

cobas[®] MPX

Multiplexní test nukleových kyselin HIV, HCV a HBV

Pro použití k *in vitro* diagnostice



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

Obsah

Účel použití.....	5
Souhrn a výklad testu.....	5
Reagencie a materiály	8
Činidla a kontroly cobas® MPX.....	8
Reagencie cobas® omni pro přípravu vzorků	12
Požadavky na uchovávání reagentů	13
Požadavky na manipulaci s reagenty pro systém cobas® 5800.....	13
Požadavky na manipulaci s reagenty pro systémy cobas® 6800/8800.....	14
Další materiály potřebné pro systém cobas® 5800	14
Další materiály potřebné pro systémy cobas® 6800/8800	15
Požadované přístroje a software.....	15
Bezpečnostní opatření a požadavky na manipulaci.....	16
Varování a bezpečnostní opatření.....	16
Manipulace s reagenty.....	16
Správná laboratorní praxe.....	17
Odběr, přeprava, uchovávání a poolování vzorků.....	17
Vzorky krve žijících dárců	17
Kadaverózní krevní vzorky	20
Návod k použití.....	21
Automatické pipetování a poolování vzorků (volitelné)	21
Procesní poznámky.....	21
Provedení testu cobas® MPX v systému cobas® 5800	22
Provedení testu cobas® MPX v systémech cobas® 6800/8800.....	23
Výsledky	24
Kontrola kvality a platnost výsledků v systému cobas® 5800	24
Kontrola kvality a platnost výsledků v systémech cobas® 6800/8800.....	25
Vyhodnocení výsledků	26
Další informace pro interpretaci výsledků v systému cobas® 5800.....	26
Opakované testování individuálních vzorků.....	27

Procesní omezení	27
Ekvivalence systému/porovnání systémů	27
Neklinické hodnocení výkonnosti prováděné na systémech cobas® 6800/8800.....	28
Klíčové funkční charakteristiky.....	28
Vzorky žijících dárců.....	28
Mez detekce (<i>Limit of Detection</i> , LoD)	28
Reprodukovatelnost	32
Verifikace genotypů.....	34
Sérokonverzní panely.....	39
Analytická specifická.....	42
Analytická specifická – interferenční látky.....	43
Korelace.....	44
Selhání celého systému.....	45
Křížová kontaminace	45
Kadaverózní vzorky.....	46
Senzitivita.....	46
Specifická.....	47
Reprodukovatelnost	47
Klinické hodnocení výkonnosti prováděné na systémech cobas® 6800/8800.....	49
Reprodukovatelnost	49
Klinická specifická	52
Reaktivita v populaci dárců krve.....	52
Reaktivita v populaci dárců plazmy.....	53
Studie u vysoce rizikové populace	54
Klinická senzitivita	56
Studie NAT-pozitivních populací.....	56
Klinická senzitivita pro séropozitivní populaci s HIV-1 skupiny O a s HIV-2.....	57
Séropozitivní populace s HIV-1 skupiny O	57
HIV-2 séropozitivní populace.....	57
Potvrzení sérologických výsledků.....	58

Doplňující informace	59
Hlavní parametry testu	59
Symboly	60
Technická podpora	61
Výrobce a dovozce	61
Ochranné známky a patenty	61
Autorská práva.....	61
Literatura	62
Revize dokumentu.....	65

Účel použití

Test **cobas**® MPX pro použití na systémech **cobas**® 5800/6800/8800 je kvalitativní *in vitro* test pro přímé zjištění RNA lidského viru selhání imunity typu 1 (HIV-1) skupiny M, RNA viru HIV-1 skupiny O, RNA lidského viru selhání imunity typu 2 (HIV-2), RNA viru hepatitidy C (HCV) a DNA viru hepatitidy B v lidské plazmě a séru.

Tento test je určen pro skrínigové testy dárců krve ke zjištění RNA HIV-1 skupiny M, RNA HIV-1 skupiny O, RNA HIV-2, RNA HCV a DNA HBV ve vzorcích plazmy a séra od jednotlivých dárců, včetně dárců plné krve, složek krve a dalších žijících dárců. Tento test je také určen pro použití při vyšetření dárců orgánů a tkání, kdy jsou vzorky dárce odebrány, zatímco jeho srdce ještě bije, a při vyšetření kadaverózních (zemřelých) dárců (bez srdečního pulsu). Plazma a sérum od všech dárců může být otestováno jako jednotlivé vzorky. U dárcovských odběrů celé krve a složek krve, plazmy a séra mohou být vzorky testovány jednotlivě; plazma může být testována i ve směsích alikvotů jednotlivých vzorků. Odběry od kadaverózních dárců orgánů a tkání (bez srdečního pulsu) mohou být testovány pouze jako jednotlivé vzorky.

U jednotlivých vzorků jsou výsledky simultánně detekovány a rozlišeny pro HIV, HCV a HBV.

Test **cobas**® MPX je možné považovat za dodatečný test, který slouží k potvrzení infekce HIV u vzorků, které jsou opakovaně reaktivní v CE-IVD testu na protilátky proti HIV a reaktivní v testu **cobas**® MPX.

Test **cobas**® MPX je možné považovat za dodatečný test, který slouží k potvrzení infekce HCV u vzorků, které jsou opakovaně reaktivní v CE-IVD testu na protilátky proti HCV a reaktivní v testu **cobas**® MPX.

Test **cobas**® MPX je možné považovat za dodatečný test, který slouží k potvrzení infekce HBV u vzorků, které jsou opakovaně reaktivní v CE-IVD testu na povrchový antigen hepatitidy B a reaktivní v testu **cobas**® MPX.

Tento test není určen jako pomůcka pro diagnostiku infekce HIV, HCV nebo HBV.

Souhrn a výklad testu

Základní informace: skrínig krve pro virové infekce přenášené transfúzí

Hlavním problémem týkajícím se transfuze krve a jejích složek je potenciální přenos virových infekcí, zvláště pak lidského viru selhání imunity typu 1 (HIV-1) a typu 2 (HIV-2), viru hepatitidy C (HCV) a viru hepatitidy B. Tyto agens jsou primárně přenášeny kontaminovanou krví nebo plazmovými produkty, některými tkáněmi nebo tekutinami, pohlavním stykem nebo z infikované matky na její novorozené dítě.

Prevalence HIV-1 je celosvětová, s celkovou odhadovanou prevalencí 1,1 % (0,56 % v Severní Americe a 0,25 % v západní Evropě).¹ Osoby nakažené HIV-1 mohou pociťovat lehké, zprvu akutní chřipkové příznaky spojené s vysokými úrovněmi virémie v periferní krvi v rozpětí 3–6 týdnů od prvotního nakažení. V současné době existují tři hlavní genetické skupiny HIV-1: skupina M (hlavní), skupina N (non-M-non-O) a skupina O (okrajová). Skupina M vysoce převládá a dělí se do 9 subtypů a také několika cirkulujících rekombinantních forem (CRF).^{2–4}

Virus HIV-2 byl poprvé izolován v roce 1986 u pacientů v západní Africe. HIV-1 i HIV-2 mají stejný způsob přenosu a jsou spojeny s podobnými oportunními infekcemi a syndromem získaného selhání imunity (AIDS).^{5,6} Výskyt viru HIV-2 u některých afrických národů dosahuje více než 1 %; HIV-2 způsobuje rostoucí obavy v některých částech Evropy a Indie.^{7–11} Podle doporučení Centra pro kontrolu a prevenci nemocí (CDC) je pro sledování HIV-2 v populaci USA nutný trvalý dohled.¹²

HCV je považován za hlavní etiologické agens odpovědné za 90 % až 95 % případů hepatitidy non-A a non-B následujících po transfúzi.^{12–15} Uváděný výskyt HCV kolísá mezi 0,5 až 2,0 % v západní Evropě¹⁶ a mezi 6 % a 40 % v Egyptě.¹⁷

Dvě miliardy dnes žijících lidí na celém světě byly někdy ve svém životě infikovány virem HBV. Více než 250 miliónů zůstává chronicky infikovaných a stávají se nosiči viru.^{18–20} HCV i HBV infekce mohou vyústit v chronické onemocnění jater; tyto viry jsou nejběžnější příčinou cirhózy a rakoviny jater a odpovídají za 60–80 % případů na celém světě.²¹

Důvod pro testování nukleových kyselin

Skríningy séra podstatně snížily, nikoliv však eliminovaly, nebezpečí přenosu virových infekcí transfuzí krve a krevními produkty. Testování plné krve a plazmy dárců na HBV bylo počátkem 70. let minulého století zahájeno vyšetřeními povrchového antigenu HBV (HBsAg) a v 80. letech na protilátky proti HBc. Navíc ke skrínigovému testování HBV jsou dárcovské odběry krve a plazmy rutinně testovány na protilátky proti HIV a HCV pomocí enzymové imunoanalýzy (EIA).^{22,23} Zbytkové riziko existuje u krve odebrané v období tvorby protilátek, jehož délka se odhaduje na přibližně 19 dnů u HIV-1, 65 dnů u HCV a 36 dnů u HBV.²⁴ Testování virových nukleových kyselin (RNA HIV-1, RNA HCV a DNA HBV) pomocí technologie amplifikace nukleových kyselin (NAT) může toto riziko podstatně snížit.^{25,26} Po zavedení NAT, je současné zbytkové riziko transfúze v USA 1:1,5 miliónu pro HIV-1, 1:1,2 miliónu pro HCV a 1:280 000–1:355 000 pro HBV.^{27,28} Podobné odhady pro Německo, kde bylo testování NAT zavedeno v roce 1999, udávají odhad zbytkového rizika infekcí přenesených transfúzí 1:4,3 miliónu pro HIV-1, 1:10,9 miliónu pro HCV a 1:360 000 pro HBV.²⁴ V případě HBV navíc testování NAT také vyřadí dárce se skrytou infekcí HBV, u nichž je DNA HBV detekovatelná, ale HBsAg není přítomen,²⁹ a očkované dárce s průlomovou subklinickou infekcí.^{30–32}

Princip testu

Test **cobas® MPX** je kvalitativní multiplexní test, který se provádí na systémech **cobas® 5800/6800/8800**. Test **cobas® MPX** umožňuje současnou detekci a rozlišení RNA HIV, RNA HCV, a DNA HBV s interní kontrolou v jediném testu jednotlivého infikovaného dárcovského odběru nebo smíchané plazmy z jednotlivých dárcovských odběrů. Test nerozlišuje mezi HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O a HIV-2.

Principy postupu

Test **cobas® MPX** je založen na principu technologie PCR v reálném čase a plně automatizovaném systému přípravy vzorků (extrakce a purifikace nukleové kyseliny), po které následuje PCR amplifikace a detekce. Systém **cobas® 5800** se skládá z jediného integrovaného přístroje. Systém **cobas® 6800/8800** se skládá z modulu pro dodávání vzorků, přenosového modulu, procesního modulu a analytického modulu. Software systému **cobas® 5800** nebo **6800/8800** provádí automatické zpracování dat, při kterém přiřazuje všem testům výsledky nereaktivní, reaktivní nebo neplatné. Při použití systému **cobas® 5800** se k prohlížení výsledků a tisku zpráv doporučuje software **cobas® Synergy**, který je nutný pro odesílání výsledků do systému Laboratory Information Management System (LIMS) nebo jiného systému pro zpracování výsledků. Při použití systémů **cobas® 6800/8800** lze výsledky prohlížet přímo na obrazovce systému a vytisknout jako zprávu nebo zaslat do LIMS nebo jiného systému pro zpracování výsledků.

Vzorky lze testovat individuálně, nebo lze zvolit testování skupiny vzorků, které se skládají z více vzorků.

Při testování na systémech **cobas® 5800** je nutné použít software **cobas® Synergy**, i když není prováděno poolování. Pokud se provádí analýza poolovaných vzorků v preanalytickém kroku, lze použít software **cobas® Synergy** s pipetorem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD.

V případě analýzy na systémech **cobas® 6800/8800**, lze v preanalytickém kroku volitelně použít zařízení **cobas® p 680** nebo software **cobas® Synergy** s pipetorem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet.

Nukleové kyseliny ze vzorku a přidané molekuly Armored RNA vnitřní kontroly (IC) (které slouží jako procesní kontrola přípravy vzorku a amplifikace/detekce) jsou zpracovány zároveň. Test navíc využívá čtyři externí kontroly: tři pozitivní

a jednu negativní kontrolu. K uvolnění virových nukleových kyselin dochází přidáním proteinázy a lyzační reagentie ke vzorku. Uvolněné nukleové kyseliny se váží na křemičitanový povrch přidávaných magnetických partikulí. Nenavázané látky a nečistoty, jako například denaturované proteiny, buněčný odpad a případné inhibitory PCR (jako například hemoglobin) jsou odstraněny během následujících kroků promývacím činidlem; purifikované nukleové kyseliny jsou eluovány z magnetických skleněných partikulí elučním pufrům při zvýšené teplotě.

K selektivní amplifikaci cílových nukleových kyselin ze vzorku dárce dochází pomocí dopředných a zpětných primerů specifických pro virové sekvence vybrané z vysoce konzervovaných oblastí virové nukleové kyseliny. U viru HIV-1 skupiny M jsou amplifikovány dvě různé oblasti virového genomu (dvojité cíle). Teplotně stabilní enzym DNA polymeráza se používá jak pro reverzní transkripci, tak pro amplifikaci. Hlavní reagenční mix obsahuje deoxyuridintrifosfát (dUTP) namísto deoxythimintrifosfátu (dTTP), který je zabudováván do nově syntetizované DNA (amplikonu).^{33–35} Jakékoliv kontaminující amplikony z předcházejících běhů PCR jsou eliminovány enzymem AmpErase [uracil-N-glykosyláza], který je zahrnut ve směsi PCR Master Mixu, při zahřátí v prvním kroku teplotního cyklu. Nově vytvořené amplikony však eliminovány nejsou, protože enzym AmpErase je inaktivován po vystavení teplotám nad 55 °C.

Činidlo cobas® MPX Master Mix obsahuje detekční sondy, které jsou specifické pro nukleovou kyselinu HIV-1 (skupiny M a O), HIV-2, HCV, HBV nebo IC. Součástí jsou detekční sondy pro každý cíl HIV-1 skupiny M spolu s duálními sondami pro HCV. Specifické detekční sondy pro HIV, HCV, HBV a IC jsou označeny každá jedním ze čtyř jedinečných fluorescenčních barviv, která mají oznamovací funkci. Každá sonda obsahuje též páte barvivo, které má tlumící funkci. Tato čtyři fluorescenční barvy jsou měřena při definovaných vlnových délkách, což umožňuje současnou detekci a rozlišování mezi amplifikovanou cílovou sekvencí HIV, HCV, HBV a IC.^{36, 37} Fluorescenční signály intaktních sond, které nejsou navázány na cílové sekvence, jsou potlačeny zhášecem. Během kroku PCR amplifikace dochází kvůli hybridizaci sond se specifickým templátem jednořetězcové DNA k štěpení sondy 5'-3' exonukleázovou aktivitou DNA polymerázy, která způsobí oddělení fluorescenční barvy a zhášece a vznik fluorescenčního signálu. U každého PCR cyklu jsou generovány zvýšená množství rozštěpených sond a kumulativní signál fluorescenčního barviva se postupně zvyšuje. Protože jsou čtyři specifická fluorescenční barvy měřena při definovaných vlnových délkách, je možná současná detekce i rozlišování mezi amplifikovanými cílovými sekvencemi HIV, HCV a HBV a sekvencí IC.

Reagencie a materiály

Činidla a kontroly cobas® MPX

Všechna neotevřená reagentie a kontroly mají být uchovávány v souladu s doporučeními v Tab. 1 až Tab. 4.

Tab. 1 Test cobas® MPX

Test cobas® MPX Uchovávat při 2–8 °C Kazeta pro 192 testů (P/N 09288538190) Kazeta pro 480 testů (P/N 09040862190)			
Součásti soupravy	Složky reagentií	Množství v soupravě 192 testů	Množství v soupravě 480 testů
Roztok proteinázy (PASE)	Tris pufr, < 0,05 % EDTA, chlorid vápenatý, octan vápenatý, 8 % (w/v) proteináza, glycerol EUH210: Na vyžádání je k dispozici bezpečnostní list. EUH208: Obsahuje subtilisin z <i>Bacillus subtilis</i> . Může vyvolat alergickou reakci.	22,3 ml	38 ml
Vnitřní kontrola (IC)	Tris pufr, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % konstrukt Armored RNA pro vnitřní kontrolu (neinfekční RNA enkapsulovaná v bakteriofágu MS2), < 0,002 % Poly rA RNA (syntetická), < 0,1 % azid sodný	21,2 ml	38 ml
Eluční pufr (EB)	Tris pufr, 0,2 % methyl-4-hydroxybenzoát	21,2 ml	38 ml
Reagentie MPX Master Mix 1 (MMX-R1)	Octan hořečnatý, hydroxid draselný, < 0,1 % azid sodný	7,5 ml	14,5 ml
Reagentie MPX Master Mix 2 (MPX MMX-R2)	Tricinový pufr, octan draselný, glycerol, 18 % dimethylsulfoxid, Tween 20, EDTA, < 0,06 % dATP, dGTP, dCTP, < 0,14 % dUTP, < 0,01 % dopředné a zpětné primery HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV, HBV a vnitřní kontroly, < 0,01 % fluorescenčně značené sondy specifické pro HIV, HCV a HBV, < 0,01 % fluorescenčně značené sondy pro vnitřní kontrolu, < 0,01 % oligonukleotidový aptamer, < 0,01 % Z05D DNA polymeráza, < 0,01 % enzym AmpErase (uracil-N- glykosyláza) (mikrobiální), < 0,1 % azid sodný	9,7 ml	17,5 ml

Tab. 2 Kontrolní souprava **cobas®** MPX Control Kit**cobas® MPX Control Kit**

Uchovávat při 2–8 °C

(P/N 09040846190)

Součásti soupravy	Složky reagensů	Množství v soupravě	Bezpečnostní symboly a varování*
Multipozitivní kontrola MPX (MPX M (+) C)	< 0,001 % syntetická (armored) RNA viru HIV-1 skupiny M enkapsulovaná v obalovém proteinu bakteriofágu MS2, < 0,001 % syntetická (armored) RNA HCV enkapsulovaná v obalovém proteinu bakteriofágu MS2, < 0,001 % syntetická (plazmidová) DNA HBV enkapsulovaná v obalovém proteinu bakteriofágu Lambda, normální lidská plazma nereagující na protilátky proti HCV, HIV-1/2, HBsAg, protilátku proti HBc podle licenčních testů; RNA HIV-1, RNA HIV-2, RNA HCV a DNA HBV nedetekovatelné PCR metodami 0,1 % konzervant ProClin® 300**	4 ml (4 × 1 ml)	  VAROVÁNÍ H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci. P261: Zamezte vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/par/aerosolů. P272: Kontaminovaný pracovní oděv neodnášejte z pracoviště. P280: Používejte ochranné rukavice. P333 + P313: Při podráždění kůže nebo vyrážce: vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P362 + P364: Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte. P501: Odstraňte obsah/obal předáním zařízení schválenému pro likvidaci odpadů. 55965-84-9 Reakční směs 5-chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-onu a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu (3:1).
HIV-1 O pozitivní kontrola MPX (MPX M (+) C)	< 0,001 % syntetická (armored) RNA viru HIV-1 skupiny O enkapsulovaná v obalovém proteinu bakteriofágu MS2, normální lidská plazma nereagující na protilátky proti HCV, HIV-1/2, HBsAg, protilátku proti HBc podle licenčních testů; RNA HIV-1, RNA HIV-2, RNA HCV a DNA HBV nedetekovatelné PCR metodami 0,1 % konzervant ProClin® 300**	4 ml (4 × 1 ml)	  VAROVÁNÍ H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci. P261: Zamezte vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/par/aerosolů. P272: Kontaminovaný pracovní oděv neodnášejte z pracoviště. P280: Používejte ochranné rukavice. P333 + P313: Při podráždění kůže nebo vyrážce: vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P362 + P364: Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte. P501: Odstraňte obsah/obal předáním zařízení schválenému pro likvidaci odpadů. 55965-84-9 Reakční směs 5-chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-onu a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu (3:1).

Tab. 2 Kontrolní souprava **cobas® MPX Control Kit****cobas® MPX Control Kit**

Uchovávat při 2–8 °C

(P/N 09040846190)

Součásti soupravy	Složky reagensů	Množství v soupravě	Bezpečnostní symboly a varování*
HIV-2 pozitivní kontrola MPX (MPX 2 (+) C)	< 0,001 % syntetická (armored) RNA viru HIV-2 enkapsulovaná v obalovém proteinu bakteriofágu MS2, normální lidská plazma nereagující na protilátky proti HCV, HIV-1/2, HBsAg, protilátku proti HBc podle licenčních testů; RNA HIV-1, RNA HIV-2, RNA HCV a DNA HBV nedetekovatelné PCR metodami 0,1 % konzervant ProClin® 300**	4 ml (4 × 1 ml)	  VAROVÁNÍ H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci. P261: Zamezte vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/par/aerosolů. P272: Kontaminovaný pracovní oděv neodnášejte z pracoviště. P280: Používejte ochranné rukavice. P333 + P313: Při podráždění kůže nebo vyrážce: vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P362 + P364: Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte. P501: Odstraňte obsah/obal předáním zařízení schválenému pro likvidaci odpadů. 55965-84-9 Reakční směs 5-chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-onu a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu (3:1).

* Bezpečnostní označení produktů vychází primárně z pokynů GHS EU.

** Nebezpečná látka.

Tab. 3 Souprava negativní kontroly cobas® NHP Negative Control Kit**cobas® NHP Negative Control Kit**

Uchovávat při 2–8 °C
(P/N 09051554190)

Součásti soupravy	Složky reagensů	Množství v soupravě	Bezpečnostní symboly a varování*
Negativní kontrola normální lidské plazmy (NHP-NC)	Normální lidská plazma, nereaktivní podle licenčních testů na protilátky proti HCV, protilátky proti HIV-1/2, HBsAg; HIV-1 RNA, HIV-2 RNA, HCV RNA a HBV DNA nedetekovatelné PCR metodami < 0,1% konzervant ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	  VAROVÁNÍ H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci. P261: Zamezte vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/par/aerosolů. P272: Kontaminovaný pracovní oděv neodnášejte z pracoviště. P280: Používejte ochranné rukavice. P333 + P313: Při podráždění kůže nebo vyrážce: vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P362 + P364: Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte. P501: Odstraňte obsah/obal předáním zařízení schválenému pro likvidaci odpadů. 55965-84-9 Směs látek: 5-chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-on [EC č. 247-500-7] a 2-methyl-2H-isothiazol-3-on [EC č. 220-239-6] (3:1).

* Bezpečnostní označení produktů vychází primárně z pokynů GHS EU.

** Nebezpečná látka.

Reagencie cobas® omni pro přípravu vzorků

Tab. 4 Reagencie cobas® omni pro přípravu vzorků*

Reagencie	Složky reagentů	Množství v soupravě	Bezpečnostní symboly a varování**
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Uchovávat při 2–8 °C (P/N 06997546190)	Magnetické částice, Tris pufr, 0,1 % methyl-4-hydroxybenzoát, < 0,1 % azid sodný	480 testů	Nevztahuje se
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Uchovávat při 2–8 °C (P/N 06997511190)	Tris pufr, 0,1 % methyl-4-hydroxybenzoát, < 0,1 % azid sodný	4 × 875 ml	Nevztahuje se
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Uchovávat při 2–8 °C (P/N 06997538190)	42,56 % (hm.) guanidinthiokyanát***, 5 % (hm./obj.) polidokanol***, 2 % (hm./obj.) dithiothreitol***, dihydrát citrátu sodného	4 × 875 ml	 NEBEZPEČÍ H302 + H332: Zdraví škodlivý při požití a při vdechování. H314: Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. H411: Toxický pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. EUH032: Uvolňuje vysoce toxický plyn při styku s kyselinami. P273: Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P280: Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít/chrániče sluchu. P303 + P361 + P353 PŘI STYKU S KÚŽÍ (nebo s vlasy): veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou. P304 + P340 + P310: PŘI VDECHNUTÍ: přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře. P305 + P351 + P338 + P310: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře. P391: Uniklý produkt seberte. 593-84-0 Guanidin thiokyanát 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutan-2,3-diol
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Uchovávat při 15–30 °C (P/N 06997503190)	Dihydrát citrátu sodného, 0,1 % methyl-4-hydroxybenzoát	4,2 l	Nevztahuje se

* Testovací souprava cobas® MPX neobsahuje tato reagenty. Viz seznam dalších požadovaných materiálů (Tab. 10 + Tab. 12).

** Bezpečnostní označení produktů vychází primárně z pokynů GHS EU.

*** Nebezpečná látka.

Požadavky na uchovávání reagensů

Podmínky uchovávání reagensů a manipulace s nimi uvádí Tab. 5, Tab. 6 a Tab. 7.

Pokud nejsou reagensy vloženy v systémech **cobas®** 5800/6800/8800, uchovávejte je při odpovídající teplotě, kterou uvádí Tab. 5.

Tab. 5 Uchovávání reagensů (když nejsou vložena v systému)

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

Požadavky na manipulaci s reagensy pro systém **cobas®** 5800

Reagensy vložené do systému **cobas®** 5800 jsou uloženy při příslušných teplotách a systém monitoruje jejich dobu použitelnosti. Systém umožní používání reagensů, pouze pokud jsou splněny podmínky, které uvádí Tab. 6. Systém automaticky znemožňuje použití expirovaných reagensů. Tab. 6 vysvětluje uživatelům podmínky manipulace s reagensy, platné v systému **cobas®** 5800.

Tab. 6 Podmínky doby expirace reagensů v systému **cobas®** 5800

Reagensie	Doba použitelnosti soupravy	Stabilita otevřené soupravy	Počet běhů, pro který může být tato souprava použita	Stabilita v systému
cobas® MPX – 192	Doba zatím neuplynula	90 dnů od prvního použití	Maximálně 40 běhů	Maximálně 36 dní
cobas® MPX – 480	Doba zatím neuplynula	90 dnů od prvního použití	Maximálně 40 běhů	Maximálně 36 dní
cobas® MPX Control Kit	Doba zatím neuplynula	Nevztahuje se	Nevztahuje se	Maximálně 36 dní
cobas® NHP Negative Control Kit	Doba zatím neuplynula	Nevztahuje se	Nevztahuje se	Maximálně 36 dní
cobas® omni Lysis Reagent	Doba zatím neuplynula	30 dnů od vložení**	Nevztahuje se	Nevztahuje se
cobas® omni MGP Reagent	Doba zatím neuplynula	30 dnů od vložení**	Nevztahuje se	Nevztahuje se
cobas® omni Specimen Diluent	Doba zatím neuplynula	30 dnů od vložení**	Nevztahuje se	Nevztahuje se
cobas® omni Wash Reagent	Doba zatím neuplynula	30 dnů od vložení**	Nevztahuje se	Nevztahuje se

** Čas se měří od doby, kdy byla reagensie poprvé vložena do systému **cobas®** 5800.

Požadavky na manipulaci s reagensii pro systémy cobas® 6800/8800

Reagencie vložené do systémů cobas® 6800/8800 jsou uloženy při příslušných teplotách a systém monitoruje jejich dobu použitelnosti. Systém umožní používání reagensií, pouze pokud jsou splněny podmínky, které uvádí Tab. 7. Systém automaticky znemožňuje použití exspirovaných reagensií. Tab. 7 vysvětluje uživateli podmínky manipulace s reagensii, platné v systémech cobas® 6800/8800.

Tab. 7 Podmínky dodržování doby použitelnosti reagensií v systémech cobas® 6800/8800

Reagencie	Doba použitelnosti soupravy	Stabilita otevřené soupravy	Počet běhů, pro který může být tato souprava použita	Stabilita na palubě (celková doba na palubě mimo chlazené úložiště)
cobas® MPX – 192	Doba zatím neuplynula	90 dnů od prvního použití	Maximálně 30 běhů	Maximálně 40 hodin
cobas® MPX – 480	Doba zatím neuplynula	90 dnů od prvního použití	Maximálně 20 běhů	Maximálně 20 hodin
cobas® MPX Control Kit	Doba zatím neuplynula	Nevztahuje se*	Nevztahuje se	Maximálně 8 hodin
cobas® NHP Negative Control Kit	Doba zatím neuplynula	Nevztahuje se*	Nevztahuje se	Maximálně 10 hodin
cobas® omni Lysis Reagent	Doba zatím neuplynula	30 dnů od vložení**	Nevztahuje se	Nevztahuje se
cobas® omni MGP Reagent	Doba zatím neuplynula	30 dnů od vložení**	Nevztahuje se	Nevztahuje se
cobas® omni Specimen Diluent	Doba zatím neuplynula	30 dnů od vložení**	Nevztahuje se	Nevztahuje se
cobas® omni Wash Reagent	Doba zatím neuplynula	30 dnů od vložení**	Nevztahuje se	Nevztahuje se

* Reagencie na jedno použití.

** Čas se měří od doby, kdy byla reagencie poprvé vložena do systémů cobas® 6800/8800.

Další materiály potřebné pro systém cobas® 5800

Tab. 8 Materiály a spotřební materiál pro použití v systémech cobas® 5800

Materiál	P/N
cobas® omni Processing Plate 24	08413975001
cobas® omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas® omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Špičky s filtrem CORE, 1 ml	04639642001
Špičky s filtrem CORE, 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
Vak na pevný odpad nebo Vak na pevný odpad s vložkou	07435967001 nebo 08030073001

Další materiály potřebné pro systémy cobas® 6800/8800

Tab. 9 Materiály a spotřební materiál pro použití v systémech **cobas®** 6800/8800

Materiál	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
Vak na pevný odpad	07435967001
nebo	nebo
Vak na pevný odpad s vložkou	08030073001
Nádoba na pevný odpad	07094361001

Požadované přístroje a software

Na systém **cobas®** 5800 se nainstaluje analytický balíček **cobas®** MPX pro systém **cobas®** 5800. Se systémem bude dodán software x800 Data Manager pro systém **cobas®** 5800. Musí být nainstalován software **cobas®** Synergy.

Na přístroji (přístrojích) má být nainstalován software **cobas®** 6800/8800 a analytický balíček **cobas®** MPX. Se systémem je poskytnut server Instrument Gateway (IG). Je-li k dispozici, musí být nainstalován software **cobas®** Synergy.

Tab. 10 Přístroje

Vybavení	P/N
Systém cobas® 5800	08707464001
Systém cobas® 6800 (pohyblivá platforma)	05524245001 a 06379672001
Systém cobas® 6800 (pevná platforma)	05524245001 a 06379664001
Systém cobas® 8800	05412722001
Modul pro dodávání vzorků pro systémy cobas® 6800/8800	06301037001
Elektronická licence pro software cobas® Synergy (pro systém cobas® 5800)	09311246001
Možnosti pro pipetování a tvorbu poolů	
P/N	
Zařízení cobas® p 680 (pro systémy cobas® 6800/8800)	06570577001
Elektronická licence Dongle pro software cobas® Synergy (systémy cobas® 6800/8800)	09311238001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001
Hamilton MICROLAB® STARlet IVD	04872649001

Další informace naleznete v Asistentu uživatele systému **cobas®** 5800 nebo v Asistentu uživatele systémů **cobas®** 6800/8800. Další informace o primárních a sekundárních vzorkových zkumavkách, které jsou kompatibilní s přístroji, najdete v Asistentu uživatele přístroje **cobas®** p 680 nebo v Asistentu uživatele softwaru **cobas®** Synergy.

Pozn.: kontaktujte místního zástupce společnosti Roche ohledně podrobných seznamů pro objednávky stojánek na vzorky, stojánek pro ucpané špičky a podnosů pro stojánky, které se vejdou do přístrojů.

Bezpečnostní opatření a požadavky na manipulaci

Varování a bezpečnostní opatření

Jak je tomu při každém testovacím postupu, je pro správnou výkonnost tohoto testu zásadním požadavkem dodržovat principy správné laboratorní praxe. Vzhledem k vysoké senzitivitě testu je třeba dbát opatrnosti, aby mezi reagensii a amplifikačními směsmi nedošlo ke kontaminaci.

- Pouze pro účely diagnostiky *in vitro*.
- Se všemi vzorky je nutno zacházet, jako by byly infekční, za použití správných laboratorních postupů, tak jak jsou popsány v publikaci Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories a v dokumentu CLSI číslo M29-A4.^{38, 39} Tento postup smí provádět pouze personál zkušený v zacházení s infekčním materiálem a v používání testu **cobas®** MPX, systémů **cobas®** 5800/6800/8800 a zařízení **cobas®** p 680 (pro systémy **cobas®** 6800/8800) nebo pipetoru Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD se softwarem **cobas®** Synergy, pokud se používají.
- Veškeré materiály pocházející z lidských zdrojů by měly být považovány za potenciálně infekční a musí se s nimi zacházet dle všeobecných bezpečnostních opatření. Pokud dojde k rozlití vzorku, ihned místo dezinfikujte čerstvě připraveným roztokem 0,6% chlornanu sodného v destilované nebo deionizované vodě nebo postupujte dle vlastních vhodných procedur laboratoře.
- Kontrolní sada pro test **cobas®** MPX Control Kit a negativní kontrolní sada NHP pro test **cobas®** NHP Negative Control Kit obsahuje plazmu z lidské krve. Zdrojový materiál byl analyzován pomocí licenčních testů na protilátky a byl shledán nereaktivním vůči protilátce proti HCV, protilátce proti HIV-1/2, HBsAg a protilátce proti HBc. Testování normální lidské plazmy metodami PCR také neprokázalo žádnou detekovatelnou RNA HIV-1 (skupin M a O), RNA HIV-2, RNA HCV ani DNA HBV. Nicméně žádná známá testovací metoda nepředstavuje dokonalou záruku, že se s deriváty z lidské krve nepřenesou nějaká infekční agens.
- Plnou krev nezmrazujte.
- Doporučuje se používat sterilní pipety na jedno použití a certifikované pipetovací špičky bez nukleáz. Pro zajištění optimální výkonnosti testu používejte pouze spotřební materiál, který je součástí dodávky, nebo specifikovaný požadovaný materiál.
- Pečlivě dodržujte uvedené postupy a předpisy, aby se zajistilo správné provedení testů. Jakákoliv odchylka od postupů a předpisů může negativně ovlivnit optimální výkonnost testu.
- Narušení rozhraní mezi buňkami a plazmou nebo rozptýlení materiálu po centrifugaci může vést k vyšším neplatným hodnotám.
- Pokud nebude během manipulace a zpracování vzorků patřičně kontrolována kontaminace přenosem, mohou vzniknout falešně pozitivní výsledky.
- Pokud během použití tohoto testu dojde k jakýmkoli závažným incidentům, informujte o tom místní příslušný úřad a výrobce.

Manipulace s reagensii

- Aby nedošlo u vzorků nebo kontrol ke kontaminaci přenosem, zacházejte se všemi reagensii, kontrolami a vzorky podle zásad správné laboratorní praxe.
- Před použitím vizuálně zkontrolujte každou reagenční kazetu, diluent, lyzační roztoky a promývací roztoky, zda nejeví žádné známky prosakování. Pokud známky prosakování vykazuje, nepoužívejte tento materiál k testování.

- Lyzační reagentie **cobas® omni** Lysis Reagent obsahuje potenciálně nebezpečnou látku guanidinthiokyanát. Vyhněte se kontaktu reagentů s pokožkou, očima nebo sliznicemi. Pokud dojde ke kontaktu, okamžitě postiženou oblast omyjte velkým množstvím vody, jinak může dojít k popáleninám.
- Testovací soupravy **cobas® MPX**, reagentie **cobas® omni** MGP Reagent a diluent **cobas® omni** Specimen Diluent obsahují konzervační prostředek azid sodný. Vyhněte se kontaktu reagentů s pokožkou, očima nebo sliznicemi. Pokud dojde ke kontaktu, okamžitě postiženou oblast omyjte velkým množstvím vody, jinak může dojít k popáleninám. Pokud se reagentie rozlije, zředte ji před vytřením dosucha vodou.
- Lyzační reagentie **cobas® omni** Lysis Reagent, jež obsahuje guanidinthiokyanát, se nesmí dostat do styku s roztokem chlornanu sodného (bělicím prostředkem). Tato směs vytváří vysoce toxický plyn.
- Bezpečnostní listy (SDS) zašle na vyžádání Váš místní zástupce společnosti Roche.
- Všechny materiál, který se dostal do kontaktu se vzorky a reagentiemi, zlikvidujte dle celostátních, respektive místních předpisů.

Správná laboratorní praxe

- Nepipetujte ústy.
- V pracovních laboratorních prostorách nejezte, nepijte a nekuřte.
- Při manipulaci se vzorky a reagentiemi používejte laboratorní rukavice, laboratorní pláště a ochranné brýle. Při přechodu od manipulace se vzorky k manipulaci se soupravami testu **cobas® MPX** a reagentiemi **cobas® omni** je nutno vyměnit rukavice, aby nedošlo ke kontaminaci. Zabraňte kontaminaci rukavic při manipulaci se vzorky a kontrolami.
- Po manipulaci se vzorky a reagentiemi soupravy si důkladně umyjte ruce, jakož i po svléknutí rukavic.
- Všechny pracovní plochy důkladně očistěte a vydezinfikujte čerstvě připraveným 0,6% roztokem chlornanu sodného v destilované nebo deionizované vodě. Dále povrch otřete 70 % etanolem.
- Pokud dojde k rozliti kapaliny na zařízení **cobas® 5800**, řádně povrch přístroje vyčistěte a dekontaminujte podle pokynů v Asistentu uživatele zařízení **cobas® 5800**.
- Pokud dojde k rozliti kapaliny na systémy **cobas® 6800/8800**, řádně povrch systémů vyčistěte a dekontaminujte podle pokynů v Asistentu uživatele systémů **cobas® 6800/8800**.

Odběr, přeprava, uchovávání a poolování vzorků

Pozn.: zacházejte se vzorky a kontrolami jako s potenciálně infekčním materiálem.

Všechny vzorky dárců uchovávejte při stanovených teplotách.

Zvýšené teploty ovlivňují stabilitu vzorků.

- Doporučuje se, aby vzorky séra byly testovány do 8 hodin po centrifugaci při $1600 \times g$ po dobu 20 minut nebo do 24 hodin po vysokorychlostní centrifugaci (např. $2600 \times g$ po dobu 20 minut).

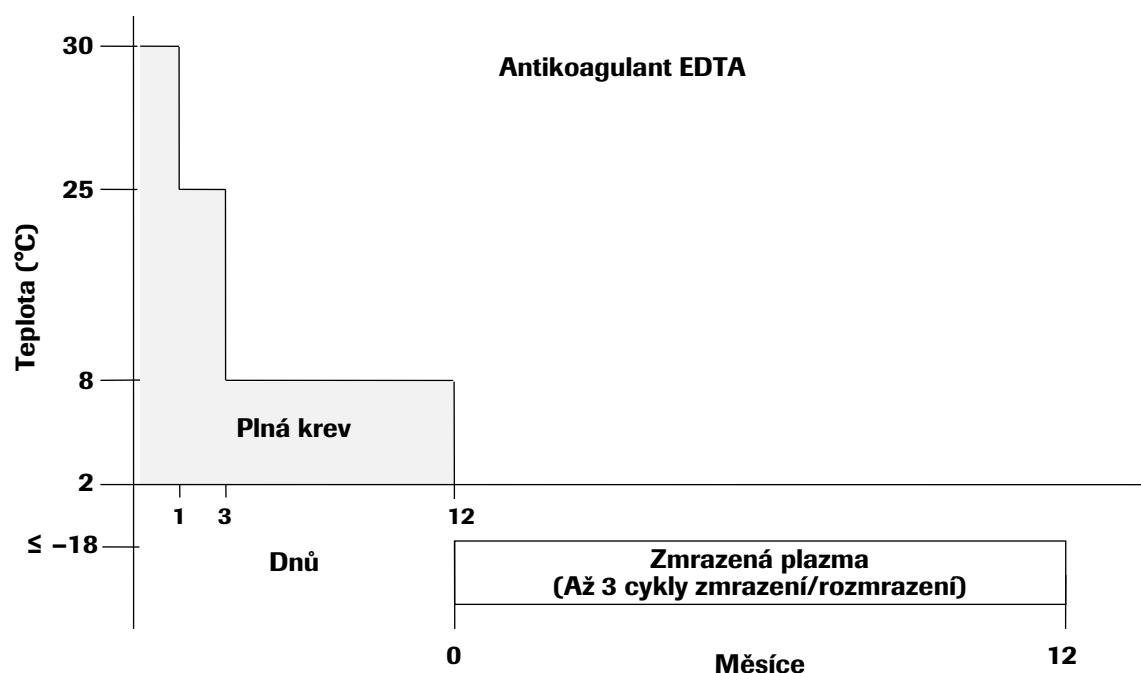
Vzorky krve žijících dárců

- Pro test **cobas® MPX** může být použita plazma s antikoagulanty EDTA, CPD, CPDA1, CP2D a 4% citrátem sodným a sérum odebrané do srážecích zkumavek. Postupujte dle pokynů výrobce zkumavky/vaku na odběr vzorků týkajících se manipulace a odstředování.
- Krev odebraná do zkumavek s antikoagulantem EDTA, zkumavek pro přípravu plazmy EDTA Plasma Preparation Tubes společnosti Becton-Dickinson (BD PPT™) nebo plazmových zkumavek se separačním gelem K2EDTA společnosti Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tubes může být před vkládáním, možným poolováním nebo opakovaným testováním navíc centrifugována rychlostí $600 \times g$ po dobu 5 minut.

- Krev odebraná s antikoagulantem EDTA může být uchovávána až po dobu 12 dnů za následujících podmínek:
 - Vzorky je nutno odstředit do 72 hodin po odběru.
 - Při uchovávání vzorků při teplotě nad 8 °C lze vzorky uchovávat po dobu 72 hodin při teplotě do 25 °C a z těchto 72 hodin mohou být 24 hodin při teplotě do 30 °C.

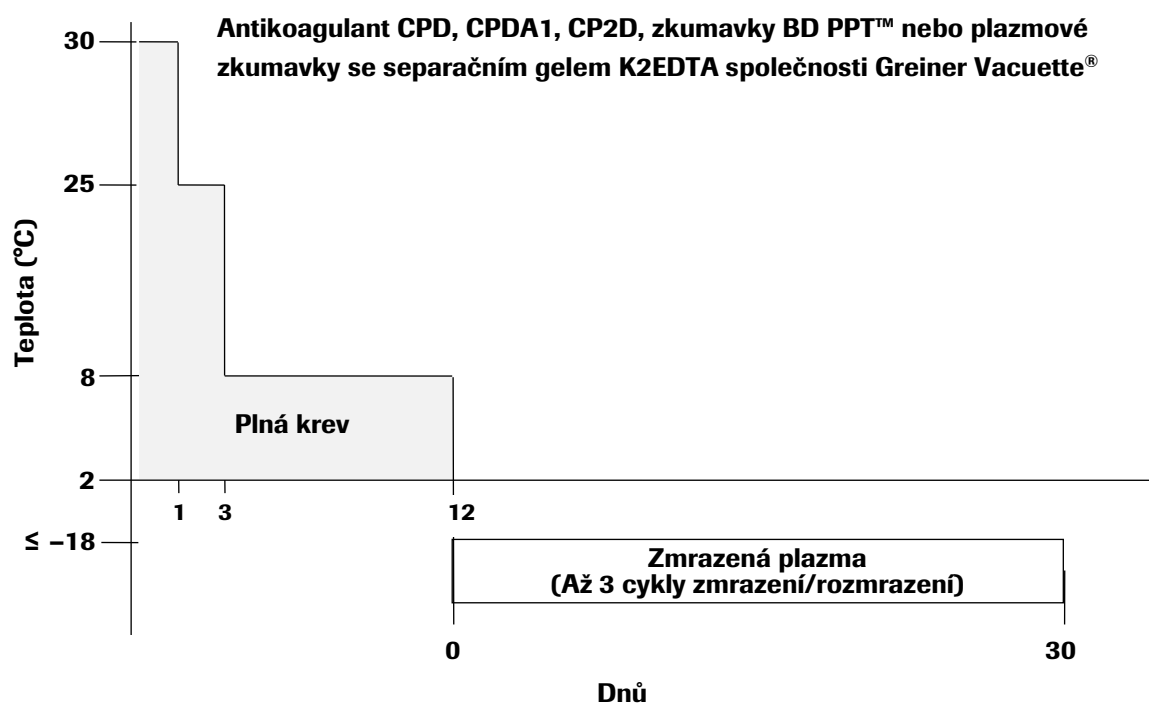
S výjimkou výše uvedeného se vzorky uchovávají při teplotě 2–8 °C. Navíc lze plazmu oddělenou od buněk uchovávat až po dobu 12 měsíců při teplotě ≤ -18 °C se třemi cykly zmrazení a rozmrazení. Viz Obr. 1.

Obr. 1 Podmínky uchovávání vzorků žijících dárců s antikoagulantem EDTA



- Krev odebraná do zkumavek s antikoagulantem CPD, CPDA1, CP2D, zkumavek na přípravu plazmy s EDTA společnosti Becton-Dickinson (BD PPT™) nebo plazmových zkumavek se separačním gelem K2EDTA společnosti Greiner Vacuette® může být uchovávána až po dobu 12 dnů za následujících podmínek:
 - Vzorky je nutno odstředit do 72 hodin po odběru.
 - Při uchovávání vzorků při teplotě nad 8 °C lze vzorky uchovávat po dobu 72 hodin při teplotě do 25 °C a z těchto 72 hodin mohou být 24 hodin při teplotě do 30 °C.

S výjimkou výše uvedeného se vzorky uchovávají při 2–8 °C. Navíc lze plazmu oddělenou od buněk uchovávat až po 30 dnů při teplotě ≤ -18 °C se třemi cykly zmrazení a rozmrazení. Viz Obr. 2.

Obr. 2 Podmínky uchovávání vzorků žijících dárců

- Krev odebraná do sérových srážecích zkumavek může být skladována až po dobu 7 dnů při 2–8 °C za následujících podmínek:
 - Vzorky je nutno odstředit do 72 hodin po odběru.
 - Při uchovávání vzorků při teplotě nad 8 °C lze vzorky uchovávat po dobu 72 hodin při teplotě do 25 °C a z těchto 72 hodin mohou být 24 hodin při teplotě do 30 °C.

S výjimkou výše uvedeného se vzorky uchovávají při teplotě 2–8 °C. Navíc lze sérum oddělené od buněk uchovávat až po dobu 30 dnů při teplotě ≤ –18 °C se třemi cykly zmrazení a rozmrazení.

- Odebraná plazma se 4% antikoagulantem citrátem sodným může být skladována až po dobu 30 dnů při teplotě 2–8 °C za následujících podmínek:
 - Při uchovávání vzorků při teplotě nad 8 °C lze vzorky uchovávat po dobu 72 hodin při teplotě do 25 °C a z těchto 72 hodin mohou být 24 hodin při teplotě do 30 °C.

Navíc může být odebraná plazma se 4% antikoagulantem citrátem sodným skladována až po dobu 12 měsíců při teplotě ≤ –18 °C se dvěma cykly zmrazení a rozmrazení nebo

- Odebraná plazma se 4% antikoagulantem citrátem sodným může být skladována až po dobu 18 dnů při teplotě 2–8 °C za následujících podmínek:
 - Při uchovávání vzorků při teplotě nad 8 °C lze vzorky uchovávat po dobu 72 hodin při teplotě do 25 °C a z těchto 72 hodin mohou být 24 hodin při teplotě do 30 °C.

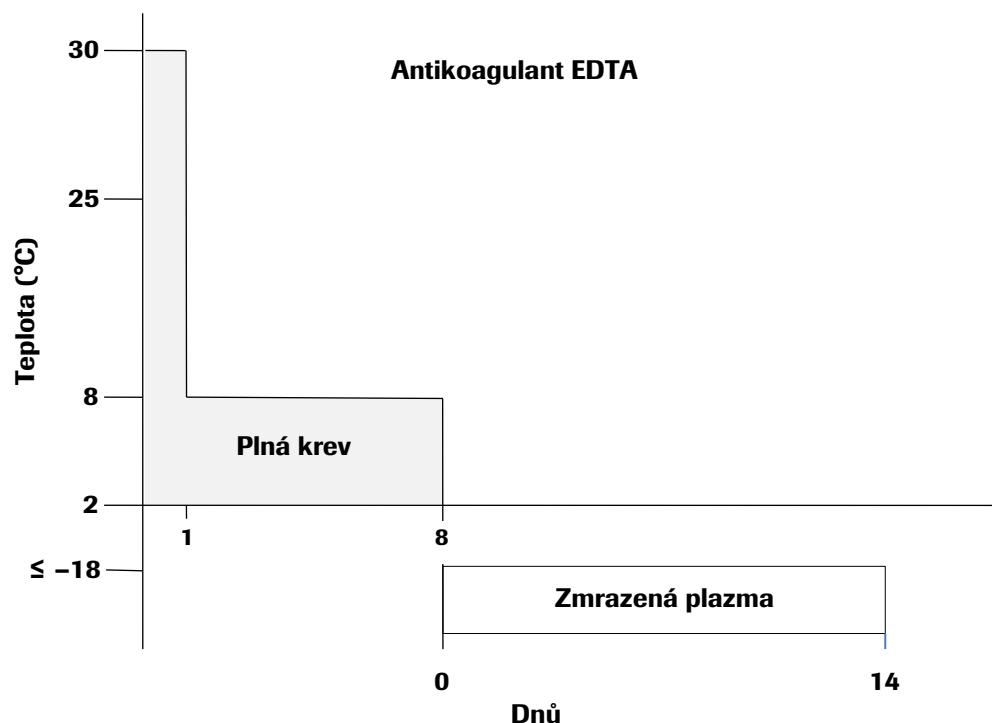
Navíc může být odebraná plazma se 4% antikoagulantem citrátem sodným skladována až po dobu 12 měsíců při teplotě ≤ –18 °C se třemi cykly zmrazení a rozmrazení.

Kadaverózní krevní vzorky

- Kadaverózní krevní vzorky odebrané do zkumavek s antikoagulantem EDTA nebo do srážecích zkumavek na sérum lze použít s testem **cobas® MPX**. Postupujte dle pokynů výrobce zkumavky/vaku na odběr vzorků týkajících se manipulace a odstředování.
- Kadaverózní krev odebraná s antikoagulantem EDTA může být uchovávána až po dobu 8 dnů při teplotě 2–8 °C za následujících podmínek:
 - Vzorky je nutno odstředit do 72 hodin po odběru.
 - Při uchovávání vzorků při teplotě nad 8 °C lze vzorky uchovávat při teplotě do 30 °C po 24 hodin z těchto 72 hodin.

S výjimkou výše uvedeného lze vzorky kadaverózní EDTA plazmy oddělené od buněk uchovávat až 14 dnů při teplotě ≤ -18 °C. Viz Obr. 3.

Obr. 3 Podmínky uchovávání kadaverózních vzorků



- Vzorky kadaverózní krve odebrané do sérových srážecích zkumavek mohou být skladovány až po dobu 5 dnů při teplotě 2–8 °C za následujících podmínek:
 - Vzorky je nutno odstředit do 72 hodin po odběru.
 - Při uchovávání vzorků při teplotě nad 8 °C lze vzorky uchovávat při teplotě do 30 °C po 24 hodin z těchto 72 hodin.
- Pokud mají být vzorky žijících dárců a/nebo kadaverózní vzorky přepravovány, musí být zabaleny a označeny dle platných státních anebo mezinárodních předpisů o přepravě vzorků a etiologických agens.

Návod k použití

Automatické pipetování a poolování vzorků (volitelné)

Přístroj **cobas® p 680** nebo software **cobas® Synergy** s pipetorem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD lze použít jako volitelné zařízení se systémy **cobas® 6800/8800** k automatickému pipetování a poolování alikvotů většího počtu primárních vzorků do jednoho poolovaného vzorku.

Software **cobas® Synergy** s pipetorem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD se používá jako příslušenství k systémům **cobas® 5800** k automatickému pipetování a poolování alikvotů většího počtu primárních vzorků do jednoho poolovaného vzorku.

Další informace najdete v provozní příručce přístroje **cobas® p 680** nebo Asistentu uživatele pro **cobas® Synergy** software.

Procesní poznámky

- Nepoužívejte reagentie testu **cobas® MPX**, kontrolní soupravy **cobas® MPX Control Kit**, soupravy negativní kontroly **cobas® NHP Negative Control Kit** ani reagentie **cobas® omni** po uplynutí jejich doby použitelnosti.
- Nepoužívejte spotřební materiál opakovaně. Slouží pouze k jednorázovému použití.
- Pokyny k řádné údržbě přístrojů najdete v Asistentu uživatele k systému **cobas® 5800**.
- Pokyny k řádné údržbě přístrojů najdete v Asistentu uživatele k systémům **cobas® 6800/8800**.

Provedení testu cobas® MPX v systému cobas® 5800

Postup testu je podrobně popsán v Asistentu uživatele systému cobas® 5800. Obr. 4 níže uvádí souhrn postupu. Podrobné informace o volitelném poolování naleznete v Asistentu uživatele k softwaru cobas® Synergy.

Obr. 4 Postup testu cobas® MPX v systému cobas® 5800

1	Pipetování a poolování vzorků
2	Vložení stojánků na vzorky do systému: • Vložte stojánky na vzorky do systému • Pokud nejsou k dispozici žádné objednávky LIS, objednejte testy ručně
3	Doplňte reagentie a spotřební materiál podle pokynů systému: • Vložte reagenční kazetu (kazety) specifickou pro test • Vložte ministožany s kontrolami • Vložte špičky pro zpracování vzorků • Vložte eluční špičky • Vložte destičky pro zpracování vzorků • Vložte destičky na tekutý odpad • Vložte destičky pro amplifikaci • Vložte kazetu MGP • Doplněte diluent • Doplněte lyzační reagentii • Doplněte promývací roztoky
4	V uživatelském rozhraní spusťte běh ručním výběrem tlačítka Start. Všechny následné běhy se spustí automaticky, pokud nebudou ručně odloženy.
5	Zkontrolujte výsledky
6	Vyjměte zkumavky na vzorky Vyčistěte přístroj: • Vyprázdněte reagenční kazety • Vyprázdněte ministožany s kontrolami • Vyprázdněte zásuvku pro amplifikační destičky • Vyprázdněte tekutý odpad • Vyprázdněte pevný odpad

Provedení testu cobas® MPX v systémech cobas® 6800/8800

Postup testu je podrobně popsán v Asistentu uživatele systémů cobas® 6800/8800; informace o volitelných postupech tvorby poolů naleznete v provozní příručce pro přístroj cobas® p 680 nebo Asistentu uživatele pro software cobas® Synergy. Obr. 5 níže uvádí souhrn postupu.

Obr. 5 Postup testu cobas® MPX na systémech cobas® 6800/8800

1	Pipetování a poolování vzorků
2	Vytvořte objednávku
3	Doplněte reagenty a spotřební materiál podle pokynů systému: • Doplněte promývací roztoky, lyzační reagenty a diluent • Doplněte destičky ke zpracování a destičky k amplifikaci • Doplněte magnetické skleněné částice • Doplněte reagenty specifické pro test • Doplněte kazety s kontrolami • Doplněte stojánky na špičky • Vyměňte stojánek na ucpané špičky za nový
4	Spusťte běh: • Vložte stojánky se vzorky • Stiskněte tlačítko Start na uživatelském rozhraní
5	Zkontrolujte a exportujte výsledky
6	Vyměňte spotřební materiál: • Vyměňte amplifikační destičky z analytického modulu • Vyměňte prázdné kontrolní kazety • Vyprázdněte pevný odpad • Vyprázdněte tekutý odpad

Výsledky

Systémy cobas® 5800 a cobas® 6800/8800 automaticky detekují a rozlišují mezi RNA HIV, RNA HCV a DNA HBV současně u vzorků a kontrol.

Kontrola kvality a platnost výsledků v systému cobas® 5800

Systém cobas® 5800 se dodává s výchozím nastavením kontrol (pozitivní a negativní) naplánovaným pro každý běh, ale kontroly lze nakonfigurovat s menší četností na základě laboratorních postupů a/nebo místních předpisů; k provedení tohoto postupu kontaktujte servisního technika Roche nebo technickou podporu Roche pro zákazníky.

- Nejméně každých 24 hodin nebo s každou novou šarží je zpracována jedna negativní [(-) C] a tři pozitivní kontroly [MPX M (+) C, MPX O (+) C a MPX 2 (+) C].
- Ověřte platnost kontroly v systému cobas® 5800 a/nebo ve zprávě tak, že zkontrolujete značky (flags) a související výsledky.
- Související výsledky jsou platné, pokud se neobjeví značky u žádné ze čtyř kontrol.

Systém cobas® 5800 vyhláší neplatnost výsledků automaticky na základě selhání negativních nebo pozitivních kontrol.

Výsledky kontrol v systému cobas® 5800

Výsledky kontrol jsou uvedeny v softwaru cobas® 5800 v aplikaci „Controls“ (Kontroly).

- Pokud jsou všechny cíle kontroly nahlášeny jako platné, jsou ve sloupci „Control result“ (Výsledek kontroly) označeny „Valid“ (Platné). Kontroly jsou označeny „Invalid“ (Neplatné) ve sloupci „Control result“, pokud jsou všechny cíle nebo jeden cíl kontroly nahlášeny jako neplatné.
- Kontroly označené „Invalid“ zobrazují ve sloupci „Flags“ (Značky) značku. Další informace o tom, proč je kontrola nahlášena jako neplatná, včetně informací o značce, se zobrazí v detailním zobrazení.
- Pokud je jedna z pozitivních kontrol neplatná, opakujte testování všech pozitivních kontrol a všech souvisejících vzorků. Je-li negativní kontrola neplatná, opakujte testování všech kontrol a všech souvisejících vzorků.

Tab. 11 Značky kontrol pro negativní a pozitivní kontroly v systému cobas® 5800

Negativní kontrola	Značka	Výsledek kontroly	Interpretace
(-) C	Zobrazí se značka	Invalid	Celá dávka je označena jako neplatná, pokud je výsledek pro (-) C neplatný.
Pozitivní kontrola	Značka	Výsledek kontroly	Interpretace
MPX M (+) C	Zobrazí se značka	Invalid	Celá dávka je označena jako neplatná, pokud je výsledek pro MPX M (+) C neplatný.
MPX O (+) C	Zobrazí se značka	Invalid	Celá dávka je označena jako neplatná, pokud je výsledek pro MPX O (+) C neplatný.
MPX 2 (+) C	Zobrazí se značka	Invalid	Celá dávka je označena jako neplatná, pokud je výsledek pro MPX 2 (+) C neplatný.

Kontrola kvality a platnost výsledků v systémech cobas® 6800/8800

- S každou dávkou je zpracována jedna negativní [(-) C] a tři pozitivní kontroly [MPX M (+) C, MPX O (+) C a MPX 2 (+) C].
- Ověřte platnost dávky v softwaru systémů cobas® 6800/8800 a/nebo ve zprávě tak, že zkontrolujete značky (Flags) a související výsledky.
- Dávka je platná, pokud se neobjeví kontrolní značky u žádné ze čtyř kontrol.

Software cobas® 6800/8800 vyhláší neplatnost výsledků automaticky na základě selhání negativních a pozitivních kontrol.

Značky kontrol pro použití v systémech cobas® 6800/8800

Tab. 12 Kontrolní značky u negativních a pozitivních kontrol

Negativní kontrola	Značka	Výsledek	Interpretace
(-) C	Q02	Invalid	Celá dávka je označena jako neplatná, pokud je výsledek pro (-) C neplatný.
Pozitivní kontrola	Značka	Výsledek	Interpretace
MPX M (+) C	Q02	Invalid	Celá dávka je označena jako neplatná, pokud je výsledek pro MPX M (+) C neplatný.
MPX O (+) C	Q02	Invalid	Celá dávka je označena jako neplatná, pokud je výsledek pro MPX O (+) C neplatný.
MPX 2 (+) C	Q02	Invalid	Celá dávka je označena jako neplatná, pokud je výsledek pro MPX 2 (+) C neplatný.

Pokud je dávka neplatná, opakujte testování celé dávky včetně vzorků a kontrol.

Vyhodnocení výsledků

U běhu s validními kontrolami zkontrolujte u všech individuálních vzorků přítomnost značek v softwaru systému **cobas® 5800/6800/8800** a/nebo ve zprávách. Interpretace výsledků je následující:

- Platná dávka může zahrnovat platné i neplatné výsledky vzorků dárců podle toho, zda se u jednotlivých vzorků objeví značka resp. komentáře nebo ne.
- Výsledky vzorku jsou platné jen pokud jsou platné příslušné pozitivní kontroly i negativní kontrola pro dotyčnou dávku.

U každého vzorku jsou současně měřeny čtyři parametry: HIV, HCV, HBV a vnitřní kontrola. Software systému **cobas® MPX** připraví zprávu o konečných výsledcích testu. Systémy **cobas® 5800/6800/8800** zobrazí individuální cílové výsledky, které je třeba interpretovat následovně:

Tab. 13 Cílové výsledky pro jednotlivé interpretace cílových výsledků

Cílové výsledky	Interpretace
HIV Non-Reactive	Nebyl detekován cílový signál pro HIV; signál IC byl detekován.
HIV Reactive	Byl detekován cílový signál pro HIV; signál IC může, ale nemusí být detekován.
HCV Non-Reactive	Nebyl detekován cílový signál pro HCV; signál IC byl detekován.
HCV Reactive	Byl detekován cílový signál pro HCV; signál IC může, ale nemusí být detekován.
HBV Non-Reactive	Nebyl detekován cílový signál pro HBV; signál IC byl detekován.
HBV Reactive	Byl detekován cílový signál pro HBV; signál IC může, ale nemusí být detekován.
Invalid	Cílový signál ani signál vnitřní kontroly nebyly detekovány.

Pokud používáte software **cobas® Synergy**, zkontrolujte výpočet konečného výsledku pomocí softwaru **cobas® Synergy**.

Další informace pro interpretaci výsledků v systému cobas® 5800

Výsledky vzorků jsou uvedeny v systému **cobas® 5800**. Doporučujeme zkontrolovat výsledky v softwaru **cobas® Synergy**.

- Vzorky související s platnou dávkou kontrol (definovanou v konfiguraci řízení systému) se ve sloupci „Control result“ (Výsledek kontroly) zobrazí jako „Valid“ (Platné). Vzorky související s chybnou dávkou kontrol jsou ve sloupci „Control result“ (Výsledek kontroly) zobrazeny jako „Invalid“ (Neplatné).
- Jsou-li související kontroly výsledku vzorku neplatné, přidá se do výsledku vzorku konkrétní značka takto:
 - Q05D: chyba ověření výsledku z důvodu neplatné pozitivní kontroly.
 - Q06D: chyba ověření výsledku z důvodu neplatné negativní kontroly.
- Hodnoty ve sloupci „Results“ (Výsledky) pro jednotlivé cílové výsledky vzorku by měly být interpretovány tak, jak je uvádí Tab. 13 výše.
 - Systém **cobas® 5800** zobrazí jednotlivé cílové výsledky. Celkový výsledek se zobrazí pouze v zobrazení výsledku softwaru **cobas® Synergy**.
 - Podrobnější informace o výsledcích vzorků a značkách naleznete v Asistenci uživatele systému **cobas® 5800**.

Opakované testování individuálních vzorků

Zkumavky se vzorky dárců s konečným výsledkem „Invalid“ pro více než jeden cíl vyžadují opakované testování bez ohledu na konečné výsledky dalších cílů.

Další centrifugace při rychlosti 600 × g po dobu 5 minut může pomoci redukovat opakované neplatné výsledky pro krev odebranou do zkumavek na přípravu plazmy s EDTA antikoagulantem, zkumavek EDTA Plasma Preparation Tubes společnosti Becton-Dickinson (BD PPT™) nebo plazmových zkumavek s gelem K2EDTA společnosti Greiner Vacuette®.

Procesní omezení

- Test **cobas®** MPX byl vyhodnocen pouze při použití v kombinaci s kontrolní soupravou **cobas®** MPX Control Kit, soupravou negativní kontroly **cobas®** NHP Negative Control Kit, reagensí **cobas®** **omni** MGP Reagent, lyzačním roztokem **cobas®** **omni** Lysis Reagent, diluentem **cobas®** **omni** Specimen Diluent a promývacím roztokem **cobas®** **omni** Wash Reagent pro použití na systémech **cobas®** 5800 a **cobas®** 6800/8800.
- Spolehlivost výsledků závisí na dodržování řádných postupů při odběru a uchovávání vzorků i při manipulaci s nimi.
- S tímto testem nepoužívejte heparinizovanou plazmu, protože je známo, že heparin působí inhibičně na PCR.
- Detekce RNA HIV-1 skupiny M, RNA HIV-1 skupiny O, RNA HIV-2, RNA HCV a DNA HBV je závislá na počtu virových částic přítomných ve vzorku a může být ovlivněna způsobem odběru a uchovávání vzorků a způsobem manipulace s nimi, faktory pacientů (tj. věk, přítomnost symptomů), případně stádiem infekce a velikostí směsi.
- I když se vyskytují vzácně, mutace ve vysoce konzervovaných oblastech virového genomu pokryté testem **cobas®** MPX mohou ovlivnit vázání primerů anebo sond, a tak vést k selhání detekce viru.
- Vzhledem k rozdílům mezi technologiemi se doporučuje, aby uživatelé před přechodem od jedné technologie k druhé provedli ve své laboratoři studie pro stanovení rozdílů mezi těmito technologiemi. Uživatelé by měli dodržovat své vlastní zásady/postupy.

Ekvivalence systému/porovnání systémů

Ekvivalence systému **cobas®** 5800 se systémy **cobas®** 6800/8800 byla prokázána ve studiích ekvivalence.

Výsledky uvedené v tomto návodu k obsluze vycházejí ze stejného výkonu všech systémů.

Neklinické hodnocení výkonnosti prováděné na systémech cobas® 6800/8800

Klíčové funkční charakteristiky

Vzorky žijících dárců

Mez detekce (*Limit of Detection, LoD*)

Mezinárodní standardy WHO/primární standardy Roche

Mez detekce (LoD) testu cobas® MPX pro RNA HIV-1 skupiny M, RNA HIV-1 skupiny O, RNA HIV-2, RNA HCV a DNA HBV byly stanoveny pomocí následujících standardů:

- 3. mezinárodní standard WHO pro RNA HIV-1 skupiny M (kód NIBSC 10/152)
- Mezinárodní standard WHO pro RNA HIV-2 (kód NIBSC 08/150)⁴⁰
- Primární standardy Roche pro RNA HIV-1 skupiny O
- 2. mezinárodní standard WHO pro RNA HCV (kód NIBSC 96/798)
- 3. mezinárodní standard WHO pro DNA HBV (kód NIBSC 10/264)

Pro RNA HIV-1 skupiny O nejsou v současnosti k dispozici žádné mezinárodní normy. Standard Roche pro RNA HIV-1 skupiny O je odvozen od referenčního panelu 1, šarže 01 RNA HIV-1 subtypu CBER. Primární standardy Roche pro RNA HIV-1 skupiny O jsou odvozeny z komerčně dostupných virových kultur, P/N 2420 (kat. č. 500493, SeraCare Life Sciences).

Pro mezinárodní standard WHO HIV-1 skupiny M, HCV a HBV, HIV-2 a primární standardy Roche HIV-1 skupiny O byly 3 nezávislé série ředění formulovány společně pro viry HIV-1 skupiny M, HCV, a HBV, a individuálně pro viry HIV-1 skupiny O a HIV-2, s normální lidskou EDTA plazmou negativní na viry HIV, HBV a HCV. Každá série ředění byla testována pomocí 3 různých šarží sad testu cobas® MPX s přibližně 63 replikáty na šarži, celkem přibližně 189 replikátů na jednu koncentraci. Pro mezinárodní standard WHO HIV-2 bylo testováno 33 replikátů na šarži ze 3 nezávislých ředění a 3 šarží činidel pro celkem 99 replikátů na každou koncentraci. U každého viru byla použita 95% PROBIT analýza (Tab. 14) a 50% PROBIT analýza (Tab. 15) dat kombinovaných ze všech sérií ředění a šarží činidel pro odhad LoD i spodní a horní meze 95% intervalu spolehlivosti. Souhrn míry reaktivity pozorované ve studiích LoD pro každý virus uvádí Tab. 16 až Tab. 20.

Tab. 14 Výsledky 95% PROBIT analýzy dat LoD ve vzorcích EDTA plazmy a séra získané pomocí virových standardů

Matrice	Analyt	Jednotky měření	LoD	Dolní 95% mez spolehlivosti	Horní 95% mez spolehlivosti
EDTA plazma	HIV-1 skupina M	IU/ml	25,7	21,1	32,8
	HIV-1 skupina O	kopíí/ml	8,2	7,0	10,0
	HIV-2	IU/ml	4,0	3,3	5,2
	HCV	IU/ml	7,0	5,9	8,6
	HBV	IU/ml	1,4	1,2	1,7
Sérum	HIV-1 skupina M	IU/ml	23,7	20,0	29,1
	HIV-1 skupina O	kopíí/ml	12,2	10,3	14,9
	HIV-2	IU/ml	4,4	3,5	5,8
	HCV	IU/ml	8,1	6,8	10,1
	HBV	IU/ml	1,3	1,1	1,5

Tab. 15 Výsledky 50% PROBIT analýzy dat LoD ve vzorcích EDTA plazmy a séra získané pomocí virových standardů

Matrice	Analyt	Jednotky měření	LoD	Dolní 95% mez spolehlivosti	Horní 95% mez spolehlivosti
EDTA plazma	HIV-1 skupina M	IU/ml	3,8	3,4	4,3
	HIV-1 skupina O	kopíí/ml	1,7	1,5	1,9
	HIV-2	IU/ml	0,9	0,8	1,1
	HCV	IU/ml	1,3	1,1	1,4
	HBV	IU/ml	0,3	0,3	0,3
Sérum	HIV-1 skupina M	IU/ml	4,6	4,1	5,1
	HIV-1 skupina O	kopíí/ml	2,5	2,2	2,7
	HIV-2	IU/ml	0,9	0,8	1,1
	HCV	IU/ml	1,4	1,3	1,6
	HBV	IU/ml	0,3	0,3	0,3

Tab. 16 Souhrn míry reaktivity na HIV-1 skupiny M v EDTA plazmě a séru

Matrice	Koncentrace RNA HIV-1 skupiny M (IU/ml)	Počet reaktivních	Počet platných replikátů	% reaktivních	Dolní mez spolehlivosti 95 % (jednostranná)
EDTA plazma	30	186	188	98,9 %	96,7 %
	15	170	189	89,9 %	85,6 %
	7,5	124	189	65,6 %	59,5 %
	4,5	96	189	50,8 %	44,6 %
	1,5	50	189	26,5 %	21,2 %
Sérum	30	186	189	98,4 %	95,9 %
	15	170	189	89,9 %	85,6 %
	7,5	123	189	65,1 %	59,0 %
	4,5	85	189	45,0 %	38,8 %
	1,5	31	189	16,4 %	12,1 %

Tab. 17 Souhrn míry reaktivity na HIV-1 skupiny O v EDTA plazmě a séru

Matrice	Koncentrace RNA HIV-1 skupiny O (kopii/ml)	Počet reaktivních	Počet platných replikátů	% reaktivních	Dolní mez spolehlivosti 95 % (jednostranná)
EDTA plazma	18	187	187	100,0 %	98,4 %
	9	181	187	96,8 %	93,8 %
	4,5	162	189	85,7 %	80,8 %
	2,7	117	189	61,9 %	55,7 %
	0,9	57	189	30,2 %	24,7 %
Sérum	18	186	187	99,5 %	97,5 %
	9	173	188	92,0 %	88,0 %
	4,5	142	189	75,1 %	69,4 %
	2,7	79	189	41,8 %	35,8 %
	0,9	39	189	20,6 %	15,9 %

Tab. 18 Souhrn míry reaktivity na HIV-2 v EDTA plazmě a séru

Matrice	Koncentrace RNA HIV-2 (IU/ml)	Počet reaktivních	Počet platných replikátů	% reaktivních	Dolní mez spolehlivosti 95 % (jednostranná)
EDTA plazma	10	98	98	100,0 %	97,0 %
	5	98	99	99,0 %	95,3 %
	2,5	80	98	81,6 %	74,0 %
	1,5	71	99	71,7 %	63,3 %
	0,5	26	99	26,3 %	19,1 %
Sérum	10	98	98	100,0 %	97,0 %
	5	98	99	99,0 %	95,3 %
	2,5	81	99	81,8 %	74,2 %
	1,5	63	98	64,3 %	55,6 %
	0,5	28	98	28,6 %	21,1 %

Tab. 19 Souhrn míry reaktivity na HCV v EDTA plazmě a séru

Matrice	Koncentrace RNA HCV (IU/ml)	Počet reaktivních	Počet platných replikátů	% reaktivních	Dolní mez spolehlivosti 95 % (jednostranná)
EDTA plazma	12	187	188	99,5 %	97,5 %
	6	178	189	94,2 %	90,6 %
	3	148	189	78,3 %	72,8 %
	1,8	112	189	59,3 %	53,0 %
	0,6	50	189	26,5 %	21,2 %
Sérum	12	186	189	98,4 %	95,9 %
	6	173	189	91,5 %	87,4 %
	3	139	189	73,5 %	67,7 %
	1,8	112	189	59,3 %	53,0 %
	0,6	41	189	21,7 %	16,9 %

Tab. 20 Souhrn míry reaktivity na HBV v EDTA plazmě a séru

Matrice	Koncentrace DNA HBV (IU/ml)	Počet reaktivních	Počet platných replikátů	% reaktivních	Dolní mez spolehlivosti 95 % (jednostranná)
EDTA plazma	3,40	188	188	100,0 %	98,4 %
	1,70	184	189	97,4 %	94,5 %
	0,85	165	189	87,3 %	82,6 %
	0,51	126	189	66,7 %	60,6 %
	0,17	58	189	30,7 %	25,2 %
Sérum	3,40	189	189	100,0 %	98,4 %
	1,70	184	189	97,4 %	94,5 %
	0,85	166	189	87,8 %	83,2 %
	0,51	140	189	74,1 %	68,3 %
	0,17	52	189	27,5 %	22,2 %

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost testu **cobas®** MPX na systémech **cobas®** 6800/8800 byla zjištěna pomocí následujících standardů:

- Sekundární standardy Roche pro HIV-1 skupiny M, HCV a HBV
- Primární standardy Roche pro HIV-1 skupiny O a HIV-2

V této studii byly testovány 3 panely společně formulovaných standardů viru HIV-1 skupiny M, HCV, a HBV a individuálně formulovaných standardů viru HIV-1 skupiny O a HIV-2 v koncentracích o velikosti přibližně $0,5 \times$, $1 \times$ a $2 \times$ hodnoty LoD testu **cobas®** MPX pro každý virus. Testovány byly následující složky variability:

- variabilita mezi jednotlivými dny po dobu 3 dnů
- variabilita mezi jednotlivými šaržemi s použitím 3 různých šarží reagensů testu **cobas®** MPX
- variabilita mezi jednotlivými přístroji s použitím 3 různých systémů **cobas®** 8800

U každého ze 3 panelů bylo testováno přibližně 21 replikátů s celkovým počtem 63 replikátů na každou šarží reagensů. Veškeré informace o reprodukovatelnosti byly vyhodnoceny výpočtem procentního podílu reaktivních výsledků testů pro každou hladinu koncentrace a pro všechny složky variability.

Meze dvoustranných 95% intervalů spolehlivosti pro každou míru reaktivity byly vypočteny pro každou ze tří hladin HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV a HBV testovaných po 3 dny u 3 šarží činidel a 3 systémů **cobas®** 8800. Test **cobas®** MPX je reprodukovatelný při použití po dobu většího počtu dnů s větším počtem šarží reagensů a větším počtem přístrojů. Souhrn výsledků variability mezi šaržemi činidel uvádí Tab. 21.

Tab. 21 Souhrn reprodukovatelnosti testu **cobas®** MPX mezi šaržemi reagensů

Analyt	Koncentrace	Šarže reagensie	% reaktivních (počet reaktivních/počet platných replikátů)	Dolní mez 95% intervalu spolehlivosti	Horní mez 95% intervalu spolehlivosti
HIV-1 skupina M	2 × LoD	1	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
	1 × LoD	1	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	98,4 % (62/63)	91,5 %	100,0 %
		3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
	0,5 × LoD	1	85,7 % (54/63)	74,6 %	93,3 %
		2	95,2 % (60/63)	86,7 %	99,0 %
		3	92,1 % (58/63)	82,4 %	97,4 %
HIV-1 skupina O	2 × LoD	1	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
	1 × LoD	1	92,1 % (58/63)	82,4 %	97,4 %
		2	93,7 % (59/63)	84,5 %	98,2 %
		3	93,7 % (59/63)	84,5 %	98,2 %
	0,5 × LoD	1	74,6 % (47/63)	62,1 %	84,7 %
		2	76,2 % (48/63)	63,8 %	86,0 %
		3	74,6 % (47/63)	62,1 %	84,7 %
HIV-2	2 × LoD	1	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	98,4 % (62/63)	91,5 %	100,0 %
	1 × LoD	1	82,5 % (52/63)	70,9 %	90,9 %
		2	93,7 % (59/63)	84,5 %	98,2 %
		3	87,3 % (55/63)	76,5 %	94,4 %
	0,5 × LoD	1	74,6 % (47/63)	62,1 %	84,7 %
		2	71,4 % (45/63)	58,7 %	82,1 %
		3	73,0 % (46/63)	60,3 %	83,4 %

Analyt	Koncentrace	Šarže reagentie	% reaktivních (počet reaktivních/počet platných replikátů)	Dolní mez 95% intervalu spolehlivosti	Horní mez 95% intervalu spolehlivosti
HCV	2 × LoD	1	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
	1 × LoD	1	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	98,4 % (62/63)	91,5 %	100,0 %
	0,5 × LoD	1	77,8 % (49/63)	65,5 %	87,3 %
		2	98,4 % (62/63)	91,5 %	100,0 %
		3	93,7 % (59/63)	84,5 %	98,2 %
HBV	2 × LoD	1	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
	1 × LoD	1	90,5 % (57/63)	80,4 %	96,4 %
		2	90,5 % (57/63)	80,4 %	96,4 %
		3	93,7 % (59/63)	84,5 %	98,2 %
	0,5 × LoD	1	84,1 % (53/63)	72,7 %	92,1 %
		2	76,2 % (48/63)	63,8 %	86,0 %
		3	77,8 % (49/63)	65,5 %	87,3 %

Verifikace genotypů

Výkonnost testu **cobas® MPX** při detekci subtypů HIV-1 skupiny M (A–H, J, K, BF, BG) a cirkulujících rekombinantních forem (CRF01_AE a CRF02_AG), HIV-1 skupiny O, HIV-1 skupiny N, a subtypů HIV-2 (A a B), genotypů HCV (1–6) a genotypů HBV (A–H a mutanta v oblasti pre-core) byla zjištěna analýzou jedinečných klinických vzorků a/nebo kultur izolovaných pro každý subtyp nebo genotyp, který uvádí Tab. 22 až Tab. 26.

HIV-1 skupina M

Celkový počet 115 jedinečných klinických vzorků HIV-1 skupiny M se známým subtypem HIV-1 byl kvantifikován co do koncentrací HIV-1 pomocí testu COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1, v2.0. Všech 115 vzorků bylo testováno po zředění normální lidskou EDTA plazmou negativní na virus HIV, HCV a HBV na hodnotu $5 \times \text{LoD}$ testu cobas® MPX test a 102 vzorků bylo testováno také v původní (neředěné) koncentraci. Detekce u všech 115 klinických vzorků se známými subtypy byla provedena v neředěném stavu a/nebo u vzorků zředěných na hodnotu $5 \times \text{LoD}$ (Tab. 22).

Tab. 22 Klinické vzorky HIV-1 skupiny M

Podtyp	% reaktivních (počet reaktivních/počet testovaných vzorků) neředěné	% reaktivních (počet reaktivních/počet testovaných vzorků) zředěné na $5 \times \text{LoD}$
A	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
CRF01_AE	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
CRF02_AG	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
B	100,0 % (11/11)	100,0 % (11/11)
C	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
D	100,0 % (11/11)	100,0 % (11/11)
F	100,0 % (10/10)	100,0 % (10/10)
G	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
H	100,0 % (10/10)	100,0 % (10/10)
BF	Netestován*	100 % (3/3)
BG	Netestován*	100 % (4/4)
J	Netestován*	100 % (2/2)
K	Netestován*	100 % (4/4)

* Nedostatečný objem pro testování v neředěném stavu

HIV-1 skupiny O a HIV-1 skupiny N

Celkem 7 izolátů kultur HIV-1 skupiny O a 2 izolátů kultur HIV-1 skupiny N bylo testováno po přípravě logaritmických ředění normální lidskou EDTA plazmou negativní na virus HIV, HCV a HBV. U izolátů HIV-1 skupiny O bylo testováno celkem 28 replikátů u 7 izolátů s použitím 4 replikátů pro každé ředění. U izolátů HIV-1 skupiny N byly testovány dva izoláty. Celkem 4 replikáty byly testovány u jednoho izolátu a ředění 1:1,00E+02 až 1:1,00E+03 a 1 replikát byl testován u druhého izolátu při ředění 1:1,00E+04. Izoláty kultur HIV-1 skupiny O byly detekovány až po ředění 1:1,00E+07 a izoláty kultur skupiny N byly detekovány až po ředění 1:1,00E+04 (Tab. 23).

Tab. 23 Izoláty kultur HIV-1 skupiny O a HIV-1 skupiny N

Ředění vzorku	% reaktivních (počet reaktivních/počet platných testovaných replikátů)	
	HIV-1 skupina O	HIV-1 skupina N
1:1,00E+02	100,0 % (28/28)	100,0 % (4/4)
1:1,00E+03	100,0 % (28/28)	100,0 % (4/4)
1:1,00E+04	89,3 % (25/28)	20 % (1/5)
1:1,00E+05	71,4 % (20/28)	0,0 % (0/4)
1:1,00E+06	71,4 % (20/28)	0,0 % (0/4)
1:1,00E+07	71,4 % (20/28)	0,0 % (0/4)

HIV-2

Celkem 5 izolátů kultur HIV-2 subtypu A (4) a B (1) bylo testováno po přípravě logaritmických ředění normální lidskou EDTA plazmou negativní na virus HIV, HCV a HBV. U subtypu A bylo testováno celkem 16 replikátů u 4 izolátů pro každé ředění. U 1 izolátu subtypu B byly testovány celkem 4 replikáty pro každé ředění. Celkem 11 izolátů kultur HIV-2 subtypu A (5) a B (6) bylo také testováno po přípravě logaritmických ředění normální lidskou EDTA plazmou negativní na virus. U subtypu A bylo testováno celkem 20 replikátů u 5 klinických vzorků a u subtypu B celkem 24 replikátů u 6 klinických vzorků s použitím 4 replikátů pro každé ředění. Všechny izoláty kultur byly detekovány testem cobas® MPX. Klinické vzorky byly detekovány testem cobas® MPX při ředěních až 1:1,00E+03 u subtypů A a B. Souhrn celkových výsledků uvádí Tab. 24.

Tab. 24 Izoláty kultur a klinické vzorky HIV-2

Ředění vzorku	% reaktivních (počet reaktivních/počet platných testovaných replikátů)			
	Izolát kultury		Klinický vzorek	
	Podtyp A	Subtyp B	Podtyp A	Subtyp B
1:1,00E+02	100,0 % (16/16)	100,0 % (4/4)	100,0 % (20/20)	100,0 % (24/24)
1:1,00E+03	100,0 % (16/16)	100,0 % (4/4)	65,0 % (13/20)	50,0 % (12/24)
1:1,00E+04	100,0 % (15/15)	100,0 % (4/4)	25,0 % (5/20)	0,0 % (0/24)
1:1,00E+05	100,0 % (16/16)	100,0 % (4/4)	5/0 % (1/20)	0,0 % (0/24)
1:1,00E+06	100,0 % (16/16)	100,0 % (4/4)	0,0 % (0/20)	0,0 % (0/24)
1:1,00E+07	81,2 % (13/16)	0 % (0/4)	0,0 % (0/20)	0,0 % (0/24)

HCV

U celkem 96 jedinečných klinických vzorků HCV se známým genotypem HCV byly stanoveny koncentrace HCV testem COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0. Všech 96 klinických vzorků HCV bylo testováno po zředění normální lidskou EDTA plazmou negativní na virus HIV, HCV a HBV na koncentraci $5 \times \text{LoD}$ testu cobas® MPX. 95 z těchto vzorků bylo testováno také neředěných. U všech vzorků byl testován jeden replikát. Všech 96 klinických vzorků pozitivních na HCV bylo detekováno neředěných a/nebo ředěných; shrnutí uvádí Tab. 25.

Tab. 25 Klinické vzorky HCV

Genotyp	% reaktivních (počet reaktivních/počet testovaných vzorků) neředěné	% reaktivních (počet reaktivních/počet testovaných vzorků) zředěné na $5 \times \text{LoD}$
1a	100,0 % (9/9)	100,0 % (9/9)
1b	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
1	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
2b	100,0 % (1/1)	100,0 % (1/1)
2	100,0 % (13/13)	100,0 % (13/13)
3a	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
3	100,0 % (1/1)	100,0 % (1/1)
4	100,0 % (13/13)	100,0 % (13/13)
5a	100,0 % (10/10)	100,0 % (10/10)
5	100,0 % (2/2)	100,0 % (2/2)
6	100,0 % (10/10)	100,0 % (11/11)

HBV

U celkem 94 jedinečných klinických vzorků HBV se známým genotypem HBV a mutantů v oblasti pre-core byly stanoveny koncentrace HBV testem COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV. Všech 94 klinických vzorků HBV se známými genotypy bylo testováno neředěných a/nebo po zředění normální EDTA plazmou negativní na virus HIV, HCV a HBV na koncentraci $5 \times \text{LoD}$ testu cobas® MPX. U všech vzorků byl testován jeden replikát. Všech 94 ředěných i neředěných klinických vzorků pozitivních na HBV bylo detekováno; shrnutí uvádí Tab. 26.

Tab. 26 Klinické vzorky HBV

Genotyp	% reaktivních (počet reaktivních/počet testovaných vzorků) neředěné	% reaktivních (počet reaktivních / počet testovaných vzorků) zředěné na 5 x LoD
A	100,0 % (15/15)	100,0 % (15/15)
B	100,0 % (12/12)	100,0 % (11/11)
C	100,0 % (10/10)	100,0 % (9/9)
D	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
E	100,0 % (12/12)	100,0 % (11/11)
F	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
G	Netestován*	100 % (1/1)
H	100,0 % (8/8)	100,0 % (8/8)
Mutant v oblasti pre-core	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)

* Nedostatečný objem pro testování v neředěném stavu

Sérokonverzní panely

Výkonnost testu **cobas® MPX** byla vyhodnocena pomocí komerčně dostupných sérokonverzních panelů pro HIV-1 skupiny M, HCV a HBV. Výsledky testu **cobas® MPX** byly srovnány s výsledky pro stejné panely zpracované FDA licenčním testem **cobas® TaqScreen MPX** v systému **cobas® s 201**. Navíc bylo pro každý cíl provedeno srovnání testu **cobas® MPX** s testem CE-IVD a FDA licenčními sérologickými testy.

Sérokonverzní panely HIV-1 skupiny M

Bylo použito deset komerčně dostupných sérokonverzních panelů. Každý vzorek panelu byl testován neředěný a zředěný 1:6 a 1:96 za účelem simulace testování ve směsích testy **cobas® MPX** a **cobas® TaqScreen MPX**. Výsledky testu **cobas® MPX** byly srovnány s výsledky obdrženy pomocí testu **cobas® TaqScreen MPX** a s výsledky neředěných vzorků testovaných testy CE-IVD a FDA licenčními sérologickými testy na HIV. Celkové výsledky výkonnosti uvádí Tab. 27.

Tab. 27 Výkonnost testu **cobas® MPX** u sérokonverzních panelů HIV

Sérokonverzní panely HIV	Počet dnů dřívější detekce než protilátky/antigen na HIV nebo RNA HIV								
	Kombinovaný Ag/Ab test HIV Abbott ARCHITECT: Neředěný			Kombinovaný Ag/Ab HIV test Abbott PRISM: Neředěný			Test cobas® TaqScreen MPX: Neředěný, 1:6, 1:96		
	Počet dnů dřívější detekce testem cobas® MPX								
	Neředěný	1:6	1:96	Neředěný	1:6	1:96	Neředěný	1:6	1:96
1	3	3	3	3	3	3	0	0	0
2	7	2	2	12	7	7	5	0	0
3	7	5	5	7	5	5	2	0	0
4	15	15	8	15	15	8	0	0	0
5	7	7	7	7	7	7	0	0	2
6	10	3	3	10	3	3	2	0	0
7	9	9	7	9	9	7	0	0	0
8	11	11	9	11	11	9	0	0	0
9	2	2	2	2	2	2	0	0	0
10	7	7	7	7	7	7	0	0	2
Minimum	2	2	2	2	2	2	0	0	0
Průměr	7,8	6,4	5,3	8,3	6,9	5,8	0,9	0	0,4
Maximum	15	15	15	15	15	9	5	0	2

Sérokonverzní panely HCV

Bylo použito deset komerčně dostupných sérokonverzních panelů. Každý vzorek panelu byl testován neředěný a zředěný 1:6 a 1:96 za účelem simulace testování ve směsích testy **cobas® MPX** a **cobas® TaqScreen MPX**. Výsledky testu **cobas® MPX** byly srovnány s výsledky obdrženy pomocí testu **cobas® TaqScreen MPX** a s výsledky neředěných vzorků testovaných testy CE-IVD a FDA licenčními sérologickými testy na HCV. Celkové výsledky výkonnosti uvádí Tab. 28.

Tab. 28 Výkonnost testu **cobas® MPX** u sérokonverzních panelů HCV

Sérokonverzní panely HCV	Počet dnů dřívější detekce než protilátky/antigen na HCV nebo RNA HCV								
	Testovací systém ORTHO HCV verze 3.0 ELISA: Neředený			Abbott PRISM HCV: Neředený			Test cobas® TaqScreen MPX: Neředený, 1:6, 1:96		
	Počet dnů dřívější detekce testem cobas® MPX								
	Neředený	1:6	1:96	Neředený	1:6	1:96	Neředený	1:6	1:96
1	13	13	13	13	13	13	0	0	0
2	23	23	23	23	23	23	0	0	0
3	33	33	33	33	33	33	-6	0	0
4	32	32	32	32	32	32	0	0	0
5	38	38	38	38	38	38	-24**	0	0
6	34	34	34	34	34	34	0	0	0
7*	11	11	11	11	11	11	0	0	0
8	65	65	65	65	65	65	0	0	0
9*	13	13	13	16	16	16	0	0	0
10*	21	21	21	21	21	21	0	0	0
Minimum	13	13	13	13	13	13	-24	0	0
Průměr s výjimkami*	34	34	34	34	34	34	-3	0	0
Maximum	65	65	65	65	65	65	0	0	0

* Panely, které byly u testu **cobas® MPX** trvale reaktivní již od prvního odběru, byly vyřazeny ze souhrnných výpočtů pro minimální, průměrný a maximální počet dní dřívější detekce než u protilátky na HCV.

** Interval 24 dnů mezi po sobě následujícími odběry.

Sérokonverzní panely HBV

Bylo použito deset komerčně dostupných sérokonverzních panelů. Každý vzorek panelu byl testován neředěný a zředěný 1:6 a 1:96 za účelem simulace testování ve směsích testy **cobas® MPX** a **cobas® TaqScreen MPX**. Výsledky testu **cobas® MPX** byly srovnány s výsledky obdrženy pomocí testu **cobas® TaqScreen MPX** a s výsledky neředěných vzorků testovaných testy CE-IVD a FDA licenčními sérologickými testy na HBV. Celkové výsledky výkonnosti uvádí Tab. 29.

Tab. 29 Výkonnost testu **cobas® MPX** u sérokonverzních panelů HBV

Sérokonverzní panely HBV	Počet dnů dřívější detekce než HBsAg nebo DNA HBV								
	Testovací systém ORTHO HBsAg ELISA 3: Neředěný			Abbott PRISM HBsAg: Neředěný			Test cobas® TaqScreen MPX: Neředěný, 1:6, 1:96		
	Počet dnů dřívější detekce testem cobas® MPX								
	Neředěný	1:6	1:96	Neředěný	1:6	1:96	Neředěný	1:6	1:96
1	36	19	7	29	12	0	17	0	0
2	19	11	7	8	0	-4*	0	-3	0
3	24	24	0	24	24	0	-7	7	0
4	17	17	0	0	0	-17*	0	0	0
5	30	30	9	28	28	7	0	0	7
6	28	28	17	18	18	7	-8	4	10
7	16	13	5	11	8	0	9	0	5
8	30	28	14	0	-2*	-16*	2	12	0
9	24	24	13	17	17	6	0	2	6
10	38	42	27	29	33	18	-4	15	3
Minimum	16	11	0	0	-2	-17	-8	-3	0
Průměr	26,2	23,6	9,9	16,4	13,8	0,1	0,9	3,7	3,1
Maximum	38	42	27	29	33	18	17	15	10

* Nízké koncentrace DNA HBV byly přítomny u zředěných vzorků panelu, které byly detekovány testem **cobas® MPX** později než sérologicky; 0,6 IU/ml u panelu 2 při ředění 1:96, 2,0 IU/ml u panelu 4 při ředění 1:96 (plus abnormálně časný ale nízký S/Co sérologický výsledek), nedetekovány u panelu 8 při ředění 1:6, a 0,5 IU/ml u panelu 8 při ředění 1:96 u odběru, který ukazuje NAT konverzi testu **cobas® MPX** s použitím alternativního kvantitativního stanovení NAT.

Analytická specifita

Analytická specifita testu **cobas®** MPX byla vyhodnocena pro zkříženou reaktivitu u 25 mikroorganismů při koncentraci 10^6 částic, kopií nebo PFU/ml, včetně 18 virových izolátů, 6 bakteriálních kmenů a 1 kvasinkového izolátu (Tab. 30). Mikroorganismy byly přidány do normální lidské EDTA plazmy negativní na virus HIV, HCV a HBV a testovány po přidání každého z virů HIV-1 skupiny M, HCV, HBV (společně formulovaných), HIV-1 skupiny O a HIV-2 do přibližné koncentrace $3 \times \text{LoD}$ testu **cobas®** MPX i bez jejich přidání. U testovaných mikroorganismů nedocházelo ke zkřížené reakci s testem **cobas®** MPX ani k jeho narušování.

Tab. 30 Mikroorganismy testované na analytickou specifitu

Viry	Flavivirus	Baktérie	Kvasinky
Adenovirus 5	Virus Západního Nilu	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovirus	Virus horečky Dengue typ 1	<i>Propionibacterium acnes</i>	
Virus Epstein-Barrové	Virus Usutu	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Virus <i>Herpes simplex</i> typu 1		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
Virus <i>Herpes simplex</i> typu 2		<i>Streptococcus viridans</i>	
Virus hepatitidy A		<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
Virus hepatitidy E			
Virus hepatitidy G			
Lidský T-buněčný lymfotropní virus typ I			
Lidský T-buněčný lymfotropní virus typ II			
Lidský herpes virus 6			
Virus chřipky A			
Parvovirus B19			
Virus Chikungunya			
Varicella zoster virus			

Vzorky plazmy z každého z onemocnění (Tab. 31) byly testovány po přidání každého z virů HIV-1 skupiny M, HCV, HBV (společně formulovaných), HIV-1 skupiny O a HIV-2 do přibližné koncentrace $3 \times \text{LoD}$ testu **cobas®** MPX i bez jejich přidání. U těchto stavů onemocnění nedocházelo ke křížové reakci s testem **cobas®** MPX ani k jeho narušování.

Tab. 31 Vzorky onemocnění testované na analytickou specifitu

Onemocnění		
Adenovirus typ 5	Virus herpes simplex typu 1	Lidský T-buněčný lymfotropní virus typ I
Cytomegalovirus	Virus <i>Herpes simplex</i> typu 2	Lidský T-buněčný lymfotropní virus typ II
Virus horečky Dengue	Virus hepatitidy A	Parvovirus B19
Virus Epstein-Barrové	Virus hepatitidy E	Virus Západního Nilu

Analytická specifická – interferenční látky

Endogenní interferující látky

Vzorky plazmy s abnormálně vysokými úrovněmi triglyceridů (až do 33,2 g/l), hemoglobinu (až do 2 g/l), nekonjugovaného bilirubinu (až do 0,236 g/l), albuminu (až do 60 g/l) nebo lidské DNA (až do 0,002 g/l) byly testovány s přidáním HIV-1 skupiny M, HCV, HBV (společně formulovaných), HIV-1 skupiny O, a HIV-2 do koncentrace $3 \times \text{LoD}$ testu **cobas® MPX** i bez jejich přidání. Vzorky obsahující tyto endogenní látky nenarušovaly senzitivitu ani specifitu testu **cobas® MPX**.

Exogenní interferující látky

Vzorky normální lidské EDTA plazmy negativní na virus HIV, HCV a HBV obsahující abnormálně vysoké koncentrace léků (Tab. 32) byly testovány po přidání každého z virů HIV-1 skupiny M, HCV, HBV (společně formulovaných), HIV-1 skupiny O a HIV-2 do koncentrace $3 \times \text{LoD}$ testu **cobas® MPX** i bez jejich přidání. Tyto exogenní látky nenarušovaly senzitivitu ani specifitu testu **cobas® MPX**.

Tab. 32 Klinické vzorky testované s léky

Název testovaného léku	Koncentrace
Paracetamol	1324 µmol/l
Kyselina acetylsalicylová	3620 µmol/l
Kyselina askorbová	342 µmol/l
Atorvastatin	600 µg Eq/l
Fluoxetin	11,2 µmol/l
Ibuprofen	2425 µmol/l
Loratadin	0,78 µmol/l
Nadolol	3,88 µmol/l
Naproxen	2170 µmol/l
Paroxetin	3,04 µmol/l
Fenylefrin hydrochlorid	491 µmol/l
Sertralin	1,96 µmol/l

Korelace

Vyhodnocení výkonnosti testu cobas® MPX ve srovnání s testem cobas® TaqScreen MPX, v2.0

Výkonnost testu cobas® MPX a testu cobas® TaqScreen MPX, v2.0 byly porovnány s použitím 100 jednotlivých vzorků plazmy séropozitivních pro každý z virů HIV-1 skupiny M, HCV a HBV, které byly testovány neředěné a zředěné 1:6. HIV-2 byl testován u 48 neředěných séropozitivních vzorků a 99 vzorků zředěných 1:6; HIV-1 skupiny O byl testován u 13 séropozitivních vzorků zředěných 1:6. Navíc bylo oběma metodami testováno 103 neředěných séronegativních vzorků plazmy.

Séronegativní vzorky vykazaly 100% specifitu a poskytly 103 nereaktivních výsledků ze 103 vzorků u obou metod.

Výsledky obou metod u vzorků pozitivních na HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV a HBV souhlasily na základě McNemarova testu, což prokázalo, že výkonnost testu cobas® MPX a testu cobas® TaqScreen MPX, v2.0 je ekvivalentní (Tab. 33 a Tab. 34).

Tab. 33 Korelace séropozitivních vzorků (neředěných)

Metody		Výsledky u jednotlivých virových cílů			
cobas® TaqScreen MPX Test, v2.0	cobas® MPX	HIV-1 skupina M	HBV	HCV	HIV-2
Nereaktivní	Nereaktivní	0	0	0	4
Reaktivní	Nereaktivní	0	0	0	4*
Nereaktivní	Reaktivní	0	0	0	7
Reaktivní	Reaktivní	100	100	100	33
Celkem		100	100	100	48
p hodnota McNemarova testu, (dvoustranný interval, $\alpha = 0,05$)		1,0	1,0	1,0	0,55

* Čtyři neshodné vzorky, které byly nereaktivní u testu cobas® MPX bez ředění měly titry pod mezí kvantitativního stanovení analýzou HIV-2 Quant PCR (< 100 kopií/ml, Hopital Bichat-Claude Bernard) a byly nereaktivní u obou analýz při zředění 1:6.

Tab. 34 Korelace séropozitivních vzorků (ředění 1:6)

Metody		Výsledky u jednotlivých virových cílů				
cobas® TaqScreen MPX Test, v2.0	cobas® MPX	HIV-1 M	HBV	HCV	HIV-2	HIV-1 O
Nereaktivní	Nereaktivní	0	0	0	39	0
Reaktivní	Nereaktivní	0	0	0	6*	0
Nereaktivní	Reaktivní	0	0	0	8	0
Reaktivní	Reaktivní	100	100	100	46	13
Celkem		100	100	100	99	13
p hodnota McNemarova testu, (dvoustranný interval, $\alpha = 0,05$)		1,0	1,0	1,0	0,79	1,0

* Šest neshodných vzorků poskytlo nereaktivní výsledky u testu **cobas®** MPX. Tři ze šesti neshodných vzorků, které byly nereaktivní u testu **cobas®** MPX při zředění 1:6 se nacházely pod mezí kvantitativního stanovení analýzou HIV-2 Quant PCR (< 100 kopií/ml, Hopital Bichat-Claude Bernard). Rovněž 3 zbývající vzorky měly nízké titry (27,7 IU/ml, pod mezí kvantitativního stanovení HIV-2 RNA LDT a 150 kopií/ml u analýzy HIV-2 Quant PCR); všechny 3 tyto vzorky byly jako neředěné reaktivní u obou analýz.

Selhání celého systému

Míra selhání celého systému testu **cobas®** MPX byla zjištěna testováním 100 replikátů EDTA plazmy s přidavkem jednoho z HIV-1 skupiny M, HCV, HBV (společně formulovaných), HIV-1 skupiny O a HIV-2 s celkovým počtem 300 replikátů. Tyto vzorky byly testovány při cílové koncentraci přibližně $3 \times \text{LoD}$ a byly analyzovány v poolu 1 (bez ředění). Studie byla provedena pomocí systému **cobas®** 8800 s přístrojem **cobas®** p 680 (pipetování a poolování).

Z výsledků této studie vyplynulo, že všechny replikáty byly reaktivní pro každý cílový virus, což znamená výslednou míru selhání celého systému ve výši 0 %. Dvoustranný 95% přesný interval spolehlivosti byl 0 % pro dolní mez a 1,22 % pro horní mez [0 %; 1,22 %].

Křížová kontaminace

Míra zkřížené kontaminace byla u testu **cobas®** MPX zjištěna analýzou 240 replikátů normální lidské EDTA plazmy negativní na HIV, HCV a HBV a 220 replikátů vzorku s vysokým titrem HBV 1,00E+08 IU/ml. Studie byla provedena pomocí systému **cobas®** 8800. Celkem bylo provedeno 5 cyklů s pozitivními a negativními vzorky uspořádanými do šachovnice.

Všech 240 replikátů negativních vzorků bylo nereaktivních, což znamená výslednou míru zkřížené kontaminace ve výši 0 %. Dvoustranný 95% přesný interval spolehlivosti byl 0 % pro dolní mez a 1,53 % pro horní mez [0 %; 1,53 %].

Kadaverózní vzorky

Senzitivita

Klinická senzitivita testu **cobas® MPX** pro RNA HIV-1 skupiny M, RNA HIV-1 skupiny O, RNA HIV-2, RNA HCV a DNA HBV byla vyhodnocena testováním celkem 60 jednotlivých virově negativních kadaverózních vzorků, z nichž 35 bylo klasifikováno jako středně hemolyzované (slámově žlutá až růžová barva) a 25 jako silně hemolyzované (červená až hnědá barva). Navíc bylo testováno celkem 60 jednotlivých virově negativních vzorků žijících dárců. Všechny kadaverózní vzorky a vzorky žijících dárců byly rovnoměrně rozděleny mezi 3 šarže činidel a 5 skupin pro přidání klinických vzorků (HIV-1 skupiny M, HCV a HBV) se 12 vzorky na každou skupinu. Ke každému kadaveróznímu vzorku a vzorku žijícího dárce byla přidána společně formulovaná směs tří jedinečných klinických vzorků (HIV-1 skupiny M, HCV a HBV) nebo primárních standardů Roche (individuálně formulované vzorky HIV-1 skupiny O a HIV-2) v přibližné koncentraci $5 \times \text{LoD}$ příslušných typů vzorků. Každý kadaverózní vzorek byl v přístroji zředěn 1:5,6 roztokem pro ředění vzorků **cobas® omni** Specimen Diluent a zpracován postupem pro testování kadaverózních vzorků.

Všechny kadaverózní vzorky i vzorky žijících dárců vykázaly 100% míru reaktivity (95% interval spolehlivosti: 94,0–100 %). Klinická senzitivita pozorovaná u kadaverózních vzorků odpovídala senzitivě zjištěné Fisherovým exaktním testem u vzorků žijících dárců; souhrn uvádí Tab. 35.

Tab. 35 Souhrn míry reaktivity kadaverózních vzorků EDTA plazmy a vzorků EDTA plazmy žijících dárců

Analyt	Kadaverózní vzorek	Vzorek žijícího dárce
	% reaktivních (počet reaktivních / počet testovaných vzorků)	% reaktivních (počet reaktivních / počet testovaných vzorků)
HIV-1 skupina M	100 % (60/60)	100 % (60/60)
HIV-1 skupina O	100 % (60/60)	100 % (60/60)
HIV-2	100 % (60/60)	100 % (60/60)
HCV	100 % (60/60)	100 % (60/60)
HBV	100 % (60/60)	100 % (60/60)
Fisherův exaktní test, hodnota p ($\alpha = 0,05$)	Míra reaktivity nevykazuje významné rozdíly ($p = 1,000$)	

Specifická

Specifická testu **cobas®** MPX u kadaverózních vzorků EDTA plazmy a séra byla vyhodnocena a srovnána se specifíciou vzorků žijících dárců testováním 60 jednotlivých kadaverózních vzorků EDTA plazmy, z nichž 37 vzorků jednotlivých dárců bylo klasifikováno jako středně hemolyzované (slámově žlutá až růžová barva) a 23 jako silně hemolyzované (červená až hnědá barva), 61 jednotlivých kadaverózních vzorků séra, z nichž 42 vzorků jednotlivých dárců bylo klasifikováno jako středně hemolyzované a 19 jako silně hemolyzované, 60 individuálních sérově negativních vzorků plazmy žijících dárců a 60 individuálních vzorků plazmy. Studie byla provedena se 3 nezávislými šaržemi činidel pro test **cobas®** MPX. Každý kadaverózní vzorek byl v přístroji zředěn 1:5,6 roztokem pro ředění vzorků **cobas®** **omni** Specimen Diluent a zpracován postupem pro testování kadaverózních vzorků. Všechny kadaverózní vzorky a vzorky žijících dárců, jak EDTA plazmy, tak i séra, byly nereaktivní se 100% specifíciou. Specifická pozorovaná u kadaverózních vzorků odpovídala specifíciě zjištěné Fisherovým exaktním testem ($\alpha = 0,05$) u vzorků žijících dárců; souhrn uvádí Tab. 36.

Tab. 36 Souhrn specifíciy kadaverózních vzorků EDTA plazmy a séra a vzorků EDTA plazmy a séra žijících dárců

Matrice	Typ vzorku	Počet nereaktivních vzorků	Počet testovaných vzorků	% nereaktivních	Dvoustranný 95% interval spolehlivosti
EDTA plazma	Kadaverózní dárce	60	60	100 %	94,0–100 %
	Žijící dárce	60	60	100 %	94,0–100 %
Sérum	Kadaverózní dárce	61	61	100 %	94,1–100 %
	Žijící dárce	60	60	100 %	94,0–100 %
Celkové výsledky s použitím Fisherova exaktního testu ($\alpha = 0,05$)		Specifická kadaverózních vzorků a vzorků žijících dárců je ekvivalentní: Fisherův exaktní test, $p = 1,000$			

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost testu **cobas®** MPX na systémech **cobas®** 6800/8800 byla zjištěna s použitím 20 kadaverózních vzorků (středně a silně hemolyzovaných) s přidavkem klinických vzorků HIV-1 skupiny M, HBV a HCV a primárních standardů Roche pro RNA HIV-1 skupiny O a RNA HIV-2 do koncentrace přibližně $5 \times \text{LoD}$ testu **cobas®** MPX. Výsledky byly srovnány s reprodukovatelností zjištěnou pomocí 20 vzorků žijících dárců s přidavkem primárních a sekundárních standardů Roche do přibližné koncentrace $5 \times \text{LoD}$ testu **cobas®** MPX.

Testovány byly následující složky variability:

- variabilita mezi jednotlivými dny po dobu 6 dnů
- variabilita mezi jednotlivými šaržemi s použitím 3 různých šarží reagentů testu **cobas®** MPX

Jeden replikát byl testován s každou ze 3 šarží činidel po dobu 6 dnů, celkem 18 replikátů na každý kadaverózní vzorek a vzorek žijícího dárce. Každý kadaverózní vzorek byl v přístroji zředěn 1:5,6 roztokem pro ředění vzorků **cobas®** **omni** Specimen Diluent a zpracován postupem pro testování kadaverózních vzorků. Všechna platná data studie reprodukovatelnosti byla vyhodnocena porovnáním míry reaktivity vzorků žijících dárců a kadaverózních vzorků (dvoustranné 95% intervaly spolehlivosti) pro všechny složky variability. Hodnota p Fisherova exaktního testu byla vypočítána pro testování statistické významnosti rozdílu mezi podíly reaktivních výsledků pozorovaných u kadaverózních vzorků a vzorků od živých dárců. Nebyly pozorovány žádné významné rozdíly.

Test **cobas® MPX** je reprodukovatelný při použití po dobu několika dnů s použitím několika šarží činidel u kadaverózních vzorků a vzorků od živých dárců. Souhrn výsledků variability mezi šaržemi činidel uvádí Tab. 37.

Tab. 37 Souhrn reprodukovatelnosti testu **cobas® MPX** mezi jednotlivými šaržemi činidel u kadaverózních vzorků a vzorků od žijících dárců

Analyt	Šarže reagentie	Typ vzorku	% reaktivních (počet reaktivních/ počet platných replikátů)	Dolní mez 95% intervalu spolehlivosti	Horní mez 95% intervalu spolehlivosti	Významný rozdíl podle Fisherova exaktního testu ($\alpha = 0,05$)
HIV-1 skupina M	1	Kadaverózní	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	Hodnota p = 1,0000
		Žijící dárce	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	2	Kadaverózní	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	Hodnota p = 1,0000
		Žijící dárce	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	3	Kadaverózní	100,0 % (118/118)	96,9 %	100,0 %	Hodnota p = 1,0000
		Žijící dárce	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
HIV-1 skupina O	1	Kadaverózní	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	Hodnota p = 1,0000
		Žijící dárce	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	2	Kadaverózní	100,0 % (117/117)	96,9 %	100,0 %	Hodnota p = 1,0000
		Žijící dárce	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	3	Kadaverózní	99,2 % (118/119)	95,4 %	100,0 %	Hodnota p = 0,4979
		Žijící dárce	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
HIV-2	1	Kadaverózní	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	Hodnota p = 1,0000
		Žijící dárce	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	2	Kadaverózní	98,3 % (118/120)	94,1 %	99,8 %	Hodnota p = 0,4979
		Žijící dárce	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	3	Kadaverózní	99,2 % (118/119)	95,4 %	100,0 %	Hodnota p = 0,4979
		Žijící dárce	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
HCV	1	Kadaverózní	98,3 % (118/120)	94,1 %	99,8 %	Hodnota p = 0,4979
		Žijící dárce	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	2	Kadaverózní	98,3 % (118/120)	94,1 %	99,8 %	Hodnota p = 0,4979
		Žijící dárce	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	3	Kadaverózní	97,5 % (115/118)	92,7 %	99,5 %	Hodnota p = 0,1203
		Žijící dárce	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
HBV	1	Kadaverózní	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	Hodnota p = 1,0000
		Žijící dárce	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	2	Kadaverózní	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	Hodnota p = 1,0000
		Žijící dárce	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	3	Kadaverózní	100,0 % (118/118)	96,9 %	100,0 %	Hodnota p = 1,0000
		Žijící dárce	99,2 % (119/120)	95,4 %	100,0 %	

Klinické hodnocení výkonnosti prováděné na systémech cobas® 6800/8800

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost testu **cobas®** MPX pro použití na systémech **cobas®** 6800/8800 byla zjištěna testováním panelu obsahujícího HIV-1 skupiny M, skupiny O, HIV-2, HCV, a/nebo HBV ve třech různých koncentracích pro každý virus u všech šarží, testovacích pracovišť/zařízení, dní a dávek.

Obsluha na testovacím pracovišti pro test **cobas®** MPX prováděla testování po dobu pěti dní, s použitím 3 šarží činidel **cobas®** MPX k získání dvou platných dávek za den.

Tab. 38 představuje procentní shodu podle pracoviště/zařízení, šarže, den a dávku z platných výsledků u pozitivních členů panelu. Tato studie prokázala, že test **cobas®** MPX pro použití se systémy **cobas®** 6800/8800 vykazuje reprodukovatelnost v rámci hodnocených proměnných (šarže, pracoviště/zařízení, den a dávka) a pro pět testovaných analytů.

Tab. 38 Výsledky testů shrnuté podle pracoviště/zařízení, šarže, dne a dávky (pozitivní položky panelu)

Virové cíle	Koncentrace virů	Pracoviště/zařízení		Šarže		Den		Dávka	
		ID	% pozitivních výsledků	ID	% pozitivních výsledků	ID	% pozitivních výsledků	ID	% pozitivních výsledků
HIV-1 skupina M	~0,5 × LoD	1	81,7 % (49/60)	1	81,7 % (49/60)	1	91,7 % (33/36)	1	84,3 % (75/89)
		2	84,7 % (50/59)	2	88,3 % (53/60)	2	77,1 % (27/35)	2	81,1 % (73/90)
		3	81,7 % (49/60)	3	78,0 % (46/59)	3	83,3 % (30/36)		
						4	83,3 % (30/36)		
						5	77,8 % (28/36)		
	~1 × LoD	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)	1	97,2 % (35/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)	2	97,2 % (35/36)	2	97,8 % (88/90)
		3	96,7 % (58/60)	3	96,7 % (58/60)	3	100,0 % (36/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	100,0 % (36/36)		
	~3 × LoD	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (36/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (36/36)	2	100,0 % (90/90)
		3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (36/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	100,0 % (36/36)		

		Pracoviště/zařízení		Šarže		Den		Dávka	
Virové cíle	Koncentrace virů	ID	% pozitivních výsledků	ID	% pozitivních výsledků	ID	% pozitivních výsledků	ID	% pozitivních výsledků
HIV-1 skupina O	~0,5 × LoD	1	78,3 % (47/60)	1	83,3 % (50/60)	1	72,2 % (26/36)	1	73,3 % (66/90)
		2	76,7 % (46/60)	2	78,3 % (47/60)	2	77,8 % (28/36)	2	86,7 % (78/90)
		3	85,0 % (51/60)	3	78,3 % (47/60)	3	77,8 % (28/36)		
						4	86,1 % (31/36)		
						5	86,1 % (31/36)		
	~1 × LoD	1	98,3 % (59/60)	1	98,3 % (59/60)	1	94,4 % (34/36)	1	95,6 % (86/90)
		2	100,0 % (60/60)	2	96,7 % (58/60)	2	100,0 % (36/36)	2	98,9 % (89/90)
		3	93,3 % (56/60)	3	96,7 % (58/60)	3	97,2 % (35/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	94,4 % (34/36)		
	~3 × LoD	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (36/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (36/36)	2	100,0 % (90/90)
		3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (36/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	100,0 % (36/36)		
HIV-2	~0,5 × LoD	1	74,1 % (43/58)	1	73,3 % (44/60)	1	77,8 % (28/36)	1	69,7 % (62/89)
		2	76,7 % (46/60)	2	79,7 % (47/59)	2	69,4 % (25/36)	2	79,8 % (71/89)
		3	73,3 % (44/60)	3	71,2 % (42/59)	3	75,0 % (27/36)		
						4	71,4 % (25/35)		
						5	80,0 % (28/35)		
	~1 × LoD	1	96,7 % (58/60)	1	100,0 % (60/60)	1	97,2 % (35/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	98,3 % (59/60)	2	96,7 % (58/60)	2	100,0 % (36/36)	2	96,7 % (87/90)
		3	100,0 % (60/60)	3	98,3 % (59/60)	3	97,2 % (35/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	97,2 % (35/36)		
	~3 × LoD	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (36/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (36/36)	2	100,0 % (90/90)
		3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (36/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	100,0 % (36/36)		

Virové cíle	Koncentrace virů	Pracoviště/zařízení		Šarže		Den		Dávka	
		ID	% pozitivních výsledků	ID	% pozitivních výsledků	ID	% pozitivních výsledků	ID	% pozitivních výsledků
HCV	~0,5 × LoD	1	75,0 % (45/60)	1	80,0 % (48/60)	1	66,7 % (24/36)	1	79,8 % (71/89)
		2	70,7 % (41/58)	2	76,7 % (46/60)	2	77,8 % (28/36)	2	74,2 % (66/89)
		3	85,0 % (51/60)	3	74,1 % (43/58)	3	69,4 % (25/36)		
						4	91,2 % (31/34)		
						5	80,6 % (29/36)		
	~1 × LoD	1	100,0 % (60/60)	1	98,3 % (59/60)	1	97,2 % (35/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	96,7 % (58/60)	2	98,3 % (59/60)	2	100,0 % (36/36)	2	97,8 % (88/90)
		3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)	3	97,2 % (35/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	100,0 % (36/36)		
	~3 × LoD	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (36/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	100,0 % (59/59)	2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (36/36)	2	100,0 % (89/89)
		3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (59/59)	3	100,0 % (36/36)		
						4	100,0 % (35/35)		
						5	100,0 % (36/36)		
HBV	~0,5 × LoD	1	80,0 % (48/60)	1	80,0 % (48/60)	1	80,6 % (29/36)	1	72,2 % (65/90)
		2	78,3 % (47/60)	2	73,3 % (44/60)	2	80,6 % (29/36)	2	82,2 % (74/90)
		3	73,3 % (44/60)	3	78,3 % (47/60)	3	75,0 % (27/36)		
						4	77,8 % (28/36)		
						5	72,2 % (26/36)		
	~1 × LoD	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (36/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (36/36)	2	100,0 % (90/90)
		3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (36/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	100,0 % (36/36)		
	~3 × LoD	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (36/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (36/36)	2	100,0 % (90/90)
		3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (36/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	100,0 % (36/36)		

Klinická specificita

Reaktivita v populaci dárců krve

Vzorky byly odebrány dárcům krve ze čtyř testovacích pracovišť, kteří poskytli souhlas. Testování testem **cobas® MPX** bylo provedeno podle dvou testovacích algoritmů: jednoho pro testování jednotlivého dárcovského vzorku, které vyžadovalo testování na jedné úrovni; a druhého pro testování směsi šesti vzorků, které vyžadovalo testování na jedné úrovni u primárních směsí, které byly nereaktivní, a dvě úrovně testování u směsí, které byly reaktivní (test primární směsi a rozlišovací test) (Tab. 39). Specificita směsi byla 99,91 % (10 524/10 534; 99,83–99,95 %) (Tab. 40). V deseti reaktivních směších byly všechny dárcovské vzorky negativní. Klinická specificita testování jednotlivých dárcovských vzorků byla 99,95 % (95% CI: 99,88 % až 99,98 %). Míra neplatnosti dávky pro test **cobas® MPX** byla 3,5 % (18/509) u počátečního testování směsí šesti jednotlivých dárcovských vzorků, a 6,8 % (16/219) u jednotlivých dárcovských vzorků. V této studii byly identifikovány dva případy s výsledky testování nukleových kyselin (NAT) pozitivními na HCV.

Tab. 39 Klinická specificita testu **cobas® MPX** – celková

Velikost poolu	Četnost (n/N)	Odhad v procentech (95% Clopper-Pearsonův exaktní interval spolehlivosti)
Jednotlivý (plazma)	5523 / 5528	99,91 % (99,79–99,986 %)
Jednotlivý (sérum)	5669 / 5670	99,98 % (99,90–100,00 %)
Jednotlivý (plazma/sérum)	11 192 / 11 198	99,95 % (99,88–99,98 %)
Směs 6 (plazma)	62 982 / 62 982	100,00 % (99,99–100,00 %)

N = celkový počet negativních vzorků; n = počet nereaktivních vzorků podle testu **cobas® MPX**.

Tab. 40 Reaktivita směsí odběrů dobrovolných dárců krve při testu **cobas® MPX**

Kategorie	Počet směsí	Procento testovaných směsí
Počet testovaných směsí	10 563	100
Nereaktivní směsi	10 524	99,63
Reaktivní směsi	39	0,37
Reaktivní směsi s pozitivním stavem dárce	29	0,27
Reaktivní směsi s negativním stavem dárce (falešně pozitivní)*	10	0,10

* Z 10 falešně reaktivních směsí byla jedna směs falešně reaktivní na HIV, čtyři falešně reaktivní na HCV a pět směsí bylo falešně reaktivních na HBV.

Reaktivita v populaci dárců plazmy

Celkem 108 306 vyhodnotitelných dárcovských vzorků od 24 514 jedinečných dárců bylo testováno ve skupinách po 96 jak testem **cobas®** MPX, tak multiplexním testem nukleových kyselin (NAT) pod licenci FDA. 108 297 dárcovských vzorků mělo negativní výsledky na anti-HIV, anti-HCV a HBsAg (Tab. 41). Stav dárcovského vzorku (pozitivní/negativní) byl přiřazen na základě shody dvou virově-specifických testů (např. dvou testů nukleových kyselin nebo testu nukleové kyseliny a sérologického testu) u prvního dárcovského vzorku nebo u výsledků následného testování. Celkem bylo testováno testem **cobas®** MPX 1106 směsí, z nichž 1092 (98,7 %) bylo nereaktivních a 14 (1,3 %) bylo reaktivních. Z 1092 nereaktivních směsí 1090 směsí obsahovalo všechny dárcovské vzorky negativní a dvě směsi obsahovaly alespoň jeden vzorek pozitivní. Z 1106 testovaných směsí byly dvě nereaktivní směsi s nejméně jedním pozitivním dárcovským vzorkem a sedm reaktivních směsí s nejméně jedním pozitivním dárcovským vzorkem (Tab. 42).

Tab. 41 Klinická specifická testu **cobas®** MPX – na úrovni dárcovského vzorku

Parametr	Celkový počet negativních dárcovských vzorků	Výsledek testu cobas® MPX		Procentní odhad (95% exaktní CI)
		Reaktivní	Nereaktivní	
Klinická specifická	108 297	6	108 291	99,99 (99,99, 100,00)
Klinická specifická pro HIV	108 297	3	108 294	100,00 (99,99, 100,00)
Klinická specifická pro HCV	108 297	1	108 296	100,00 (100,00, 100,00)
Klinická specifická pro HBV	108 297	2	108 295	100,00 (99,99, 100,00)

Tab. 42 Reaktivita směsí u dárcovských vzorků plazmy

Kategorie	Počet směsí	Procento testovaných směsí
Celkem testováno směsí o velikosti 96 ^a vzorků:	1106	100
Nereaktivní směsi ^b	1092	98,7
Nereaktivní směsi se všemi dárcovskými vzorky negativními	1090	98,6 (1090/1106)
Nereaktivní směsi s alespoň jedním dárcovským vzorkem pozitivním	2 ^c	0,2 (2/1106)
Reaktivní směsi ^b	14	1,3
Reaktivní směsi s alespoň jedním dárcovským vzorkem pozitivním	7	0,6 (7/1106)
Reaktivní směsi s negativními dárcovskými vzorky (falešně reaktivní směsi)	7	0,6 (7/1106)

^a 479/1106 mělo < 96 dárcovských vzorků.

^b Stav dárcovského vzorku (pozitivní/negativní) byl přiřazen na základě shody dvou virově-specifických testů (např. dvou testů nukleových kyselin nebo testu nukleové kyseliny a sérologického testu) u prvního dárcovského vzorku nebo u výsledků následného testování.

^c Tyto dvě nereaktivní směsi obsahovaly vzorky od dárce pozitivního na HBV. Dárcův první vzorek byl pozitivní na HBV při testu **cobas®** MPX ale negativní při testu **cobas®** TaqScreen MPX, a byl potvrzen jako pozitivní na HBV alternativním vysoce citlivým testem nukleových kyselin. Tento dárce následně poskytl tři další dárcovské vzorky, které byly nereaktivní u obou screeningových testů nukleových kyselin. Jeden z těchto vzorků byl součástí směsi pozitivní na HCV.

Jedenáct jedinečných dárců poskytlo 12 reaktivních dárcovských vzorků (šest HCV, tři HIV a tři HBV). Sedm dárců absolvovalo následné testování: u třech z těchto dárců se při kontrole neprokázala infekce; u čtyř dárců byla při kontrole potvrzena infekce a u dvou z nich došlo během následného sledování k sérokonverzi (HCV) (Tab. 43). U jednoho ze tří dárců pozitivních na HBV měl pozitivní výsledek pro HBV při testování nukleových kyselin.

Tab. 43 Pozorované vzorce reaktivity při počátečním testování vyhodnotitelných dárcovských vzorků

Výsledek testu cobas® MPX	Stav dárcovského vzorku ^a	Počet dárcovských vzorků
HCV+	Pozitivní	5
HBV+	Negativní	2
HBV+	Pozitivní	4 ^b
HCV+	Negativní	1
HIV+	Negativní	3
Nereaktivní	Negativní	108 291
	Celkem	108 306

^a Stav dárcovského vzorku (pozitivní/negativní) byl přiřazen na základě vzoru reaktivity při testech („shody“ dvou virově-specifických testů [např. dvou testů nukleových kyselin nebo testu nukleové kyseliny a sérologického testu] u prvního dárcovského vzorku nebo u výsledků následného testování).

^b Tyto vzorky jsou všechny od téhož dárce, jehož první dárcovský vzorek byl HBV+ a jehož tři následující dárcovské vzorky byly klasifikovány jako pozitivní, ačkoli výsledek testu cobas® MPX byl nereaktivní pro HBV.

Pozn.: tato souhrnná tabulka obsahuje pouze vyhodnotitelné výsledky; + = reaktivní/pozitivní.

Klinická specifita testu cobas® MPX pro směsi plazmy byla stanovena analýzou 108 306 vyhodnotitelných dárcovských vzorků od 24 514 jedinečných dárců. Vyhodnotitelné dárcovské vzorky měly při testování individuálních dárcovských vzorků platné výsledky testu cobas® MPX, cobas® TaqScreen MPX, výsledky CAS při testování směsí platné sérologické výsledky (pro všechny analyty). Z těchto 108 306 vyhodnotitelných dárcovských vzorků byl 108 297 přiřazen dárcovský stav negativní, z čehož 108 291 bylo vyhodnoceno testem cobas® MPX jako nereaktivní, což odpovídá klinické specifitě 99,994 % (95% CI: 99,988–99,997 %). U sedmi směsí (po 96 vzorcích) s falešnou reaktivitou při testu cobas® MPX se při rozlišovacích testech ukázalo, že všechny jejich vzorky byly negativní. Ze 24 514 testovaných jedinečných dárců mělo 24 509 pouze negativní dárcovské vzorky, z nichž 24 503 byly nereaktivní při testu cobas® MPX a šest mělo falešně pozitivní výsledky s výslednou specifitou (na úrovni dárce) 99,976 %; (95% interval spolehlivosti: 99,947–99,989 %).

Studie u vysoce rizikové populace

Dodavatelé třetích stran odebrali vzorky od jednotlivců s vysokým rizikem infekce HIV, HCV nebo HBV. Přítomné vysoce rizikové faktory byly zejména pobyt v nápravném zařízení v anamnéze; diagnóza pohlavně přenosného onemocnění v anamnéze; větší počet sexuálních partnerů v anamnéze; užívání injekčních drog; diagnóza nebo léčba infekce HIV; diagnóza nebo léčba hepatitidy. U některých dárců vzorků bylo přítomno více rizikových faktorů. Celkem 510 vzorků od vysoce rizikové populace bylo rozděleno přibližně rovnoměrně mezi třemi testovacími pracovišti a otestováno pomocí cobas® MPX a cobas® TaqScreen MPX včetně CAS.

Všechny vzorky byly připraveny jako panely. Ředěné vzorky byly manuálně zředěné směsí lidské plazmy negativní na HIV-1/2, HCV a HBV. Na testovacích pracovištích proběhly testy cobas® MPX a cobas® TaqScreen včetně CAS (pro rozlišení cílů) u neředěných vzorků s použitím standardního postupu zpracování vzorků uvedeného na příbalové informaci testu cobas® TaqScreen MPX. Vzorky byly rovněž testovány zředěné při simulaci směsí po šesti vzorcích, a to testy cobas® MPX a cobas® TaqScreen. U zředěných vzorků nebyl prováděn CAS.

Těchto 510 neředěných vzorků poskytlo při testech cobas® MPX a cobas® TaqScreen MPX výsledky, z nichž 179 bylo reaktivních (pro jeden nebo více cílů) při testu cobas® MPX (35,1 %); a 181 bylo reaktivních při testu cobas® TaqScreen MPX (35,5 %). Výsledky 488 vzorků (95,7 %) byly při testech cobas® MPX a cobas® TaqScreen MPX shodné, zatímco výsledky 22 (4,3 %) vzorků byly při testech cobas® MPX a cobas® TaqScreen MPX neshodné.

U těchto 510 neřaděných vysoce rizikových vzorků identifikoval test **cobas®** MPX správně přítomnost nebo absenci virového cíle v 97,0 % případů (495/510), v porovnání s výsledky CAS nebo alternativní analýzy nukleových kyselin (NGI; National Genetics Institute). U 3 % vzorků, kde test **cobas®** MPX neidentifikoval správně přítomnost nebo absenci virového cíle, test **cobas®** MPX nesprávně detekoval virový cíl v 1,8 % (9/510) případů (falešně reaktivní výsledek) a nedetekoval virový cíl ve vzorcích, které cíl obsahovaly v 1,2 % (6/510) případů (falešně nereaktivní výsledek). Shrnutí těchto výsledků viz Tab. 44.

Tab. 44 Správná vs nesprávná identifikace viru – neřaděné vzorky

	Výsledek testu cobas® MPX ^a	%	Celkem správných
Pravdivě reaktivní	170	97,0 %	495
Pravdivě nereaktivní	325		
Falešně reaktivní	9	1,8 %	15
Falešně nereaktivní	6	1,2 %	
Celkem	510	100,0 %	510

^a Konečný stav (v porovnání s výsledky CAS nebo alternativního testování nukleových kyselin [NGI]).

Pozn.: správná identifikace = pravdivě reaktivní a pravdivě nereaktivní výsledky (tučně).

Z 510 testovaných řaděných vzorků bylo 153 vzorků reaktivních při testu **cobas®** MPX (30,0 %), v porovnání se 151 vzorky, které byly reaktivní při testu **cobas®** TaqScreen MPX (29,6 %). Z 510 zřaděných vzorků mělo 484 vzorků (94,9 %) při testech **cobas®** MPX a **cobas®** TaqScreen MPX shodné výsledky, zatímco výsledky 26 (5,1 %) vzorků byly při testech **cobas®** MPX a **cobas®** TaqScreen MPX neshodné.

Test **cobas®** MPX správně identifikoval virový cíl v 96,7 % (492/509) případů (509 zřaděných vzorků nezahrnuje jeden vzorek, pro nějž nebyl zjištěn výsledek NGI). U 3,4 % vzorků, kde test **cobas®** MPX neidentifikoval správně virový cíl, test **cobas®** MPX nesprávně detekoval virový cíl v 1,2 % (6/509) případů (falešně reaktivní výsledek) a nedetekoval virový cíl ve vzorcích, které cíl obsahovaly v 2,2 % (11/509) případů (falešně nereaktivní výsledek). Shrnutí těchto výsledků viz Tab. 45.

Tab. 45 Správná vs nesprávná identifikace viru – řaděné vzorky

	Výsledek testu cobas® MPX ^a	%	Celkem správných
Pravdivě reaktivní	147	96,7	492
Pravdivě nereaktivní	345		
Falešně reaktivní	6	1,2	17
Falešně nereaktivní	11	2,2	
Celkem	509 ^b	100	509 ^b

^a Konečný stav (v porovnání s výsledky CAS nebo alternativního testování nukleových kyselin [NGI], které byly prováděny na nezřaděných vzorcích).

^b Nezahrnuje jeden vzorek, u nějž nebyl zjištěn výsledek NGI.

Pozn.: správná identifikace = pravdivě reaktivní a pravdivě nereaktivní výsledky (tučně).

Klinická senzitivita

Studie NAT-pozitivních populací

Celkem 2569 vzorků NAT-pozitivních na HIV, HCV a HBV bylo testováno na čtyřech pracovištích testy **cobas® MPX** a **cobas® TaqScreen MPX** včetně CAS. Byly použity čtyři šarže činidel pro test **cobas® MPX**. Ze 2569 NAT-pozitivních vzorků bylo 1015 HIV-pozitivních, 1016 HCV-pozitivních a 538 HBV-pozitivních. Každý vzorek byl testován neřaděný i řaděný (1:6) testy **cobas® MPX** a **cobas® TaqScreen MPX**. Licencovanými CAS testy podle standardního postupu zpracování vzorků doporučeného v příbalové informaci testu **cobas® TaqScreen MPX** byly testovány jen neřaděné vzorky. Tab. 46 porovnává citlivosti výsledků testů **cobas® MPX** a **cobas® TaqScreen Test** u vzorků známých jako pozitivní na HIV, HCV a HBV.

Celková klinická senzitivita testu **cobas® MPX** byla 100,0 % (2549/2549) u neřaděných známých pozitivních vzorků a 100,0 % (2555/2555) u známých pozitivních vzorků zředěných 1:6. Celková klinická senzitivita testu **cobas® TaqScreen MPX** byla 99,9 % (2523/2524) u neřaděných známých pozitivních vzorků a 99,8 % (2559/2563) u známých pozitivních vzorků zředěných 1:6. Celková procentní shoda pozitivních vzorků (PPA) mezi testy **cobas® MPX** a **cobas® TaqScreen MPX** pro všechny známé pozitivní vzorky v této studii byla 100,0 % jak pro neřaděné, tak pro řaděné vzorky (Tab. 46).

Tab. 46 Porovnání citlivosti výsledků testů **cobas® MPX** a **cobas® TaqScreen** pro HIV, HCV a HBV u známých pozitivních vzorků

		Citlivost u známých pozitivních vzorků ^a		Rozdíl (Výsledek testu cobas® MPX – test cobas® TaqScreen MPX)	
Zředění	Cílový virus	Výsledek testu cobas® MPX	Test cobas® TaqScreen MPX	Odhad	95% interval spolehlivosti
Neřaděný	Souhrnně	100,00 % (2549/2549)	99,96 % (2523/2524)	0,04 %	(-0,04 %, 0,12 %)
	HIV	100,00 % (1006/1006)	99,90 % (1007/1008)	0,10 %	(-0,10 %, 0,29 %)
	HCV	100,00 % (1015/1015)	100,00 % (1014/1014)	0,00 %	Nevztahuje se
	HBV	100,00 % (528/528)	100,00 % (502/502)	0,00 %	Nevztahuje se
1:6	Souhrnně	100,00 % (2555/2555)	99,84 % (2559/2563)	0,16 %	(0,00 %, 0,31 %)
	HIV	100,00 % (1006/1006)	99,60 % (1005/1009)	0,40 %	(0,01 %, 0,78 %)
	HCV	100,00 % (1016/1016)	100,00 % (1016/1016)	0,00 %	Nevztahuje se
	HBV	100,00 % (533/533)	100,00 % (538/538)	0,00 %	Nevztahuje se

^a Do analýzy senzitivity byly zahrnuty jen známé pozitivní vzorky s platnými výsledky testu.

HIV NAT-pozitivní populace

Z 1015 HIV-pozitivních neřaděných vzorků vzešlo 1006 vyhodnotitelných výsledků při testu **cobas® MPX** a 1008 vyhodnotitelných výsledků při testu **cobas® TaqScreen MPX** včetně CAS. Z 1015 HIV-pozitivních řaděných vzorků vzešlo 1006 vyhodnotitelných výsledků při testu **cobas® MPX** a 1009 vyhodnotitelných výsledků při testu **cobas® TaqScreen MPX** (u řaděných vzorků nebyl prováděn CAS).

Test **cobas® MPX** byl reaktivní u 1006 z 1006 (100,0 %) neřaděných vzorků HIV a u 1006 z 1006 (100,0 %) řaděných vzorků HIV. Test **cobas® TaqScreen MPX** včetně CAS byl reaktivní u 1007 z 1008 (99,90 %) neřaděných vzorků HIV. Test **cobas® TaqScreen MPX** (nebyl prováděn CAS) byl reaktivní u 1005 z 1009 (99,60 %) řaděných vzorků HIV. PPA mezi testem **cobas® MPX** a testem **cobas® TaqScreen MPX** u neřaděných vzorků HIV bylo 100,0 % a u řaděných vzorků HIV 100,0 %.

HCV NAT-pozitivní populace

Test **cobas**® MPX byl reaktivní u 1015 z 1015 (100,0 %) neřaděných vzorků HCV a u 1016 z 1016 (100,0 %) řaděných vzorků HCV. Test **cobas**® TaqScreen MPX včetně CAS byl také reaktivní u 1014 z 1014 (100,0 %) neřaděných vzorků. Test **cobas**® TaqScreen MPX (nebyl prováděn CAS) byl reaktivní u 1016 z 1016 (100,0 %) řaděných vzorků. PPA mezi testem **cobas**® MPX a testem **cobas**® TaqScreen MPX u neřaděných vzorků HCV bylo 100,0 % a u řaděných vzorků HCV 100,0 %.

HBV NAT-pozitivní populace

Z 538 HBV-pozitivních neřaděných vzorků vzešlo 528 vyhodnotitelných výsledků při testu **cobas**® MPX a 502 vyhodnotitelných výsledků při testu **cobas**® TaqScreen MPX včetně CAS. Z 538 řaděných vzorků HBV vzešlo 533 vyhodnotitelných výsledků při testu **cobas**® MPX a 538 vyhodnotitelných výsledků při testu **cobas**® TaqScreen MPX (u řaděných vzorků nebyl prováděn CAS).

Test **cobas**® MPX byl reaktivní u 528 z 528 (100,0 %) neřaděných HBV-pozitivních vzorků a u 533 z 533 (100,0 %) řaděných HBV-pozitivních vzorků. Test **cobas**® TaqScreen MPX včetně CAS byl reaktivní u 502 z 502 (100,0 %) neřaděných vzorků HBV. Test **cobas**® TaqScreen MPX (nebyl prováděn CAS) byl reaktivní u 538 z 538 (100,0 %) řaděných vzorků HBV. PPA mezi testem **cobas**® MPX a testem **cobas**® TaqScreen MPX u neřaděných vzorků HBV bylo 100,0 % a u řaděných vzorků HBV 100,0 %.

Klinická senzitivita pro séropozitivní populaci s HIV-1 skupiny O a s HIV-2

Séropozitivní populace s HIV-1 skupiny O

Celkem 12 séropozitivních vzorků HIV-1 skupiny O bylo testováno po zředění 1:6 pomocí testu **cobas**® MPX a **cobas**® TaqScreen MPX. Vzorky byly testovány v ředění 1:6 kvůli omezenému objemu. Všechny vzorky HIV-1 skupiny O byly reaktivní na HIV při testu **cobas**® MPX po zředění 1:6, jak uvádí souhrnná Tab. 47, s klinickou citlivostí 100,0 % v porovnání se sérologií.

Tab. 47 Porovnání celkové reaktivity séropozitivních vzorků HIV-1 skupiny O (ředění 1:6)

Test cobas ® TaqScreen MPX (ředění 1 : 6)	Test cobas ® MPX (ředění 1:6)		Celkem
	Reaktivní	Nereaktivní	
Reaktivní	11	0	11
Nereaktivní	1	0	1
Celkem	12	0	12

HIV-2 séropozitivní populace

Celkem 319 séropozitivních vzorků HIV-2 bylo testováno pomocí testu **cobas**® MPX a **cobas**® TaqScreen MPX. Ze 319 séropozitivních vzorků bylo 184 testováno neřaděných a po zředění 1:6 testem **cobas**® MPX a **cobas**® TaqScreen MPX, zatímco zbývajících 135 bylo testováno pouze po zředění 1:6 kvůli omezenému objemu.

Celkem 137 vzorků ze 184 testovaných neřaděných vzorků bylo reaktivních při použití testu **cobas**® MPX, jak uvádí souhrnná Tab. 48, s klinickou senzitivitou 74,5 % v porovnání se sérologií. Byla prokázána i srovnatelná senzitivita testu **cobas**® MPX vůči HIV-2 při naředění vzorků 1:6 před testováním oběma metodami. Celkem 198 vzorků ze 319 vzorků zředěných 1:6 bylo reaktivních při testu **cobas**® MPX, jak uvádí souhrnná Tab. 49.

Tab. 48 Porovnání celkové reaktivity séropozitivních vzorků HIV-2 (neřaděné)

Test cobas® TaqScreen MPX (neřaděné)	Test cobas® MPX (neřaděné)		Celkem
	Reaktivní	Nereaktivní	
Reaktivní	118	7	125
Nereaktivní	19	40	59
Celkem	137	47	184

Tab. 49 Porovnání celkové reaktivity séropozitivních vzorků HIV-2 (ředění 1:6)

Test cobas® TaqScreen MPX (ředění 1 : 6)	Test cobas® MPX (ředění 1:6)		Celkem
	Reaktivní	Nereaktivní	
Reaktivní	173	33	206
Nereaktivní	25	88	113
Celkem	198	121	319

Potvrzení sérologických výsledků

Data ze známé pozitivní studie obsahovala 2555 známých pozitivních vzorků; u každého byla potvrzena infekce HIV, HCV nebo HBV pomocí výsledků testu nukleových kyselin (NAT) a sérologického testu. Výsledky doplňkových sérologických testů byly známy u 1771 (69,3 %) výsledků. Správný výsledek testu **cobas® MPX**, definovaný jako reaktivní výsledek pro virový cíl, pro nějž byl vzorek znám jako pozitivní (např. HIV, HCV nebo HBV), byl porovnán s výsledky doplňkových sérologických testů. Procentuální zastoupení správných výsledků (odhad senzitivity) pro test **cobas® MPX** bylo vypočteno pro každý cílový virus i celkově, spolu s příslušnými 95% intervaly spolehlivosti (CI). Test **cobas® MPX** správně identifikoval 1771 z 1771 (100,0 %) vzorků s reaktivními sérologickými a doplňkovými sérologickými výsledky. Tab. 50 ukazuje reaktivitu testu **cobas® MPX** pro analyt každého virového cíle v porovnání se známými výsledky sérologických a doplňkových sérologických testů, a také odhad senzitivity a 95% CI celkově a pro každý virový cíl.

Tab. 50 Senzitivita testu **cobas® MPX** pro neřaděné známé pozitivní vzorky s potvrzovacími sérologickými výsledky

Zředění	Test	Cílový virus	Známé pozitivní vzorky celkově*	Počet reaktivních podle testu	Odhad senzitivity	95% CI (skóre)
Neřaděný	MPX8800	Souhrnně	1771	1771	100,00 %	(99,78 %, 100,00 %)
Neřaděný	MPX8800	HIV	496	496	100,00 %	(99,23 %, 100,00 %)
Neřaděný	MPX8800	HCV	747	747	100,00 %	(99,49 %, 100,00 %)
Neřaděný	MPX8800	HBV	528	528	100,00 %	(99,28 %, 100,00 %)

* Do analýzy senzitivity byly zahrnuty jen známé pozitivní vzorky s platnými výsledky testu **cobas® MPX** pro neřaděné vzorky a potvrzovacími sérologickými výsledky.

Doplňující informace

Hlavní parametry testu

Typ vzorku	Plazma a sérum
Minimální požadovaný objem vzorku žijícího dárce	1000 µl*
Zpracovaný objem vzorku žijícího dárce	850 µl
Minimální požadovaný objem kadaverózního vzorku	300 µl*
Zpracovaný objem kadaverózního vzorku	150 µl

* Zkumavky používané k testování mohou mít jiné mrtvé objemy a vyžadovat větší nebo menší minimální objem. Další informace získáte od místního zástupce servisních služeb společnosti Roche.

Symbols

V označování diagnostických produktů společnosti Roche PCR se používají následující symboly.

Tab. 51 Symboly použité při označování diagnostických produktů PCR společnosti Roche

Age/DOB	Věk nebo datum narození		Prostředek není pro testování u lůžka pacienta	QS IU/PCR	Kopie IU na reakci PCR, použijte mezinárodní jednotky (UI) QS na reakci PCR při výpočtu výsledků.
	Pomocný software		Prostředek není určen pro samotestování	SN	Sériové číslo
Assigned Range [copies/mL]	Přiřazené rozmezí (kopie/mL)		Distributor (Pozn.: pod symbolem může být uvedena příslušná země/oblast.)	Site	Pracoviště
Assigned Range [IU/mL]	Přiřazené rozmezí (IU/mL)		Nepoužívat opakovaně	Procedure Standard	Standardní postup
EC REP	Zplnomocněný zástupce pro evropské společenství		Žena	STERILE EO	Sterilizováno ethylenoxidem
	Datový list s čárovými kódy		Pouze pro vyhodnocení výkonnosti IVD		Uchovávejte v temnu
LOT	Číslo šarže	GTIN	Globální číslo obchodní položky		Omezení teploty
	Biologická rizika		Dovozce		Definiční soubor testu
REF	Katalogové číslo	IVD	Zdravotnický prostředek pro <i>in vitro</i> diagnostiku		Neklopit
	Značka shody CE. Tento prostředek odpovídá příslušným požadavkům pro značku shody CE pro diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>	LLR	Dolní mez přiřazeného rozmezí	Procedure UltraSensitive	Ultracitlivý postup
Collect Date	Datum odběru		Muž	UDI	Jedinečná identifikace prostředku
	Čtěte návod k použití		Výrobce	ULR	Horní mez přiřazeného rozmezí
	Obsah vystačí pro <n> testů	CONTROL -	Negativní kontrola	Urine Fill Line	Hladina pro naplnění moči
CONTENT	Obsah soupravy		Nesterilní	Rx Only	Pouze pro USA: podle federálního zákona smí být tento prostředek prodáván pouze lékařem nebo na jeho objednávku.
CONTROL	Kontrola		Jméno pacienta		Datum expirace
	Datum výroby		Číslo pacienta		
	Prostředek pro testování u lůžka pacienta		Zde odloupnout		
	Prostředek pro samotestování	CONTROL +	Pozitivní kontrola		
		QS copies / PCR	Kopie QS na reakci PCR, použijte kopie QS na reakci PCR při výpočtu výsledků.		

Technická podpora

Pro technickou podporu (asistenci) kontaktujte místní zastoupení:

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

Výrobce a dovozce

Tab. 52 Výrobce a dovozce



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

Vyrobeno v USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Ochranné známky a patenty

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

Autorská práva

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Literatura

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

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

32. Stramer SL, Wend U, Candotti D, et al. Nucleic acid testing to detect HBV infection in blood donors. *N Engl J Med*. 2011;364:236-47. PMID: 21247314.
33. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8. PMID: 2227421.
34. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93. PMID: 7845459.
35. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78. PMID: 7697717.
36. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7. PMID: 1368485.
37. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. PMID: 8908518.
38. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
39. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014. Accessed 08-APR-2021. Available at: https://clsi.org/media/1459/m29a4_sample.pdf.
40. National Institute for Biological Standards and Control. HIV-2 RNA International Standard (NIBSC code 08/150). Accessed 08-APR-2021. Available at: https://www.nibsc.org/products/brm_product_catalogue/who_standards.aspx.

Revize dokumentu

Informace k revizi dokumentu	
Doc Rev. 2.0 11/2023	Celý text byl upraven tak, aby, tam kde je to třeba, byla uvedena souprava 192T. Byly vyjasněny jazykové a tiskové chyby. V tabulce 7 byla aktualizována stabilita otevřené soupravy 480T. Do oddílu Odběr, přeprava, uchovávání a poolování vzorků byly přidány informace. Aktualizována část Bezpečnostní opatření a požadavky na manipulaci. Byl přidán odkaz na shrnutí zprávy o bezpečnosti a výkonnosti. Byl aktualizován oddíl Ochranné známky a patenty včetně odkazu. Bylo aktualizováno označení značkou cobas®. Máte-li jakékoli dotazy, kontaktujte zástupce společnosti Roche.

Shrnutí zprávy o bezpečnosti a výkonnosti najdete na této webové adrese: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>