cellodling	0,11	0,08	0,14	0,11
1,00E+02	8,67E+01	Cellodling	0,15	0,11	0,10	0,12

* Titerdata anses ha fördelats log-normalt och analyseras efter omvandling enligt log₁₀. I kolumnerna för standardavvikelse (SD) visas totalvärdet för den log-omvandlade titern för var och en av de tre reagensloterna.

Tabell 19 Precision inom laboratoriet för **cobas®** HIV-1 (EDTA-plasmaprover – provbearbetningsvolym 200 µl)*

Nominell koncentration (kp/ml)	Tilldelad koncentration (kp/ml)	Källmaterial	EDTA-plasma			
			Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alla loter
			SD	SD	SD	Poolad SD
1,00E+07	8,67E+06	Odlad virus	0,04	0,05	0,04	0,04
1,00E+06	8,67E+05	Odlad virus	0,07	0,05	0,05	0,06
1,00E+05	8,67E+04	Odlad virus	0,07	0,07	0,06	0,07
1,00E+04	8,67E+03	Odlad virus	0,08	0,08	0,06	0,08
1,00E+03	8,67E+02	Odlad virus	0,12	0,12	0,08	0,11
4,00E+02	3,47E+02	Odlad virus	0,11	0,13	0,09	0,11
2,00E+02	1,73E+02	Odlad virus	0,20	0,12	0,15	0,16

* Titerdata anses ha fördelats log-normalt och analyseras efter omvandling enligt log₁₀. I kolumnerna för standardavvikelse (SD) visas totalvärdet för den log-omvandlade titern för var och en av de tre reagensloterna.

Verifiering av subtyp

Prestandan för **cobas®** HIV-1 på HIV-1 grupp M-subtyper, grupp O och grupp N utvärderades genom:

- Verifiering av detektionsgränsen för grupp M-subtyper, grupp O och grupp N
- Verifiering av linjäriteten för grupp M-subtyper, grupp O och grupp N
- Titertilldelning utfördes med hjälp av **cobas®** HIV-1.

Verifiering av detektionsgräns för grupp M-subtyper, grupp O och grupp N

Odlade HIV-1-prover för HIV-1M (A, C, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG), HIV-1O, HIV-1N späddes till tre olika koncentrationsnivåer i EDTA-plasma. Bestämning av träffsannolikheten utfördes med 63 replikat för varje nivå.

Testningen utfördes med 1 lot av cobas® HIV-1-reagens. Resultaten från EDTA-plasma med 500 µl visas i Tabell 20.

De här resultaten bekräftar att cobas® HIV-1 detekterade HIV för HIV-1M (A, C, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG), HIV-1O och HIV-1N vid den nominella koncentrationen på 20 kp/ml eller lägre med ett övre ensidigt 95-procentigt konfidensintervall som var lika stort som eller större än den förväntade träffsannolikheten på 95 %.

Tabell 20 LoD-verifiering av HIV-1 grupp M-subtyper, grupp O och grupp N i 500 µl EDTA-plasma

Grupp	Subtyp	10 kp/ml			20 kp/ml			40 kp/ml		
		Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i % (95 % KI*)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i % (95 % KI*)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i % (95 % KI*)
M	A	63	59	93,7 % (97,8 %)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)
	C	63	51	81,0 % (88,6 %)	63	61	96,8 % (99,4 %)	63	63	100 % (100 %)
	D	63	48	76,2 % (84,7 %)	62	60	96,8 % (99,4 %)	63	63	100 % (100 %)
	F	63	59	93,7 % (97,8 %)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)
	G	63	54	85,7 % (92,3 %)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)
	H	63	52	82,5 % (89,9 %)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)
	CRF01_AE	63	52	82,5 % (89,9 %)	63	62	98,4 % (99,9 %)	63	63	100 % (100 %)
	CRF02_AG	63	56	88,9 % (94,7 %)	63	62	98,4 % (99,9 %)	63	63	100 % (100 %)
		63	49	77,8 % (86,0 %)	63	57	90,5 % (95,8 %)	63	63	100 % (100 %)
O		63	49	77,8 % (86,0 %)	63	57	90,5 % (95,8 %)	63	63	100 % (100 %)
N		63	57	90,5 % (95,8 %)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)

* Övre ensidigt 95 % konfidensintervall

På samma sätt verifierades detektionsgränsen för de 10 subtyperna som testades med 200 µl provvolym. Resultaten sammanfattas i Tabell 21. De här resultaten bekräftar att cobas® HIV-1 detekterade HIV RNA för HIV-1M (A, C, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG) och HIV-1N vid den nominella koncentrationen på 50 kp/ml eller lägre med ett övre ensidigt 95-procentigt konfidensintervall som var lika stort som eller större än den förväntade träffsannolikheten på 95 %. HIV-1O verifierades vid 100 kp/ml.

Tabell 21 LoD-verifiering av HIV-1 grupp M-subtyper, grupp O och grupp N i 200 µl EDTA-plasma

Grupp	Subtyp	25 kp/ml			50 kp/ml			100 kp/ml		
		Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i % (95 % KI*)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i % (95 % KI*)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i % (95 % KI*)
M	A	63	54	85,7 % (92,3 %)	63	60	95,2 % (98,7 %)	63	63	100 % (100 %)
	C	63	50	79,4 % (87,3 %)	63	62	98,4 % (99,9 %)	63	63	100 % (100 %)
	D	63	51	81,0 % (88,6 %)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)
	F	63	56	88,9 % (94,7 %)	63	62	98,4 % (99,9 %)	63	63	100 % (100 %)
	G	63	52	82,5 % (89,9 %)	63	62	98,4 % (99,9 %)	63	63	100 % (100 %)
	H	63	61	96,8 % (99,4 %)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)
	CRF01_AE	63	53	84,1 % (91,1 %)	63	57	90,5 % (95,8 %)	63	63	100 % (100 %)
	CRF02_AG	63	49	77,8 % (86,0 %)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)
		63	44	69,8 % (79,3 %)	63	56	88,9 % (94,7 %)	63	63	100 % (100 %)
O		63	55	87,3 % (93,5 %)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)
N		63	55	87,3 % (93,5 %)	63	63	100 % (100 %)	63	63	100 % (100 %)

* Övre ensidigt 95 % konfidensintervall

Verifiering av det linjära intervallet för grupp M-subtyper, grupp O och grupp N

Spädningsserierna som användes i studien för verifiering av linjäritet för subtyper i **cobas**® HIV-1 bestod av sju panelprover (500 µl provbearbetningsvolym) och sex panelprover (200 µl provbearbetningsvolym) som täckte in det linjära intervallet. Panelproverna bereddes från HIV-1-RNA-positiva cellodlingssupernatantprover med hög titer för respektive subtyp. Testningen utfördes med två loter av **cobas**® HIV-1-reagens; 14 replikat per nivå testades i EDTA-plasma. Det linjära intervallet för **cobas**® HIV-1 verifierades för grupp M-subtyper, grupp O och grupp N. Den maximala avvikelser mellan den linjära regressionen och den bättre passande icke-linjära regressionen var lika stor som eller mindre än 0,2 log₁₀.

Specificitet

Specificiteten för **cobas**® HIV-1 bestämdes genom analys av HIV-negativa EDTA-plasmaprover från individuella blodgivare. Här testades 600 enskilda EDTA-plasmaprover med två loter av **cobas**® HIV-1-reagens. Alla prover testades negativt för HIV-1-RNA. I testpanelen var specificiteten för **cobas**® HIV-1 100 % (95-procentig konfidensgräns: ≥ 99,5 %).

Analytisk specificitet

Den analytiska specificiteten för cobas® HIV-1 utvärderades genom att späda en panel med patogener med HIV-RNA-positiv och HIV-RNA-negativ EDTA-plasma. Mikroorganismerna tillsattes i negativ human EDTA-plasma och testades med och utan HIV RNA. Inga av icke-HIV-patogenerna interfererade med testets prestanda. Negativa resultat erhöles med cobas® HIV-1 för alla mikroorganismprover utan HIV-1-mål och positiva resultat erhöles för alla mikroorganismprover med HIV-1-mål. Den genomsnittliga $\log_{10}$ -titern för vart och ett av de positiva HIV-1-proverna som innehöll potentiellt korsreagerande organismer var inom $\pm 0,3 \log_{10}$ för den genomsnittliga $\log_{10}$ -titern för den respektive positiva spikade kontrollen.

Tabell 22 Mikroorganismer som testades för korsreaktivitet

Virus		Bakterier	Svamp
Adenovirus typ 5	Varicella-zoster-virus	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovirus	Västra Nilen-virus	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Epstein-Barr-virus	St. Louis-encefalitvirus		
Hepatit A-virus	Murray Valley-encefalitvirus		
Hepatit B-virus	Dengue-virus typ 1, 2, 3 och 4		
Hepatit C-virus	FSME-virus (stam HYPR)		
Hepatit D-virus	Influenza-virus A		
Humant T-cellymfotropvirus typ 1 och 2	Zika-virus		
Humant herpesvirus typ 6	Humant papillomavirus		
Herpes simplex-virus typ 1 och 2	Gula febern-virus		

Analytisk specificitet – interfererande substanser

Förhöjda nivåer av triglycerider (upp till 34,5 g/l), konjugerat bilirubin (0,25 g/l), okonjugerat bilirubin (0,25 g/l), albumin (58,7 g/l), hemoglobin (2,9 g/l) och humant DNA (2 mg/l) i proverna samt förekomst av autoimmuna sjukdomar som systemisk lupus erythematosus (SLE), reumatoid artrit (RA) och antinukleära antikroppar (ANA) har testats vid förekomst och avsaknad av HIV-RNA.

Dessutom testades läkemedelsföreningarna som listas i Tabell 23 vid tre gånger $C_{\max}$ vid förekomst och avsaknad av HIV-RNA.

Alla potentiellt interfererande substanser visades inte interferera med testets prestanda. Negativa resultat erhöles med cobas® HIV-1 för alla prover utan HIV-mål och positiva resultat erhöles för alla prover med HIV-1-mål. Den genomsnittliga $\log_{10}$ -titern för vart och ett av de positiva HIV-1-proverna som innehöll potentiellt interfererande substanser var inom $\pm 0,3 \log_{10}$ för den genomsnittliga $\log_{10}$ -titern för den respektive positiva spikade kontrollen.

Tabell 23 Läkemedelsföreningar testade för interferens med kvantifiering av HIV-RNA med **cobas® HIV-1**

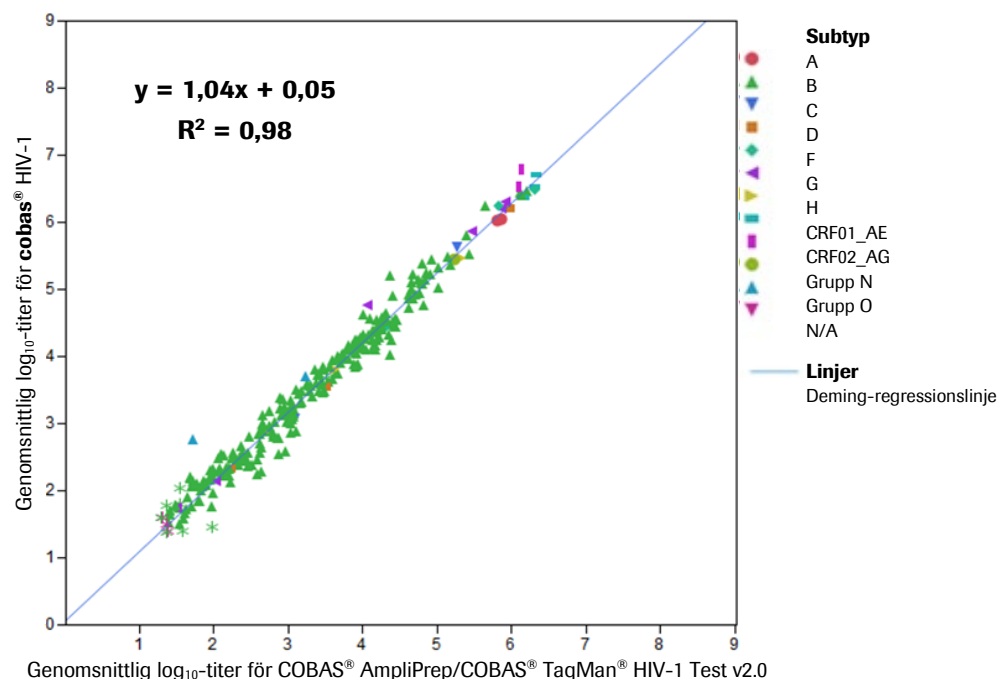
Läkemedelsgrupp	Generiskt läkemedelsnamn	
Immunmodulatorer	Peginterferon α -2a	Peginterferon α -2b
	Ribavirin	
HIV-inträdeshämmare	Maraviroc	
HIV-integrashämmare	Elvitegravir/kobicistat	Raltegravir
Icke-nukleosid HIV omvänt transkriptas-hämmare	Efavirenz	Nevirapin
	Etravirin	Rilpivirin
HIV-proteashämmare	Atazanavir	Lopinavir
	Tipranavir	Nelfinavir
	Darunavir	Ritonavir
	Fosamprenavir	Sakvinavir
HCV-proteashämmare	Boceprevir	Telaprevir
	Simeprevir	
Omvänt transkriptas- eller DNA polymeras-hämmare	Abacavir	Tenofovir
	Emtricitabin	Adefovir dipivoxil
	Entecavir	Telbivudin
	Foskarnet	Zidovudin
	Cidofovir	Aciclovir
	Lamivudin	Valganciclovir
	Ganciklovir	Sofosbuvir
Föreningar för behandling av opportunistiska infektioner	Azitromycin Klaritromycin Etambutol Flukonazol Isoniazid	Pyrazinamid Rifabutin Rifampicin Sulfametoxazol Trimetoprim

Metodkorrelation – prestanda jämfört med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0

Prestandan för **cobas® HIV-1** och testet COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 (testet TaqMan® HIV-1 v2.0) jämfördes genom analys av 251 EDTA-plasmaprover från patienter smittade med HIV-1 och genom analys av 16 utspädda cellodlingssupernatanter. Proverna bestod av HIV-1M (A–D, F–H, CRF01_AE, CRF02_AG), HIV-1O och HIV-1N och testades i duplikat på en extern plats. Titrar under kvantifieringsintervallet (< 20 kp/ml) genererades för ett av de två replikaten för fem prover på både COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®-systemet och **cobas® 6800/8800 Systems**, och för fem prover på endast COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®-systemet. Ett prov på COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® genererade endast en giltig alikvot. Titrar under kvantifieringsintervallet exkluderades från analysen. Demings regressionsanalys utfördes med hänsyn tagen till log-omvandlade titrar. För prover där båda replikaten låg inom kvantifieringsintervallet användes den genomsnittliga $\log_{10}$ -titern för analys.

Resultaten för Deming-regressionen visas i Bild 18. Symbolen * i Bild 18 visar den separata bestämningen.

Bild 18 Regressionsanalys för cobas® HIV-1 jämfört med TaqMan® HIV-1 Test, v2.0, EDTA-plasmaprover



Felfrekvens inom hela systemet

Felfrekvensen inom hela systemet för cobas® HIV-1 bestämdes genom att testa 100 replikat av EDTA-plasma spikat med HIV-1 grupp M subtyp B. De här proverna testades vid en målkoncentration på ungefär $3 \times \text{LoD}$.

Resultaten i den här studien fastställde att samtliga replikat var giltiga och positiva för HIV-1-målet, vilket gav en felfrekvens inom hela systemet på 0 %. Det tvåsidiga 95-procentiga exakta konfidensintervallet var 0 % för den nedre gränsen och 3,6 % för den övre gränsen [0 %: 3,6 %].

Korskontamination

Nivån för korskontamination för cobas® HIV-1 bestämdes genom testning av 240 replikat av ett HIV-negativt humant EDTA-plasmaprov och 225 replikat av ett HIV-1-prov med hög titer vid $4,00\text{E}+06$ kp/ml. Studien genomfördes med cobas® 6800 System. Sammanlagt fem körningar utfördes med positiva och negativa prover i en checkerboard-konfiguration.

Samtliga 240 replikat av det negativa provet var negativa, vilket gav en korskontaminationsnivå på 0 %. Det tvåsidiga 95-procentiga exakta konfidensintervallet var 0 % för den nedre gränsen och 1,5 % för den övre gränsen [0 %: 1,5%].

Viktiga prestandaegenskaper för torkade PSC-plasmaprover

Detektionsgräns (LoD) med PSC-kortet

Plasma-detektingsgränsen för **cobas® HIV-1** i kombination med PSC-kortet bestämdes genom analys av plasmatitrar som hade tilldelats till seriespädningar av cellodlingssupernatanter som representerade HIV-1 grupp M i HIV-negativt humant helblod. Paneler med fem koncentrationsnivåer plus ett negativt prov testades med tre loter av PSC-kort och tre loter av **cobas® HIV-1**-testreagens under flera körningar och dagar och med olika användare och instrument. Prover från panelen med det högsta värdet centrifugerades och plasmatitern tilldelades med hjälp av CBM-metoden (Calibrator Bracketing Method) och **cobas® HIV-1** enligt WHO:s tredje internationella HIV-1-standard för HIV-1 grupp M, subtyp B för beredning av de höga och låga kalibratorerna.

De kombinerade resultaten från de tre PSC-loterna, negativa blodgivare och spädningsserierna med individuella tilldelningar av plasmatiter (CBM) visas i Tabell 24. Studien visar att **cobas® HIV-1** i kombination med PSC-kortet detekterade HIV-1-RNA vid en koncentration på 790,2 kp/ml med en träffsannolikhet på 95 % enligt Probit-analys.

Tabell 24 Detektionsgräns i kombination med PSC-kortet

Tilldelad plasmatiterkoncentration (HIV-1 RNA cp/ml)	Antal giltiga replikat	Antal positiva	Träffsannolikhet i %
1971,1	62	62	100,00
1925,3	63	63	100,00
1358,1	62	62	100,00
985,5	63	62	98,41
962,6	63	62	98,41
679	63	59	93,65
657	63	59	93,65
641,8	63	57	90,48
452,7	63	52	82,54
328,5	63	47	74,60
320,9	63	46	73,02
226,3	62	49	79,03
164,3	63	36	57,14
160,4	63	35	55,56
113,2	63	38	60,32
0	189	0	0,00
Detektionsgräns genom PROBIT vid 95 % träffsannolikhet	790,2 kp/ml; 95-procentigt konfidensintervall: 658,9–1003,6 kp/ml 1317 IU/ml; 95-procentigt konfidensintervall: 1098,2–1672,7 IU/ml		

Uppskattning av LoD i helblod

Det går inte att exakt fastställa de motsvarande titrarna i helblod för samma prov, eftersom helblod inte är en provtyp för testning av virusmängd. Helblodstitrar baserade på mängden HIV-1-RNA som spikats i helblodsprover användes inte för uppskattning av LoD eftersom mängden spikat RNA inte nödvändigtvis motsvarar mängden RNA i plasma. Det kan återstå RNA i buffy-coaten även efter centrifugering eller associerat med cellfraktionen i helblod. Men eftersom spikade helblodstitrar har använts i andra metoder (t.ex. torkade blodprover) för att bestämma detektionsgränsen i helblod kan en uppskattning av LoD i helblod för PSC-kortet tillhandahållas med hjälp av en empirisk faktor som antas vara relaterad till den genomsnittliga erythrocytvolymfractionen (45 %) för proverna (Tabell 25).

LoD-värden för helblod uppskattas baserat på antagandet:

Uppskattad LoD för helblod = LoD för PSC-plasma ÷ 1,8

Tabell 25 Uppskattad LoD för helblod

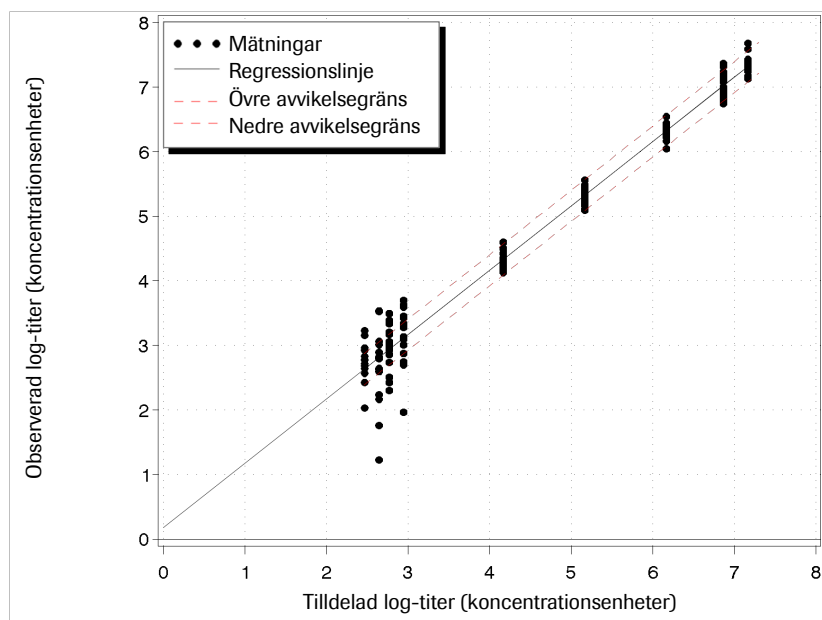
LoD vid PROBIT-analys (95 % träffsannolikhet)	439,0 kp/ml
95-procentigt konfidensintervall	366,1–557,6 kp/ml

Linjärt intervall med PSC-kort

Studien av linjäritet för **cobas**® HIV-1 i kombination med PSC-kort utfördes med hjälp av en spädningsserie som bestod av 9 panelprover som omfattade det linjära intervallet för den dominerande HIV-1-gruppen M subtyp B. Panelproverna bereddes från ett HIV-1-RNA-positivt cellodlingssupernatantprov med hög titer. Utvärderingen utfördes enligt CLSI-riktlinjen EP06-A.²⁰ Två PSC-loter och två reagensloter analyserades på två **cobas**® 6800/8800 Systems, av tre användare och totalt 20 replikat per panelprov och reagens-/PSC-lot.

Prover från en panel centrifugerades och plasmatitern tilldelades med hjälp av CBM-metoden (Calibrator Bracketing Method) och **cobas**® HIV-1 enligt WHO:s tredje internationella HIV-1-standard för HIV-1 grupp M, subtyp B för beredning av den höga och låga kalibratoren.

I kombination med PSC-kort är **cobas**® HIV-1 linjärt från 790 kp/ml till 1,00E+07 kp/ml och visar en absolut avvikelse från den bättre passande icke-linjära regressionen på mindre än $\pm 0,24 \log_{10}$ med PSC-kort (se Bild 19). Över hela det linjära intervallet var noggrannheten för testet inom en avvikelse på $\pm 0,3 \log_{10}$ från överensstämmelsen med den linjära regressionen.

Bild 19 Bestämning av linjärt intervall med PSC

Precision inom laboratoriet med PSC

Precisionen för **cobas**® HIV-1 i kombination med PSC bestämdes genom analys av seriella spädningar av ett HIV-1-högpositivt prov (ett HIV-1-RNA-positivt cellodlingssupernatantprov med hög titer) i HIV-negativt EDTA-helblod. Fem spädningsnivåer testades i 48 replikat för varje nivå och provbearbetningsvolym över två loter av PSC-kort och två loter av **cobas**® HIV-1-testreagens med två instrument och två användare under 12 dagar. Varje prov genomgick hela PSC-arbetsflödet och **cobas**® HIV-1-proceduren på det helt automatiska **cobas**® 6800/8800 Systems. Precisionsresultaten som anges här representerar alla aspekter av testproceduren. Resultaten visas i Tabell 26.

cobas® HIV-1 i kombination med PSC-kort visade hög precision för två loter av PSC-kort och reagens som testades i ett koncentrationsintervall från 2,00E+03 kp/ml till 1,00E+07 kp/ml.

Tabell 26 Precision inom laboratoriet för **cobas**® HIV-1 i kombination med PSC

Uppmätt koncentration (kp/ml i centrifugerad EDTA-plasma)	Källmaterial	Poolad SD
1,02E+07	Cellodling	0,08
9,12E+05	Cellodling	0,08
8,32E+04	Cellodling	0,09
7,94E+03	Cellodling	0,13
2,00E+03	Cellodling	0,23

Verifiering av subtyp med PSC

Även om HIV-subtypen inte ska påverka PSC-prestandan späddes odlade HIV-1-prover för de vanliga HIV-1M-subtyperna (A, C och D) till en koncentrationsnivå i helblod. Bestämningen av precision och noggrannhet utfördes med 12 replikat för varje prov. Testningen utfördes med 1 lot av PSC-kort och 1 lot av **cobas**® HIV-1-reagens.

Varje helblodsprov centrifugerades och plasmatitern tilldelades med hjälp av CBM-metoden (*Calibrator Bracketing Method*) och **cobas**® HIV-1 enligt WHO:s tredje internationella HIV-1-standard för HIV-1 grupp M, subtyp B för beredning av den höga och låga kalibratoren.

Resultaten visas i Tabell 27. De här resultaten bekräftar att **cobas**® HIV-1 i kombination med PSC-kort detekterade och kvantifierade HIV-1M-subtyperna A, C och D korrekt.

Tabell 27 Verifiering av HIV-1 grupp M-subtyperna A, C och D

HIV-1 M-subtyp	Antal giltiga replikat	Noggrannhet	Precision	Plasma jämfört med PSC-plasma ekvivalens
Subtyp A	12	-0,13	0,14	-0,20
Subtyp C	12	-0,08	0,12	-0,10
Subtyp D	12	-0,04	0,11	-0,10

Specifitet med PSC

Specifiteten för **cobas**® HIV-1 i kombination med PSC-kort bestämdes genom analys av HIV-negativa EDTA-helblodsprover från individuella blodgivare. Totalt 159 individuella EDTA-helblodsprover testades med två loter av PSC-kort och två loter av **cobas**® HIV-1-reagens. Alla prover testades negativt för HIV-1-RNA. I testpanelen var specifiteten för **cobas**® HIV-1 100 % (95-procentig konfidensgräns: $\geq 98,13$ %).

Felfrekvens inom hela systemet med PSC

Felfrekvensen inom hela systemet för **cobas**® HIV-1 i kombination med PSC-kort bestämdes genom att testa 100 replikat av EDTA-helblod spikat med HIV-1-grupp M subtyp B. De här proverna testades vid en målkonzentrationsnivå på ungefär $3 \times \text{LoD}$.

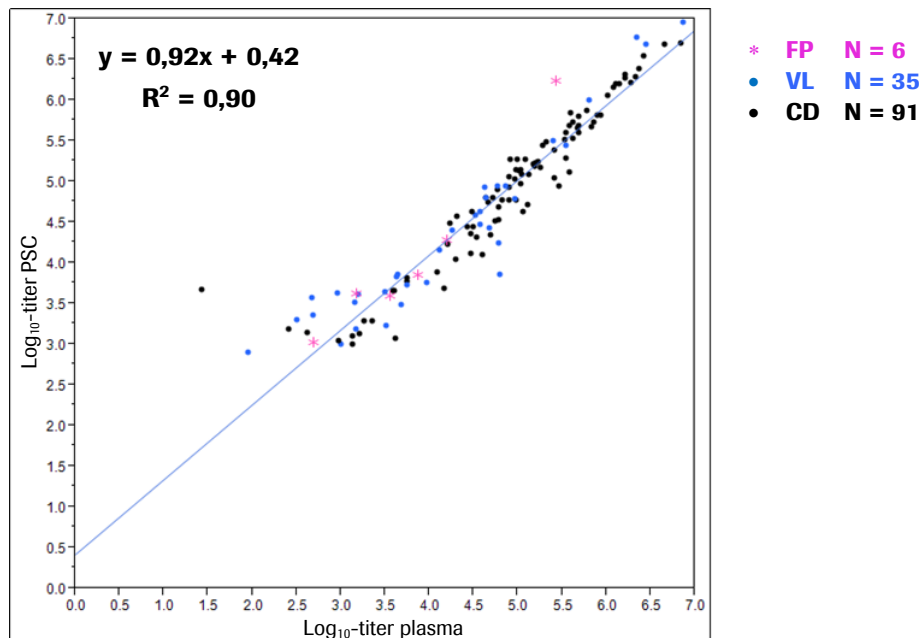
Resultaten i den här studien fastställde att samtliga replikat var giltiga och positiva för HIV-1-målet, vilket gav en felfrekvens inom hela systemet på 0 %.

Prestanda för torkade PSC-plasmaprover jämfört med plasmaprover

Prestanda för torkade PSC-plasmaprover jämfördes med centrifugerade EDTA-plasmaprover genom analys av 132 prover från patienter smittade med HIV-1 (FP = prospektiv provtagning, V = testning av virusmängd, CD = räkning av överlevnads CD4-prover). Proverna testades med ett replikat vardera (torkad PSC-plasma och EDTA-plasma) på en extern plats. Titrar under kvantifieringsintervallet exkluderades från analysen. Demings regressionsanalys utfördes med hänsyn tagen till log-omvandlade titrar.

Resultaten för Deming-regressionen visas i Bild 20. Symbolerna * och • i Bild 20 visar separata bestämningar.

Bild 20 Demings regressionsanalys



Tabell 28 Sammanfattning av statistiska data

Matrisekvivalens (plasmotyp)	Antal prover med giltig titer	Bland-Altman-analys		Demings regressionsanalys		
		Medelvärde för Log ₁₀ -differens	95 % KI [övre/nedre]	Lutning	Intercept	R-squared
PSC-kort jämfört med flytande plasma	132	0,05	[-0,01; 0,11]	0,92	0,42	0,90

Utvärdering av klinisk prestanda

Reproducerbarhet

Reproducerbarheten för **cobas® HIV-1** utvärderades i EDTA-plasma med provbearbetningsvolymen 500 µl på **cobas® 6800 System**. Studien genomfördes med paneler som utformats med välkaraktäriserat odlat HIV-1-virus grupp M, subtyp B och med EDTA-plasma som var negativ för HIV-1-RNA och antikroppar mot HIV-1/2. Panelen med 8 prover inkluderade ett negativt panelprov och 7 positiva panelprover som täckte in det linjära intervallet för **cobas® HIV-1** samt de viktigaste medicinska beslutspunkterna för den avsedda användningen, som stöds av 2015 års riktlinjer från Department of Health and Human Services för användning av antiretroviral läkemedel på HIV-1-infekterade vuxna och tonåringar.³ Testningen utfördes med tre reagensloter, tre platser, två användare per plats, två körningar per dag, 6 dagars testning per reagenslot och tre replikat per körning. Reproducerbarheten utvärderades genom användning av en så kallad random effects-modell med villkor för lot, plats, användare, dag, körning och inom körning. Tabell 29 visar den totala variansen, SD för den totala precisionen och lognormal CV för **cobas® HIV-1** vid bestämning med variansanalys. Inom körning-komponenten uppvisade mest variabilitet för majoriteten av panelproverna.

Tabell 29 Tillämpbar procentandel av den totala variansen, standardavvikelse för den totala precisionen och lognormal CV för HIV-RNA-kvantifiering efter positivt panelprov på **cobas® 6800 System** (reproducerbarhet)

HIV-RNA-koncentration (log ₁₀ kopior/ml)		Procentandel av den totala variansen (CV (%))							Total varians CV (%) ^d
Förväntad	Medelvärde ^a (SD) ^b	Antal tester ^c	Lot	Plats	Användare	Dag	Körning	Inom körning	
1,70	1,69 (0,191)	323	17 % (18,23)	0 % (0,00)	0 % (0,00)	1 % (3,42)	5 % (9,66)	78 % (40,32)	46,25
2,30	2,22 (0,116)	321	32 % (15,15)	0 % (0,00)	1 % (2,26)	4 % (5,60)	0 % (0,00)	63 % (21,55)	27,27
2,60	2,48 (0,102)	323	34 % (13,84)	4 % (4,85)	3 % (3,75)	0 % (0,00)	1 % (2,74)	58 % (17,99)	23,86
3,00	2,84 (0,092)	324	39 % (13,30)	0 % (0,00)	1 % (2,01)	0 % (0,00)	7 % (5,67)	52 % (15,37)	21,33
4,00	3,86 (0,081)	324	43 % (12,33)	1 % (1,94)	3 % (3,34)	10 % (5,82)	6 % (4,54)	37 % (11,39)	18,85
5,00	4,92 (0,084)	324	43 % (12,64)	0 % (0,00)	3 % (3,56)	6 % (4,65)	6 % (4,52)	42 % (12,60)	19,44
6,70	6,63 (0,087)	324	45 % (13,60)	0 % (0,00)	2 % (3,00)	3 % (3,42)	0 % (0,00)	50 % (14,23)	20,32

Obs! Endast resultat med detekterbar virusmängd är inkluderade i den här tabellen.

^a Beräknat med hjälp av SAS MIXED-proceduren baserat på log₁₀-omvandlade mätningar.

^b Beräknat med hjälp av den totala variabiliteten från SAS MIXED-proceduren baserat på log₁₀-omvandlade mätningar.

^c Antal giltiga tester med detekterbar virusmängd.

^d Lognormal-modell som har använts för $CV(\%) = \sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

CV(%) = variationskoefficient i procent; HIV = humant immunbristvirus; RNA = ribonukleinsyra; SD = standardavvikelse; sqrt = kvadratroten.

I Tabell 30 nedan var den procentuella överensstämmelsen för negativa resultat (NPA) för cobas® 6800 System 100 % vid användning av alla giltiga tester med negativa panelprover.

Tabell 30 Procentuell överensstämmelse för negativa resultat vid användning av negativt panelprov

Förväntad HIV-RNA-koncentration	Antal tester	Positiva resultat	Negativa resultat	Procentuell överensstämmelse för negativa resultat ^a	95% CI ^b
Negativa	322	0	322	100,00	(98,86/100,00)

^a NPA = (antal negativa resultat ÷ totalt antal giltiga tester i negativt panelprov) × 100.

^b Beräknat med Clopper-Pearson Exact-metoden för beräkning av binomialt konfidensintervall.

KI = konfidensintervall; HIV = humant immunbristvirus; NPA = procentuell överensstämmelse för negativa resultat; RNA = ribonukleinsyra.

Validering av kvantifiering av virusmängd

Prestandan för cobas® HIV-1 på cobas® 6800 System jämfördes med prestandan för det FDA-godkända COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test v2.0 (TaqMan® HIV-1 Test, v2.0) genom analys av parade EDTA-plasmaprover från 410 personer med HIV-1-virusmängder som täckte in det linjära intervallet för båda testerna. De demografiska egenskaperna för personerna visas i Tabell 31.

Tabell 31 Sammanfattning av demografiska egenskaper

Demografiska egenskaper	Statistik
	(N = 410)
Ålder (år)	
Medelvärde (SD)	41,8 (11)
Median	43
Intervall	19–72
Kön, n (%)	
Man	321 (78,3 %)
Kvinna	89 (21,7 %)
Ursprung, n (%)	
Asiat	5 (1,2 %)
Svart	163 (39,8 %)
Latinamerikan	17 (4,1 %)
Vit	94 (22,9 %)
Övriga	91 (22,2 %)
Okänd	40 (9,8 %)
Etnicitet, n (%)	
Spanskättad	101 (24,6 %)
Ej spanskättad	231 (56,3 %)
Okänd	78 (19,0 %)
Antiviralt läkemedel, n (%)	
Ja	208 (50,7 %)
Nej	137 (33,4 %)
Okänd	65 (15,9 %)
CD4-cellräkning (celler/μl), n (%)	
N	391
Medelvärde (SD)	438,1 (267,7)
Median	401
Intervall	0–1548

SD = standardavvikelse.

Av 410 parade prover som testades hade 305 parade prover resultat för virusmängd som låg inom det linjära intervallet för båda analyserna. Tabell 32 visar medelvärdet för differensen i virusmängd för parade prover mellan cobas® HIV-1 och TaqMan® HIV-1 Test, v2.0.

Tabell 32 Medelvärde för differens i virusmängd för parade prover mellan cobas® HIV-1 och TaqMan® HIV-1 Test, v2.0

Antal parade prover	Medelvärde för differens för parade prover (log ₁₀ kopior/ml)	Standardfel för medelvärde för differens för parade prover	95 % KI för medelvärde för differens för parade prover
305	0,112	0,013	(0,086/0,137)

CI = konfidensintervall.

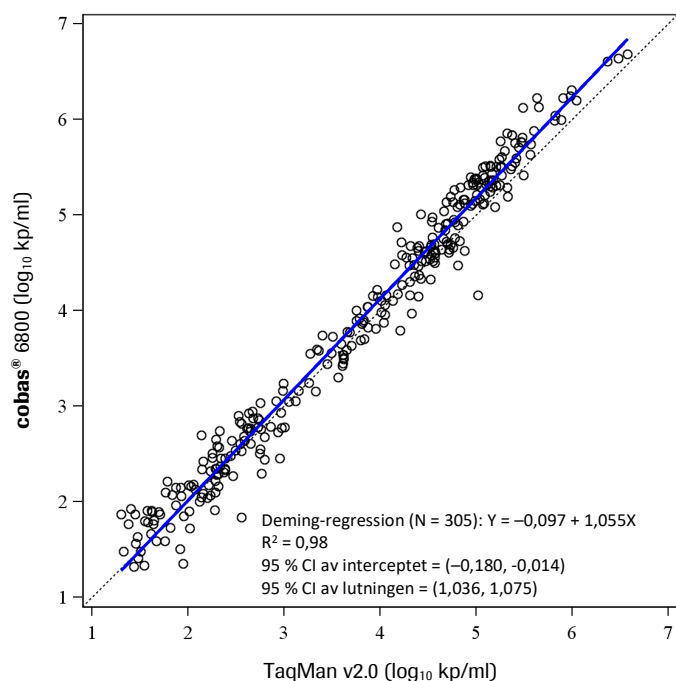
Resultaten från Demings regressionsanalys mellan **cobas**® HIV-1 och TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 anges i Tabell 33 och visas grafiskt i Bild 21. Den streckade linjen indikerar perfekt överensstämmelse mellan de två testmetoderna.

Tabell 33 Parameteruppskattningar från Demings regressionsanalys mellan **cobas**® HIV-1 på **cobas**® 6800 System och TaqMan® HIV-1 Test, v2.0

Antal parade prover = 305				
Parameter	Parameteruppskattning (log ₁₀ kopior/ml)	Standardfel	95 % KI	R ²
Intercept	-0,097	0,042	(-0,180/-0,014)	0,98
Lutning	1,055	0,010	(1,036/1,075)	

CI = konfidensintervall.

Bild 21 Demings regressionsanalys mellan **cobas**® HIV-1 på **cobas**® 6800 System och TaqMan® HIV-1 Test, v2.0



En del av de parade proverna testades också för att jämföra **cobas**® HIV-1-resultaten med hjälp av provbearbetningsvolymerna 200 µl och 500 µl på både **cobas**® 6800 och **cobas**® 8800 System. Alla jämförelser visade ett medelvärde för differens för parade prover på mindre än 0,095 log₁₀ kopior/ml.

För jämförelsen mellan provvolymerna visar Tabell 34 medelvärdet för differensen för parade prover mellan **cobas**® HIV-1-resultat med hjälp av bearbetningsvolymerna 200 µl och 500 µl på **cobas**® 6800 System.

Tabell 34 Medelvärde för differens i virusmängd för parade prover mellan provbearbetningsvolymerna 200 µl och 500 µl på **cobas**® 6800 System

Antal parade prover	Medelvärde för differens för parade prover (log ₁₀ kopior/ml)	Standardfel för medelvärde för differens för parade prover	95 % KI för medelvärde för differens för parade prover
111	0,094	0,014	(0,067/0,121)

CI = konfidensintervall.

Tabell 35 visar medelvärdet för differensen för parade prover mellan cobas® HIV-1-resultat med hjälp av bearbetningsvolymerna 200 µl och 500 µl på cobas® 8800 System.

Tabell 35 Medelvärde för differens i virusmängd för parade prover mellan provbearbetningsvolymerna 200 µl och 500 µl på cobas® 8800 System

Antal parade prover	Medelvärde för differens för parade prover (log ₁₀ kopior/ml)	Standardfel för medelvärde för differens för parade prover	95 % KI för medelvärde för differens för parade prover
111	0,080	0,012	(0,056/0,105)

CI = konfidensintervall.

För jämförelsen mellan system visar Tabell 36 medelvärdet för differensen för parade prover mellan cobas® HIV-1-resultat på cobas® 6800 System och cobas® 8800 System med hjälp av provbearbetningsvolymen 200 µl.

Tabell 36 Medelvärde för differens i virusmängd för parade prover mellan cobas® 6800 System och cobas® 8800 System med hjälp av provbearbetningsvolymen 200 µl

Antal parade prover	Medelvärde för differens för parade prover (log ₁₀ kopior/ml)	Standardfel för medelvärde för differens för parade prover	95 % KI för medelvärde för differens för parade prover
109	0,011	0,013	(-0,014/0,036)

CI = konfidensintervall.

Tabell 37 visar medelvärdet för differensen för parade prover mellan cobas® HIV-1-resultat på cobas® 6800 System och cobas® 8800 System med hjälp av provbearbetningsvolymen 500 µl.

Tabell 37 Medelvärde för differens i virusmängd för parade prover mellan cobas® 6800 System och cobas® 8800 System med hjälp av provbearbetningsvolymen 500 µl

Antal parade prover	Medelvärde för differens för parade prover (log ₁₀ kopior/ml)	Standardfel för medelvärde för differens för parade prover	95 % KI för medelvärde för differens för parade prover
123	-0,001	0,012	(-0,024/0,022)

CI = konfidensintervall.

En del av de parade proverna som täckte in det linjära intervallet för analysen testades också för att jämföra cobas® HIV-1-resultat från BD Vacutainer® PPT™-plasmapreparationsrör för molekyldiagnostiska testmetoder och EDTA-plasmarör utan en gelseparator. Jämförelsen gjordes med cobas® 6800 System. Resultaten visas i Tabell 38.

Tabell 38 Medelvärde för differens i virusmängd för parade prover mellan BD Vacutainer® PPT™-plasmapreparationsrör och EDTA-plasmarör

Antal parade prover	Medelvärde för differens för parade prover (log ₁₀ kopior/ml)	Standardfel för medelvärde för differens för parade prover	95 % KI för medelvärde för differens för parade prover
42	0,026	0,027	(-0,029/0,081)

CI = konfidensintervall.

Klinisk utvärdering

Användningen av cobas® HIV-1 vid övervakning av HIV-1-infekterade personer som genomgår antiretroviral behandling undersöktes genom att testa prover från deltagare i en klinisk fas III-studie som utfördes av Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc. (BI), studienummer BI 1100.1486 (VERxVE-studie), där probearbetningsvolymen 500 µl användes på cobas® 6800 System. Personerna som deltog i studien skulle ha en tillräcklig provvolym i efterkontroll för cobas® HIV-1 i upp till 144 veckor och fick inte ha avbrutit VERxVE-studien på grund av långtidshändelser. Resultat för virusmängd efter 24 och 48 veckors behandling med användning av ett tröskelvärde på 50 kopior/ml och ett tröskelvärde på 200 kopior/ml jämfördes med en virologisk definition på misslyckad behandling. En misslyckad virologisk behandling definierades som en virusmängd som var större än eller lika med 50 kopior/ml vid personens senaste dag för deltagande i studien efter minst 48 veckors behandling.

Tabell 39 visar de demografiska egenskaperna för de 355 personerna som deltog i studien.

Tabell 39 Demografiska egenskaper

Demografiska egenskaper	Statistik
	(N = 355)
Ålder (år)	
Medelvärde (SD)	38 (9,3)
Median	38
Intervall	19–68
Kön, n (%)	
Man	322 (90,7 %)
Kvinna	33 (9,3 %)
Ursprung/etnicitet, n (%)	
Asiat	5 (1,4 %)
Svart/afroamerikan	45 (12,7 %)
Vit/kaukasier	303 (85,4 %)
Övriga	2 (0,6 %)
CD4-räkning vid screening (celler/µl), n (%)	
50 till < 200	117 (33,0 %)
200 till < 350	209 (58,9 %)
350 till < 400	17 (4,8 %)
≥ 400	9 (2,5 %)
Okänd	3 (0,8 %)

SD = standardavvikelse.

Resultaten för jämförelserna med användning av tröskelvärden på 50 kopior/ml och 200 kopior/ml med virologiskt misslyckande efter 24 och 48 veckors behandling visas i Tabell 40 och Tabell 41.

Analyserna av virologiskt tröskelvärde på 50 kopior/ml med virologiskt misslyckande (vid vecka 24 och vecka 48) visas i Tabell 40. Vid vecka 24 var PPV 15,6 % (10/64, 95 % KI: 7,8 %, 26,9 %) och vid vecka 48 var PPV 25,7 % (9/35, 95 % KI: 12,5 %, 43,3 %). Vid vecka 24 var NPV 90,9 % (251/276, 95 % KI: 86,9 %, 94,1 %) och vid vecka 48 var NPV 91,1 % (285/313, 95 % KI: 87,3 %, 94 %). Vid vecka 24 var OR 1,86 (95 % KI: 0,75, 4,29), vilket inte var statistiskt signifikant ($p = 0,191$). Vid vecka 48 var OR 3,51 (95 % KI: 1,31, 8,71), vilket var statistiskt signifikant ($p = 0,012$).

Tabell 40 Jämförelse av virologiskt tröskelvärde på 50 kopior/ml med virologiskt misslyckande

		Virologiskt misslyckande ^a		
Besök under pågående behandling	Virologiskt tröskelvärde	Ja	Nej	Totalt
Vecka 24	≥ 50 kp/ml	10	54	64
	< 50 kp/ml	25	251	276
	Totalt	35	305	340 ⁺
Vecka 48	≥ 50 kp/ml	9	26	35
	< 50 kp/ml	28	285	313
	Totalt	37	311	348 ⁺

⁺ Giltiga resultat som har erhållits med cobas® HIV-1.

^a Virologiskt misslyckande klassificeras som "Ja" om virusmängden för ett prov var större än eller lika med 50 kp/ml vid vecka 144 eller vid det sista besöket om det inte gjordes något besök vecka 144. Det sista besöket måste ha gjorts vecka 48 eller senare.

När tröskelvärden på 200 kp/ml användes för att definiera virologiskt misslyckande som det visas i Tabell 41, så var PPV 22,2 % i vecka 24 (2/9, 95 % KI: 2,8 %, 60 %) och i vecka 48 ökade PPV till 100 % (2/2, 95 % KI: 15,8 %, 100 %). Vid vecka 24 var NPV 90,0 % (298/331, 95 % KI: 86,3 %, 93 %) och vid vecka 48 var NPV 89,9 % (311/346, 95 % KI: 86,2 %, 92,9 %). Vid vecka 24 var OR 2,57 (95 % KI: 0,25, 14,27), vilket inte var statistiskt signifikant ($p = 0,469$). Vid vecka 48 var OR 20,76 (95 % KI: 2,46, ej beräkningsbart), vilket var statistiskt signifikant ($p = 0,022$).

Tabell 41 Jämförelse av virologiskt tröskelvärde på 200 kopior/ml med virologiskt misslyckande

		Virologiskt misslyckande ^a		
Besök under pågående behandling	Virologiskt tröskelvärde	Ja	Nej	Totalt
Vecka 24	≥ 200 kp/ml	2	7	9
	< 200 kp/ml	33	298	331
	Totalt	35	305	340 ⁺
Vecka 48	≥ 200 kp/ml	2	0	2
	< 200 kp/ml	35	311	346
	Totalt	37	311	348 ⁺

⁺ Giltiga resultat som har erhållits med cobas® HIV-1.

^a Virologiskt misslyckande klassificeras som "Ja" om virusmängden för ett prov var större än eller lika med 50 kp/ml vid vecka 144 eller vid det sista besöket om det inte gjordes något besök vecka 144. Det sista besöket måste ha gjorts vecka 48 eller senare.

Alla oddskvoter var över 1 och ökade mellan 24 till 48 veckor av behandlingen. Statistiskt signifikanta oddsförhållanden iakttogs för båda tröskelvärdena vid vecka 48. Vid båda tröskelvärdena visar det höga NPV-värdet testets förmåga att förutse för vilka patienter som behandlingen inte misslyckas vid varje tidpunkt.

Analysen av oddskvoterna visade också att det är större sannolikhet för att virusmängder hos patienter under behandling som är större än de givna tröskelvärdena korrelerar med efterföljande virologiskt misslyckande (positivt prediktivt värde, eller PPV). Det låga antalet misslyckade behandlingar i studien begränsade dock den statistiska analysen av PPV för virologiskt misslyckande.

Den kliniska prestandan för **cobas**® HIV-1 med plasmasepareringskort **cobas**® Plasma Separation Card (PSC) som provtagningsenhet har även utvärderats i externa studier som stöder användning av PSC som ett verktyg för korrekt, genomförbar och tillförlitlig övervakning av HIV-1-virusmängder.²¹

Slutsats

cobas® HIV-1 kan tillförlitligt kvantifiera HIV-1 och övervaka respons på antiretroviral behandling. Resultaten av de här studierna stöder användbarheten för testet vid klinisk behandling av HIV-1-infekterade patienter.

Systemekvivalens/systemjämförelse

Systemekvivalensen för **cobas**® 5800, **cobas**® 6800 och **cobas**® 8800 Systems påvisades genom studier av prestandan.

Resultaten som presenteras i bruksanvisningen ger stöd för motsvarande prestanda för alla system.

Ytterligare information

Viktiga testegenskaper för EDTA-plasmaprover

Provtyp	EDTA-plasma
Minsta mängd prov som krävs	650 µl eller 350 µl
Provbearbetningsvolym	500 µl eller 200 µl
Analytisk sensitivitet	13,2 kp/ml (500 µl) 35,5 kp/ml (200 µl)
Linjärt intervall	500 µl: 20 kp/ml – 1,0E+07 kp/ml
	200 µl: 50 kp/ml – 1,0E+07 kp/ml
Specificitet	100 % (ensidigt 95-procentigt konfidensintervall: 99,5 %)
Detekterade genotyper	HIV-1M (A–D, F–H, CRF01_AE, CRF02_AG), HIV-1O, HIV-1N

Viktiga testegenskaper för torkade PSC-plasmaprover

Provtyp	Torkat plasmaprov från plasmasepareringskort
Minsta mängd prov som krävs	140 µl helblod
Provbearbetningsvolym	850 µl
Analytisk sensitivitet	790,2 kp/ml
Linjärt intervall	790 kp/ml – 1,0E+07 kp/ml
Specificitet	100 % (ensidigt 95-procentigt konfidensintervall: 98,3 %)

Symboler

Följande symboler används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter.

Tabell 42 Symboler som används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter

 Age/DOB	Ålder eller födelsedatum		Produkt ej avsedd för patientnära testning	 QS IU/PCR	QS IU per PCR-reaktion, använd antalet internationella enheter (IU) för QS per PCR-reaktion vid beräkning av resultaten.
 SW	Stödprogramvara		Produkt ej avsedd för självtestning	 SN	Serienummer
 Assigned Range [copies/mL]	Tilldelat intervall (kopior/mL)		Distributör (Obs! Det tillämpliga landet/regionen kan vara betecknat nedanför symbolen.)	 Site	Plats
 Assigned Range [IU/mL]	Tilldelat intervall (IU/mL)		Får ej återanvändas	 Procedure Standard	Standardprocedur
 EC REP	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen		Kvinna	 STERILE EO	Steriliserad med etylenoxid
 BARCODE	Streckodsdatablad		Endast för IVD-egenskapsutvärdering		Förvaras mörkt
 LOT	Lotnummer	 GTIN	GTIN-nummer		Temperaturgräns
	Biologisk risk		Importör	 TDF	Testdefinitionsfil
 REF	Katalognummer	 IVD	Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik		Denna sida upp
	CE-märkning om överensstämmelse: den här enheten uppfyller alla tillämpliga krav för CE-märkning av en medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik	 LLR	Lägre gräns för tilldelat intervall	 Procedure UltraSensitive	Ultrasensitiv procedur
 Collect Date	Provtagningsdatum		Man	 UDI	Unikt enhets-ID
	Se bruksanvisningen		Tillverkare	 ULR	Övre gräns för tilldelat intervall
	Innehåller tillräckligt med reagens för $<n>$ analyser	 CONTROL -	Negativ kontroll	 Urine Fill Line	Urinfyllnadsnivå
 CONTENT	Utrustningen innehåller		Icke-steril	 Rx Only	Endast USA: Särskilda nationella regler kan gälla för försäljning av den här enheten.
 CONTROL	Kontroll		Patientens namn		Utgångsdatum
	Tillverkningsdatum		Patientnummer		
	Produkt för patientnära testning		Öppna här		
	Produkt för självtestning	 CONTROL +	Positiv kontroll		
		 QS copies / PCR	QS-kopior per PCR-reaktion, använd antalet QS-kopior per PCR-reaktion vid beräkning av resultaten.		

Teknisk support

Om du behöver teknisk support kontaktar du Roche kundsupport via:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Tillverkare och importör

Tabell 43 Tillverkare och importör



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

Made in USA (FTC-standard)



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 68305 Mannheim, Germany

Varumärken och patent

Den här produkten täcks av ett eller flera amerikanska patent (nr 8962293, 9102924, 8609340, 9234250, 8097717, 8192958, 10059993, 10358675, 8129118 och 6727067) samt motsvarande respektive patent utomlands.

COBAS, COBAS OMNI, AMPERASE, AMPLIPREP och TAQMAN är varumärken som tillhör Roche.

Varumärket "Armored RNA" ägs av Asuragen, Inc. och Cenetron Diagnostics, Ltd.

ProClin® är ett registrerat varumärke som tillhör Rohm and Haas Company.

Alla andra produktnamn och varumärken tillhör respektive ägare.

Teknik för förhindrande av korskontaminering i AmpErase®-enzym täcks av amerikanskt patentnummer 7,687,247 som ägs av Life Technologies och är licensierat till Roche Molecular Systems, Inc.

Vissa komponenter för denna produkt täcks av ett eller flera amerikanska patent och motsvarigheten utomlands, utfärdade till Novartis Vaccines and Diagnostics, Inc. och licensierade till Roche Molecular Systems, Inc. och F. Hoffman-La Roche Ltd.

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

Copyright

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Str. 116
 68305 Mannheim
 Germany



Referenser

1. Mellors JW, Muñoz A, Giorgi JV, et al. Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med.* 1997;126:946-54. PMID: 9182471.
2. Mellors JW, Margolick JB, Phair JP, et al. Prognostic value of HIV-1 RNA, CD4 cell count, and CD4 Cell count slope for progression to AIDS and death in untreated HIV-1 infection. *JAMA.* 2007;297:2349-50. PMID: 17551128.
3. Department of Health and Human Services. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV. <https://clinicalinfo.hiv.gov/sites/default/files/guidelines/documents/AdultandAdolescentGL.pdf>. Accessed December 3, 2020.
4. Cohen MS, Chen YQ, McCauley M, et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. *N Engl J Med.* 2011;365:493-505. PMID: 21767103.
5. Phillips AN, Pillay D, Garnett G, et al. Effect on transmission of HIV-1 resistance of timing of implementation of viral load monitoring to determine switches from first to second-line antiretroviral regimens in resource-limited settings. *AIDS.* 2011;25:843-50. PMID: 21192233.
6. Sigaloff KC, Hamers RL, Wallis CL, et al. Unnecessary antiretroviral treatment switches and accumulation of HIV resistance mutations; two arguments for viral load monitoring in Africa. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2011;58:23-31. PMID: 21694603.
7. European AIDS Clinical Society. European AIDS Clinical Society 2017 Guidelines. https://www.eacsociety.org/files/guidelines_9.0-english.pdf. Accessed December 3, 2020.
8. World Health Organization. Consolidated Guidelines on the Use of Antiretroviral Drugs for Treating and Preventing HIV Infection – Recommendations for a Public Health Approach. <https://www.who.int/hiv/pub/arv/arv-2016/en/>. Accessed December 3, 2020.
9. Günthard HF, Aberg JA, Eron JJ, et al. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2014 recommendations of the International Antiviral Society-USA Panel. *JAMA.* 2014;312:410-25. PMID: 25038359.
10. Do T, Duncan J, Butcher A, Liegler T. Comparative frequencies of HIV low-level viremia between real-time viral load assays at clinically relevant thresholds. *J Clin Virol.* 2011;52 Suppl 1:S83-9. PMID: 21995930.
11. Paba P, Fabeni L, Ciccozzi M, Perno CF, Ciotti M. Performance evaluation of the COBAS/TaqMan HIV-1 v2.0 in HIV-1 positive patients with low viral load: a comparative study. *J Virol Methods.* 2011;173:399-402. PMID: 21419171.
12. Deeks SG. Durable HIV treatment benefit despite low-level viremia: reassessing definitions of success or failure. *JAMA.* 2001;286:224-6. PMID: 11448286.
13. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene.* 1990;93:125-8. PMID: 2227421.

14. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93. PMID: 7845459.
15. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78. PMID: 7697717.
16. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7. PMID: 1368485.
17. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. PMID: 8908518.
18. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. <https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetyMicrobiologicalBiomedicalLaboratories-2009-P.PDF>. Accessed December 2, 2020.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. https://clsi.org/media/1459/m29a4_sample.pdf. Accessed December 2, 2020.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute. EP06-A. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. https://clsi.org/media/1437/ep06a_sample.pdf. Accessed October 3, 2020.
21. Vubil A, Zicai AF, Siteo N, et al. Accurate HIV viral load measurement in primary health care settings using the **cobas**® plasma separation card. *PLoS One*. 2020;15:e0232122. PMID: 32374748.

Revidering av dokumentet

Information om revidering av dokumentet	
Doc Rev. 2.0 07/2021	Specifik information för cobas® 5800 har lagts till. En adress till importören har lagts till. Adresser till distributörer har tagits bort. Sidan med harmoniserade symboler har uppdaterats. Kontakta Roche kundsupport vid eventuella frågor.
Doc Rev. 3.0 01/2022	Referensen till PSC-metodbladet ms_09411763190 har uppdaterats för att återge nya M/N för PSC-kort. Bild 3 och bild 4 har uppdaterats för att överensstämma med PSC-metodbladet ms_09411763190. Kontakta Roche kundsupport vid eventuella frågor.