

cobas[®] TaqScreen MPX Test

for use on the cobas s 201 system

PRO ÚČELY DIAGNOSTIKY *IN VITRO*.

cobas [®] TaqScreen MPX Test	MPX	96 Tests	P/N: 04584244 190
cobas [®] TaqScreen MPX Control Kit	MPX CTL	6 Sets	P/N: 04626290 190
cobas [®] TaqScreen Wash Reagent	TS WR	5.1 L	P/N: 04404220 190

Pro testování kadaverózních vzorků pomocí testu **cobas[®] TaqScreen MPX**, musí mít uživatel kromě výše zmíněných souprav ještě následující soupravu:

cobas [®] TaqScreen Cadaveric Specimen Diluent Kit	CADV SPEC DIL	96 Tests	P/N: 05002125 190
-------------------------------------------------------------	----------------------	----------	-------------------

ÚČEL POUŽITÍ

Test **cobas[®] TaqScreen MPX**, který je určen pro použití se systémem **cobas s 201**, je kvalitativní *in vitro* test pro přímé zjištění RNA lidského viru selhání imunity typu 1 (HIV-1) skupiny M, lidského viru selhání imunity typu 1 skupiny O RNA, RNA lidského viru selhání imunity typu 2 (HIV-2), RNA viru Hepatitidy C (HCV) a DNA viru Hepatitidy B (HBV) v lidské plazmě.

Tento test je určen pro skriningové testy dárců krve ke zjištění HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV RNA a HBV DNA ve vzorcích plazmy od jednotlivých dárců krve, včetně dárců plné krve, složek krve, plazmy a dalších od žijících dárců. Tento test je také určen pro použití při vyšetření jednotlivých dárců orgánů a dárců tkání, kdy jsou vzorky odebrány, zatímco srdce dárce stále bije, a při vyšetření krevních vzorků z posmrtných (bez srdečního rytmu) (kadaverózních) dárců orgánů a tkání.

Plazma od všech dárců může být otestována jako jednotlivé vzorky. U dárců plné krve a složek krve mohou být vzorky plazmy testovány jednotlivě nebo ve směsích obsahujících stejné alikvotní části jednotlivých vzorků spolu se sérologickými testy na HIV, HCV nebo HBV.

Tento test není určen pro použití jako pomůcka pro stanovení diagnózy.

SOUHRN A VÝKLAD TESTU

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 (HBV). Tyto agens jsou primárně přenášeny kontaminovanou krví nebo plazmovými produkty, některými tkáněmi nebo tekutinami, pohlavním stykem nebo z infikované matky na novorozené dítě.

Prevalence HIV-1 je celosvětová, s celkovou prevalencí 1,1 % (0,56 % v severní Americe a 0,25 % v západní Evropě). 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.¹ 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 je vysoce prevalentní a dělí se na 9 subtypů a několik cirkulujících rekombinantních forem viru (CRF).² Vir HIV-2 byl poprvé izolován v roce 1986 u pacientů v západní Africe. Oba viry HIV-1 a HIV-2 mají stejný způsob přenosu a jsou spojeny s podobnými oportunními infekcemi a syndromem získaného selhání imunity (AIDS).³ Prevalence viru HIV-2 u některých afrických národů dosahuje více než 1 % a HIV-2 způsobuje zvýšené obavy v některých částech Evropy a v USA.⁴ HCV je považována za hlavní příčinnou agens odpovědnou za 90 – 95 % případů post transfuzních hepatitid jiného typu než A a B.^{5,6} HCV se objevuje po celém světě, avšak incidence není dobře známa vzhledem k tomu, že tato infekce je obecně asymptomatická. Uváděná prevalence se nicméně různí od 0,5 – 2,0 % v západní Evropě až po vysoké hodnoty 20 % v Egyptě. Více než 2 miliardy dnes žijících lidí na celém světě byly někdy ve svém životě infikovány HBV. Z nich je celosvětově asi 350 miliónů lidí chronickými nosiči viru.⁷⁻¹¹ Tři čtvrtiny světové populace žijí v oblastech s vysokým výskytem infekce. Každý rok se objeví více než 4 miliónů klinických případů akutní HBV.

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 HBsAg a v 80. letech na protilátky proti HBc. Kromě skrínungu HBV je krev a plazma dárců běžně testována na přítomnost HIV-1 a HIV-2 skrínungem pomocí enzymových imunoanalýz (EIA) a na protilátky proti HCV pomocí EIA. Společenská potřeba vyšších standardů skrínungu na infekční látky v transfuzních produktech podpořila pokrok v technologii testů nukleové kyseliny (NAT). Studie ukázaly, že testování virových nukleových kyselin (HIV-1 RNA,¹²⁻¹⁴ HCV RNA^{5,13-16} a HBV DNA¹⁷⁻²⁰) může dále snížit nebezpečí přenosu těchto agens při darování krve uskutečněném během období tvorby protilátek. Toto časové období bylo stanoveno v průměru na 22 dní, avšak u HIV-1 může trvat až 6 měsíců.²¹ Díky zavedení takzvaného mini-pool testování NAT HIV-1, se zjištěné infekční období podstatně zkrátilo a stávajícím rizikem přenosu HIV-1 je ohroženo 1 ze 2 miliónu odběrů.¹³⁻¹⁵ Stejně tak se zavedením testování HCV RNA NAT snížilo období s negativními protilátkami přibližně o 60 dní,¹³⁻¹⁶ což znamená, že je možné riziko asi u 1 – 2 případů z 1 miliónu odběrů. Skrínung HBV DNA NAT se používá ve stále větší míře. Studie ze zemí s nízkou, střední a vysokou prevalencí HBV přinesly výsledky NAT z období darování krve před sérokonverzí a dárců s pozdní fází infekce HBV a díky tomu snížený počet případů přenosu HBV při transfuzi.^{15,19,20,22,23}

Pro zlepšení účinnosti testování většího množství cílů byla vyvinuta multiplexní (MPX) polymerázová řetězová reakce (PCR) pro současné zjišťování více virů. Při MPX PCR je amplifikována a detekována více než jedna cílová sekvence pomocí vícenásobných párů primerů a sond v jedné reakční zkumavce.

Test **cobas**[®] TaqScreen MPX je kvalitativní multiplexní test, který umožňuje skrínung a současnou detekci HIV-1 RNA skupin M a O, HIV-2 RNA, HCV RNA a HBV DNA v infikovaných smíchaných a jednotlivých dárcovských vzorcích plazmy. Test **cobas**[®] TaqScreen MPX používá obecnou techniku přípravy nukleové kyseliny na zařízení COBAS[®] AmpliPrep. HIV-1 RNA skupin M a O, HIV-2 RNA, HCV RNA a HBV DNA jsou amplifikovány a detekovány pomocí automatizované, v reálném čase probíhající polymerázové řetězové reakce (PCR) na analyzátoru COBAS[®] TaqMan[®]. Test zahrnuje vnitřní kontrolu pro monitorování výkonnosti testu při každém jednotlivém testu, a také enzym AmpErase (uracil-N-glykosylázu) k omezení potenciální kontaminace předchozím amplifikovaným materiálem (amplikon). Test **cobas**[®] TaqScreen MPX nerozlišuje, který virus byl ve vzorku zjištěn. Pro rozlišovací testování HIV-1 skupiny M, HCV a HBV jsou k dispozici testy COBAS[®] AmpliScreen HIV-1, v1.5, COBAS[®] AmpliScreen HCV, v2.0 a COBAS[®] AmpliScreen HBV. Rozlišovací testy pro HIV-1 skupiny O a HIV-2 společnost Roche nenabízí.

PRINCIPY POSTUPU

Test **cobas**[®] TaqScreen MPX použitý na systému **cobas s** 201 je založen na 4 hlavních procesech:

1. Automatická tvorba směsí vzorků a kontrolované pipetování pomocí pipetoru Hamilton MICROLAB[®] STAR/STARlet IVD.
2. Automatická příprava vzorků pomocí zařízení COBAS[®] AmpliPrep.
3. Automatická amplifikace nukleové kyseliny a automatická detekce PCR produktů v reálném čase pomocí analyzátoru COBAS[®] TaqMan[®].
4. Automatické řízení dat pomocí softwaru pro tvorbu směsí a řízení dat (PDM).

Automatická tvorba směsí vzorků a pipetování pomocí pipetoru Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD

Pipetor Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD automatizuje pipetování vzorků jednotlivých dárců, smíchávání vzorků více dárců, přenos alikvotních podílů na destičky s hlubokými jamkami (volitelně) a pipetování kontrol testů. Systém **cobas s** 201 dokáže rozlišit reaktivní směsi na jednotlivé složky vzorků. Systém **cobas s** 201 je navržen pro dávkové zpracování vzorků. Dávka je definována jako soubor vzorků a kontrol, které jsou společně pipetovány, extrahovány, amplifikovány a detekovány. Jakmile pipetor Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD dokončí pipetování dávky, celý stojan se vzorky je přenesen do zařízení COBAS[®] AmpliPrep k dalšímu kroku zpracování.

Pozn.: Při testování kadaverózních vzorků by vzorek měl nejdříve být zředěn v poměru 1:5 v přípravku **cobas[®] TaqScreen Cadaveric Specimen Diluent [CADV SPEC DIL] před pipetováním pomocí pipetoru Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD.**

Automatická příprava vzorků pomocí zařízení COBAS® AmpliPrep

Nukleové kyseliny cílových virů a přidané molekuly Armored RNA vnitřní kontroly (IC) (které slouží jako procesní kontrola přípravy vzorku a amplifikace / detekce) jsou zpracovány zároveň. Multiplexní test **cobas**® TaqScreen MPX obsahuje činidla, která provádí pět sekvenčních kroků na zařízení COBAS® AmpliPrep. Roztok proteázy rozpouští proteiny k podnícení štěpení, deaktivuje nukleázy a usnadňuje uvolnění RNA a DNA z virových částic. Přidáním činidla pro lýzu ke vzorku má za následek štěpení virů a aktivaci nukleázy díky denaturaci proteinů. Dochází k uvolňování RNA a DNA a zároveň ochraně před nukleázami. Uvolněné nukleové kyseliny se váží na rosolový povrch přidaných magnetických skleněných částic. To se děje hlavně díky čistému kladnému náboji na povrchu skleněných částic a čistého záporného náboje nukleových kyselin za koncentrace chaotropní soli a iontové síly štěpicí reakce. Promývací činidlo odstraňuje nenavázané látky a nečistoty, jako jsou denaturované bílkoviny, buněčný odpad a potenciální PCR inhibitory (například hemoglobin, atd.) a snižuje koncentraci soli. Vyčištěné nukleové kyseliny se uvolní z magnetických skleněných částic při zvýšené teplotě elučním puřem.

Automatická amplifikace nukleové kyseliny pomocí analyzátoru COBAS® TaqMan®

Po izolaci vyčištěných nukleových kyselin z lidské plazmy během automatické přípravy vzorku se používá **cobas**® TaqScreen MPX Master Mix (MMX) pro amplifikaci a detekci HIV-1 (skupin M a O), HIV-2 a HCV RNA, HBV DNA a IC RNA. Po aktivaci umožňuje **cobas**® TaqScreen MPX Master Mix reverzní transkripci (pro cílové RNA) přidavkem octanu manganatého, po které následuje PCR amplifikace vysoce chráněných oblastí HIV-1 (skupiny M a O), HIV-2 a HCV RNA, HBV DNA a IC RNA pomocí specifických primerů. Souběžná detekce amplifikované nukleové kyseliny je prováděna vytvářením fluorescentních signálů z 5'-nukleolytické degradace HIV-1 (skupin M a O), HIV-2, HCV, HBV a IC-specifických sond, které jsou také obsaženy v Master Mixu. Používají se dvě oznamovací fluorescenční barviva: jedno barvivo označuje IC sondu a druhé barvivo všechny cílové specifické sondy, což umožňuje kombinovanou multiplexní identifikaci virových cílů a samostatnou identifikaci IC.

Reverzní transkripce a PCR amplifikace

Reverzní transkripce a amplifikace se provádí pomocí termostabilního rekombinantního enzymu, Z05 DNA Polymerázy. Za přítomnosti manganu (Mn^{2+}), vykazuje Z05 DNA Polymeráza reverzní transkriptázu a polymerázové aktivity DNA. Díky tomu může reverzní transkripce a PCR amplifikace probíhat v téže reakční směsi.

PCR amplifikace je prováděna pomocí Z05 DNA Polymerázy, která prodlužuje navázané primery podél cílových templátů a vytváří dvouřetězcovou DNA (amplikon). Tento proces se několikrát opakuje a v každém cyklu se zdvojnásobuje množství amplikonové DNA. Amplifikace probíhá pouze v oblasti cílových genomů mezi primery; všechny genomy amplifikovány nejsou.

Selektivní amplifikace

Selektivní amplifikace cílové nukleové kyseliny ze vzorku se dosahuje v testu **cobas**® TaqScreen MPX použitím enzymu AmpErase (uracil-N-glykosylázy) a deoxyuridin-trifosfátu (dUTP). Enzym AmpErase (uracil-N-glykosyláza) rozpozná a katalyzuje rozklad řetězců DNA obsahujících deoxyuridin²⁴, ale nikoliv DNA obsahující deoxythymidin nebo RNA obsahující ribouridin^{25,26}. Deoxyuridin se v přírodní DNA nevyskytuje, ale v amplikonu je vždy přítomen vzhledem k tomu, že se v Master Mixu používá jako jeden dNTP deoxyuridintrifosfát s thymidintrifosfátem. Proto pouze amplikon obsahuje deoxyuridin. V důsledku přítomnosti deoxyuridinu je kontaminovaný amplikon citlivý vůči destrukci enzymem AmpErase (uracil-N-glykosylázou) před amplifikací cílové DNA. Jakýkoliv nespecifický produkt vytvořený po iniciální aktivaci Master Mix manganem je zničen enzymem AmpErase (uracil-N-glykosylázou). Enzym AmpErase (uracil-N-glykosyláza), který je obsažen v činidle Master Mix, katalyzuje rozštěpení DNA obsahující deoxyuridin v místě deoxyuridinového zbytku rozevřením deoxyribozového řetězce v pozici C1. Když je řetězec amplikonové DNA v prvním tepelně cyklizačním kroku zahříván, štěpí se v poloze deoxyuridinu, čímž se DNA stává neamplifikovatelnou. Enzym AmpErase (uracil-N-glykosyláza) zůstává neaktivní po delší dobu, jakmile je vystaven teplotám nad 55 °C, a proto nerozkládá cílový amplikon vzniklý po PCR reakci.

Automatická detekce produktů PCR v reálném čase pomocí analyzátoru COBAS® TaqMan®

Během PCR amplifikace dochází při středně vysoké teplotě cyklování k denaturaci cílového a IC amplikonu a vzniká jednořetězcová DNA. Specifická detekce oligonukleotidových sond hybridizuje na jednořetězcovou formu amplifikované DNA. Amplifikace, hybridizace a detekce probíhají současně.

Detekce produktů PCR^{27,28}

cobas[®] TaqScreen MPX MMX obsahuje detekční sondy, které jsou specifické pro nukleovou kyselinu HIV-1 (skupiny M a O), HIV-2, HCV, HBV nebo IC. Každá detekční sonda je označena 1) jedním nebo dvěma oznamovacími fluorescenčními barvivy a 2) dalším barvivem, které je tlumicí. Jedno specifické oznamovací barvivo je spojeno se specifickými virovými sondami a je měřeno při stanovené vlnové délce. Druhé odlišné oznamovací barvivo je spojeno se specifickou sondou vnitřní kontroly (IC) a je měřeno při odlišné vlnové délce. Ve všech sondách se používá jeden typ tlumicího barviva. Tento systém umožňuje detekci všech cílových amplifikovaných virů při jedné vlnové délce a současnou detekci amplifikované IC nukleové kyseliny při jiné vlnové délce.

Před začátkem PCR amplifikace jsou sondy intaktní a oznamovací fluorescenční barvivo je potlačeno tlumicím barvivem kvůli Försterova přenosu energie. Během PCR amplifikace sonda hybridizuje na specifické jednořetězcové řetězce DNA a ve stejnou chvíli, kdy nastává amplifikace, jsou rozštěpeny 5' až 3' nukleázovou aktivitou Z05 DNA polymerázy. Jakmile jsou oznamovací a tlumicí barviva tímto štěpením oddělena, dojde k odmaskování fluorescenční aktivity oznamovacího barviva. U každého PCR cyklu jsou generovány zvýšená množství rozštěpených sond a kumulativní signál oznamovacího barviva se postupně zvyšuje.

Detekce PCR produktů v reálném čase je prováděna měřením fluorescence uvolněných oznamovacích barviv, které představují virové cíle a nezávisle IC.

Automatické řízení dat pomocí PDM

Roche PDM Data Manager umožňuje uživateli prohlížet a vytvářet hlášení výsledků. Roche PDM Data Manager označuje výsledky testů všech analýz jako nereaktivní, reaktivní nebo neplatné. Kromě vybírání a prohlížení výsledků PCR umožňuje software Roche PDM obsluze tisknout zprávy, hledat výsledky, přijímat výsledky dárců a volitelně odesílat výsledky do LIS.

MATERIÁLY POSKYTOVANÉ SPOLEČNOSTÍ ROCHE

Pro detekci HIV-1 (skupin M a O), HIV-2 a HCV RNA a HBV DNA ve vzorcích plazmy jsou zapotřebí a dodávány tři sady: 1) **cobas**[®] TaqScreen MPX Test (multiplexní test), 2) **cobas**[®] TaqScreen MPX Control Kit, (kontrolní sada), a 3) **cobas**[®] TaqScreen Wash Reagent (promývací činidlo). Bezpečnostní listy pro materiály (MSDS) zašle na vyžádání Vaše místní pobočka společnosti Roche.

cobas[®] TaqScreen MPX Test
(P/N: 04584244 190)

MPX

96 testů

MPX CS1

(MPX kazeta s činidly pro magnetické skleněné částice)

MPX CS2

(MPX kazeta s lytickým činidlem)

MPX CS3

(MPX multičinidlová kazeta)

MPX CS4

(kazeta s činidly specifickými pro test MPX)

cobas[®] TaqScreen MPX Control Kit
Kontrolní souprava pro **cobas**[®] TaqScreen MPX
(P/N: 04626290 190)

MPX CTL

6 sad

HIV-1 M (+) C

(HIV-1 M pozitivní kontrola)

HIV-1 O (+) C

(HIV-1 O pozitivní kontrola)

HIV-2 (+) C

(HIV-2 pozitivní kontrola)

HCV (+) C

(HCV pozitivní kontrola)

HBV (+) C
(HBV pozitivní kontrola)

TS (-) C
[cobas[®] TaqScreen negativní kontrola (lidská plazma)]

cobas[®] TaqScreen Wash Reagent
Promývací činidlo cobas[®] TaqScreen
(P/N: 04404220 190)

TS WR

5,1 l

TS WR
(Promývací činidlo cobas[®] TaqScreen)

POZN.: Ke zjištění HIV-1 skupiny M RNA, HIV-1 skupiny O RNA, HIV-2 RNA, HCV RNA a HBV DNA v kadaverózních vzorcích je kromě výše zmíněných souprav nutná a dodávána tato souprava: cobas[®] TaqScreen Cadaveric Specimen Diluent.

cobas[®] TaqScreen Cadaveric Specimen Diluent Kit
Souprava pro ředění kadaverózních
vzorků cobas[®] TaqScreen
(P/N: 05002125 190)

CADV SPEC DIL

96 testů

CADV SPEC DIL
(Souprava pro ředění kadaverózních vzorků cobas[®] TaqScreen)

DALŠÍ POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ JE VŠAK PRODÁVÁN SAMOSTATNĚ (MOHOU BÝT ZAKOUPENY OD SPOLEČNOSTI ROCHE)

Tento test musí být prováděn na systému **cobas s 201**. Systém **cobas s 201** musí být instalován a používán jako úplná konfigurace systému. Jednotlivé součásti systému **cobas s 201** nemohou být používány jako samostatné přístroje ani nesmí být nahrazeny jinými komponenty. Systém **cobas s 201** využívá níže uvedené součásti:

Vybavení a software systému cobas s 201

- Pipetor Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD, pracovní stanice a software Pooling Manager
- Zařízení COBAS[®] AmpliPrep
- Analyzátor COBAS[®] TaqMan[®]
- Datová stanice a software AMPLILINK
- Roche PDM Data Manager Server, pracovní stanice a software Data Manager

Stojany a spotřební materiál

- Stojany na vzorky COBAS[®] AmpliPrep (SK24) (P/N: 28122172001)
- Stojany SPU COBAS[®] AmpliPrep (P/N: 05471664001)
- Stojany na činidla COBAS[®] AmpliPrep (P/N: 28122199001)
- Jednotky pro zpracování vzorku (SPU): (P/N: 03755525001)
- Vstupní zkumavky pro vzorky (S-zkumavky) s klipy s čárovým kódem (P/N: 03137040001)
- Stojany s K-špičkami (P/N: 03287343001)
- Box s K-zkumavkami v počtu 12 x 96 (P/N: 03137082001)
- K-nosič COBAS[®] TaqMan[®] (P/N: 28150397001)
- Vysokoobjemové špičky CO-RE (1000 µl), filtr (P/N: 04639642001)
- Destičky s hlubokými jamkami se štítky s čárovým kódem (P/N: 04639634001)
- Lepicí fólie pro destičky s hlubokými jamkami (P/N: 04789288001)
- Nosič vzorků pro 24 testovacích zkumavek (P/N: 04639502001)
- Nosič vzorků pro 32 testovacích zkumavek (P/N: 04639529001)
- Nosič špiček (P/N: 04639545001)

- Nosič destiček pro destičky s hlubokými jamkami (P/N: 04639553001)
- Nosič stojanů SK24 (P/N: 04639600001)
- Dezinfekční sprej Microcide SQ™ nebo HAMILTON (P/N: 04864425001)
- Rukavice na jedno použití bez pudru

ČINIDLA

cobas® TaqScreen MPX Test
(P/N: 04584244 190)

MPX

96 testů

MPX CS1

2 x 48 testů

MGP

2 x 7,0 ml

(Magnetické skleněné částice)
Magnetické skleněné částice
93 % Isopropanol

Xi 93 % (hm.) Isopropanol



Dráždivý

F 93 % (hm.) Isopropanol



Vysoce hořlavý

MPX CS2

2 x 48 testů

LYS

2 x 78 ml

(Lyzační činidlo)
Dihydrát citrátu sodného
42,5 % Guanidinthiokyanát
< 14 % Polydokanol
0,9 % Dithiothreitol

Xn 42,5 % (hm.) Guanidinthiokyanát



Zdraví škodlivý

MPX CS3

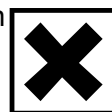
2 x 48 testů

Pase
(Roztok proteinázy)

2 x 3,8 ml

TRIS pufr
< 0,05 % EDTA
Chlorid vápenatý
Octan vápenatý
≤ 7,8 % Proteináza
Glycerol

Xn ≤ 7,8 % (hm.) Proteináza



Zdraví škodlivý

EB

2 x 7,0 ml

(Eluční pufr)
TRIS pufr
0,2 % Methylparaben jako konzervant

MPX CS4**2 x 48 testů****MPX MMX-R1**

2 x 3,0 ml

(Činidlo MPX Master Mix 1)

Tris pufr
Octan draselný
Glycerol
Octan manganatý
Betain
0,08 % azid sodný

MPX MMX-R2

2 x 2,5 ml

(Činidlo MPX Master Mix 2)

Tricinový pufr
Chlorid draselný
Hydroxid draselný
< 21 % dimethyl sulfoxid
Glycerol
EDTA
Tween 20
Igepal CA630
< 0,09 % dATP, dGTP, dCTP, dUTP, dTTP
< 0,01 % Upstream a downstream primery HIV-1 skupiny M,
HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV, HBV
< 0,01 % fluorescenčně označené sondy HIV-1, HIV-2, HCV, HBV
< 0,01 % fluorescenčně označená sonda vnitřní kontroly
< 0,01 % oligonukleotidový aptamer
< 0,07 % Z05 DNA polymeráza (mikrobiální)
< 0,4 % enzym AmpErase (uracil-N-glykosyláza) (mikrobiální)
0,08 % azid sodný

MPX IC

2 x 15 ml

(Vnitřní kontrola MPX)

TRIS pufr
≤ 0,002 % Poly rA RNA (syntetická)
EDTA
0,05 % azid sodný
< 0,001 % neinfekční, syntetická RNA vnitřní kontroly
zapouzdřená v bílkovině s bakteriofágním obalem MS2

cobas[®] TaqScreen MPX Control Kit**MPX CTL****6 sad**


Kontrolní souprava pro cobas[®] TaqScreen MPX
(P/N: 04626290 190)

HIV-1 M (+) C

6 x 1,6 ml

(HIV-1 M Pozitivní kontrola)

< 0,001 % neinfekční, syntetická HIV-1 RNA skupiny M
zapouzdřená v bílkovině s bakteriofágním obalem MS2
Negativní lidská plazma, nereaktivní podle testů na protilátky proti
HCV, protilátky proti HIV-1/2 a HBsAg; HIV-1 RNA, HIV-2 RNA,
HCV RNA a HBV DNA nedetekovatelné PCR metodami.
0,1 % konzervantu ProClin[®] 300

Xi  směs (3:1) 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-onu
a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu.

Dráždivý

R36/38: Dráždí oči a kůži.


R43: Může způsobit přecitlivělost při kontaktu s kůží.

HIV-1 O (+) C

6 x 1,6 ml

(HIV-1 O Pozitivní kontrola)

< 0,001 % neinfekční, syntetická HIV-1 RNA skupiny O
zapouzdřená v bílkovině s bakteriofágním obalem MS2
Negativní lidská plazma, nereaktivní podle testů na protilátky proti
HCV, protilátky proti HIV-1/2 a HBsAg; HIV-1 RNA, HIV-2 RNA,
HCV RNA a HBV DNA nedetekovatelné PCR metodami.
0,1 % konzervantu ProClin® 300

Xi  směs (3:1) 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-onu
a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu.

Dráždivý

R36/38: Dráždí oči a kůži.


R43: Může způsobit přecitlivělost při kontaktu s kůží.

HIV-2 (+) C

6 x 1,6 ml

(HIV-2 Pozitivní kontrola)

< 0,001 % neinfekční, syntetická HIV-2 RNA zapouzdřená
v bílkovině s bakteriofágním obalem MS2.
Negativní lidská plazma, nereaktivní podle testů na protilátky proti
HCV, protilátky proti HIV-1/2 a HBsAg; HIV-1 RNA, HIV-2 RNA,
HCV RNA a HBV DNA nedetekovatelné PCR metodami.
0,1 % konzervantu ProClin® 300

Xi  směs (3:1) 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-onu
a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu.

Dráždivý

R36/38: Dráždí oči a kůži.


R43: Může způsobit přecitlivělost při kontaktu s kůží.

HCV (+) C

6 x 1,6 ml

(HCV Pozitivní kontrola)

< 0,001 % neinfekční, syntetická HCV RNA zapouzdřená
v bílkovině s bakteriofágním obalem MS2.
Negativní lidská plazma, nereaktivní podle testů na protilátky proti
HCV, protilátky proti HIV-1/2 a HBsAg; HIV-1 RNA, HIV-2 RNA,
HCV RNA a HBV DNA nedetekovatelné PCR metodami.
0,1 % konzervantu ProClin® 300

Xi  směs (3:1) 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-onu
a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu.

Dráždivý

R36/38: Dráždí oči a kůži.


R43: Může způsobit přecitlivělost při kontaktu s kůží.

HBV (+) C

6 x 1,6 ml

(HBV Pozitivní kontrola)

0,001 % neinfekční, syntetická HBV DNA zapouzdřená
v bílkovině s bakteriofágním obalem Lambda.
Negativní lidská plazma, nereaktivní podle testů na protilátky proti
HCV, protilátky proti HIV-1/2 a HBsAg; HIV-1 RNA, HIV-2 RNA,
HCV RNA a HBV DNA nedetekovatelné PCR metodami.
0,1 % konzervantu ProClin® 300

Xi  směs (3:1) 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-onu
a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu.

Dráždivý

R36/38: Dráždí oči a kůži.

R43: Může způsobit přecitlivělost při kontaktu s kůží.


TS (-) C

6 x 1,6 ml

[Negativní kontrola **cobas**[®] TaqScreen (Lidská plazma)]

Negativní lidská plazma, nereaktivní podle licenčních testů na protilátky proti HCV, protilátky proti HIV-1/2 a HBsAg; HIV-1 RNA, HIV-2 RNA, HCV RNA a HBV DNA nedetekovatelné PCR metodami.

0,1 % konzervantu ProClin[®] 300

Xi  směs (3:1) 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-onu a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu.

Dráždivý

R36/38: Dráždí oči a kůži.

R43: Může způsobit precitlivělost při kontaktu s kůží.

cobas[®] TaqScreen Wash Reagent
Promývací činidlo **cobas**[®] TaqScreen
(P/N: 04404220 190)

TS WR

5,1 l

TS WR(Promývací činidlo **cobas**[®] TaqScreen)

Dihydrát citrátu sodného

0,1 % Methylparaben jako konzervant

cobas[®] TaqScreen Cadaveric Specimen Diluent Kit
Souprava pro ředění kadaverózních vzorků **cobas**[®] TaqScreen
(P/N: 05002125 190)

CADV SPEC DIL

96 testů

CADV SPEC DIL(Souprava pro ředění kadaverózních vzorků **cobas**[®] TaqScreen)
EDTA

4 x 100 ml

POŽADAVKY NA SKLADOVÁNÍ A MANIPULACI

- Pokožová teplota je definována jako 15 až 30 °C.
- Činidla ani kontroly nezmrazujte.
- MPX CS1, MPX CS2, MPX CS3** a **MPX CS4** uchovávejte při teplotě 2 až 8 °C. Pokud jsou nepoužitá, jsou tato činidla stabilní až do vyznačeného data expirace.
- Po prvním použití jsou při teplotě 2 až 8 °C stabilní ještě 30 dní nebo do data expirace, je-li tato doba kratší.
- Činidla mohou být použita až pro 6 cyklů na přístroji, do maximálního počtu 40 hodin použití na přístroji COBAS[®] AmpliPrep. Činidla musí být mezi jednotlivými použitími uchována při teplotě 2 až 8 °C. Software AMPLILINK monitoruje celkovou dobu vložení kazet s činidly v přístroji COBAS[®] AmpliPrep a po celkově 40 hodinách použití kazety zablokuje.
- Činidla jsou stabilní po dobu 24 hodin nepřetržitého použití na zařízení COBAS[®] AmpliPrep. Software AMPLILINK nemonitoruje nepřetržité použití kazet s činidly v přístroji COBAS[®] AmpliPrep, ani počet cyklů s kazetami v přístroji. Je odpovědností uživatele zlikvidovat kazety s činidly po 24 hodinách nepřetržitého používání nebo po 6 cyklech na přístroji.
- Skladujte **HIV-1 M (+) C, HIV-1 O (+) C, HIV-2 (+) C, HCV (+) C, HBV (+) C** a **TS (-) C** při teplotě 2 až 8 °C. Kontroly jsou stabilní do vyznačeného data expirace. Po otevření je nutné nespotřebovanou část zlikvidovat.
- Skladujte **TS WR** při teplotách 15 – 30 °C. Neotevřený **TS WR** je stálý až do vypršení vyznačené doby expirace. Po otevření je toto činidlo stálé po dobu 30 dní při teplotě 15 – 30 °C nebo do data expirace, je-li tato doba kratší.
- Skladujte **CADV SPEC DIL** při teplotě 15 až 30 °C. Ředící roztok je stálý do vyznačeného data expirace. Po otevření je třeba jakoukoliv nespotřebovanou část ředícího roztoku v nádobě zlikvidovat.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

PRO ÚČELY DIAGNOSTIKY *IN VITRO*.

- A. Vzorky mohou být infekční. Při provádění analýzy dodržujte obecná bezpečnostní opatření.^{29,30} Tuto proceduru smí provádět pouze personál vyškolený pro použití testu **cobas[®] TaqScreen MPX** a pro zacházení s infekčním materiálem. Všechny pracovní plochy důkladně očistěte a vydezinfikujte čerstvě připraveným 0,5 % roztokem chlornanu sodného v destilované nebo deionizované vodě (zředěný bělicí prostředek). Dále povrch otřete 70 % etanolem.
- B. **POZOR: HIV-1 M (+) C, HIV-1 O (+) C, HIV-2 (+) C, HCV (+) C, HBV (+) C a TS (-) C obsahují lidskou plazmu derivovanou z lidské krve. Zdrojový materiál byl testován a zjištěn jako nereaktivní na přítomnost protilátek proti HIV-1/2, protilátek proti HCV a HBsAg. Zdrojový materiál byl také testován pomocí multiplexního testu cobas[®] TaqScreen MPX. Testování negativní lidské plazmy metodami PCR neprokázalo žádné detekovatelné HIV-1 (skupin M a O) RNA, HIV-2 RNA, HCV RNA ani HBV DNA. Nicméně žádná známá testovací metoda nepředstavuje dokonalou záruku, že se s deriváty z lidské krve neprenesou nějaká infekční agens. Veškeré materiály pocházející z krve by měly být považovány za potenciálně infekční a musí se s nimi zacházet dle všeobecných bezpečnostních opatření.** Pokud dojde k rozlítí vzorku, ihned místo dezinfikujte čerstvě připraveným roztokem 0,5 % chlornanu sodného (zředěné bělidlo) nebo postupujte dle vlastních vhodných procedur laboratoře.
- C. Používejte běžná laboratorní bezpečnostní opatření. Nepipetujte ústy. V pracovních laboratorních prostorách nejezte, nepijte a nekuřte. Při práci se vzorky a sadami činidel používejte rukavice na jedno použití, pracovní oděv a ochranné brýle. Po práci se vzorky a činidly si důkladně umyjte ruce.
- D. **MPX MMX-R1, MPX MMX-R2 a MPX IC** obsahují azid sodný jako konzervant. Pro přenos činidel nepoužívejte kovové vedení. Pokud mají být roztoky obsahující azid vylity do odpadního systému, musí být zředěny a spláchnuty větším množstvím tekoucí vody. Tato bezpečnostní opatření jsou doporučena aby nedocházelo k nashromáždění usazenin v kovovém potrubí, kde by se mohly vyvinout výbušné podmínky.
- E. **U Heparinu se zjistilo, že inhibuje PCR. U této procedury nepoužívejte heparinovanou plazmu.**
- F. Doporučuje se používat sterilní pipety na jedno použití a špičky na pipety bez nukleázy. Pokud se během zacházení se vzorkem a zpracování nezabrání křížové kontaminaci vzorků, mohou vzniknout falešně pozitivní výsledky.
- G. Pro zajištění optimální účinnosti testu používejte pouze spotřební materiál, který je součástí dodávky, nebo dále specifikovaný požadovaný materiál.
- H. S veškerým materiálem obsahujícím vzorky nebo kontroly zacházejte dle zásad správné laboratorní praxe, aby se zabránilo křížové kontaminaci vzorků nebo kontrol.
- I. Před použitím vizuálně zkontrolujte každou kazetu s činidly, kontrolní zkumavku a promývací činidlo, zda nejeví žádné známky netěsnosti. Pokud známky netěsnosti vykazuje, nepoužívejte tento materiál k testování.
- J. Všechny materiál, který se dostal do kontaktu se vzorky a činidly, zlikvidujte dle celostátních, respektive místních předpisů.
- K. Nepoužívejte testovací soupravu **cobas[®] TaqScreen MPX**, kontrolní soupravu **cobas[®] TaqScreen MPX**, promývací činidlo **cobas[®] TaqScreen** nebo soupravu pro ředění kadaverózních vzorků **cobas[®] TaqScreen** po jejich datu expirace. Nezaměňujte, nemíchejte ani nekombinujte činidla z různých souprav nebo šarží. Neplňte smíchané šarže činidel do zařízení **COBAS[®] AmpliPrep**.
- L. Bezpečnostní listy pro materiály (MSDS) zašle na vyžádání Vaše místní pobočka společnosti Roche.
- M. Vyhněte se kontaktu činidel s pokožkou, očima nebo sliznicemi. **Pokud dojde ke kontaktu, okamžitě postíženou oblast omyjte velkým množstvím vody, jinak může dojít k popáleninám.** Pokud se činidlo rozlije, zředte ho před vytřením dosucha vodou. **Nenechte LYS obsahující guanidinthiokyanát, přijít do styku s roztokem chlornanu sodného (bělicím prostředkem). Tato směs vytváří vysoce toxický plyn.**
- N. Pečlivě dodržujte uvedené postupy a předpisy, aby se zajistilo správné provedení testů. Jakákoliv odchylka od postupů a předpisů může negativně ovlivnit optimální účinnost testu.
- O. Mělo by se předcházet použití nadměrně hemolýzovaných vzorků od žijících pacientů.

- P. Kontaminace vzorků plazmy červenými krvinkami (> 2,5 %) může inhibovat test **cobas**[®] TaqScreen MPX.
- Q. Nepoužívejte žádnou součást s poškozenými štítky s čárovými kódy v žádné fázi testování.
- R. Při testování vzorků z mrtvých dárců vzorky vykazující slámovou až růžovou barvu jsou klasifikovány jako středně hemolýzované a vzorky vykazující červenou až tmavě červenou nebo hnědou barvu jsou klasifikovány jako silně hemolýzované vzorky.

PŘÍPRAVA KONTROL A ČINIDEL

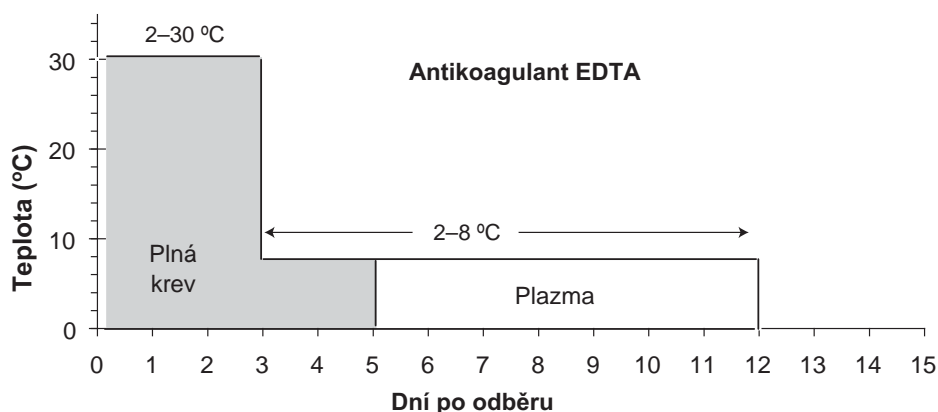
- A. Před vložením kontrolní soupravy **cobas**[®] TaqScreen MPX do pipetoru Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD ponechte soupravu zahřát 30 minut při pokojové teplotě pro vyrovnání teplot. 30 minut před použitím ponechte testovací činidla **cobas**[®] TaqScreen MPX v přístroji COBAS[®] AmpliPrep zahřát na pokojovou teplotu.

ODBĚR, SKLADOVÁNÍ A VYTVÁŘENÍ SMĚSÍ VZORKŮ

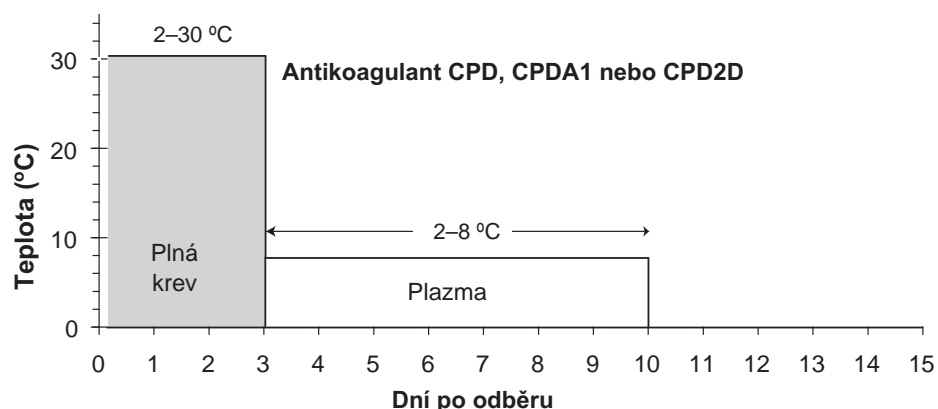
Pozn.: Se všemi vzorky je třeba zacházet jako s infekčními.

Vzorky žijících dárců

- A. Pro test **cobas**[®] TaqScreen MPX mohou být použity vzorky plazmy odebrané s použitím EDTA, CPD, CPDA1, CP2D, ACDA a 4 % citrátu sodného. Postupujte dle pokynů výrobce vzorkové zkumavky.
- B. Krev odebranou s použitím EDTA je možné před oddělením plazmy skladovat až 72 hodin při teplotě 2 – 30 °C a poté až 48 hodin při teplotě 2 – 8 °C. Pro skladování delší pěti dnů oddělte plazmu od červených krvinek odstředěním při 800-1600 x g po dobu 20 minut. Po oddělení lze plazmu skladovat při teplotě 2 – 8 °C až sedm dní a poté až 30 dní při ≤ -18 °C. EDTA plazmu lze zmrazit a rozmrazit maximálně třikrát (3x).



- C. Krev odebraná s použitím CPD, CPDA1 nebo CP2D může být před oddělením plazmy skladována až 72 hodin při teplotě 2 – 30 °C. Pro skladování delší než 72 hodin oddělte plazmu od červených krvinek odstředěním při 800-1600 x g po dobu 20 minut. Po oddělení lze plazmu skladovat při teplotě 2 – 8 °C až sedm dní a poté až 30 dní při ≤ -18°C. CPD, CPDA1 a CP2D plazma může být zmrazena a rozmazena maximálně třikrát (3).



- D. Aferéza plazmy s použitím ACDA nebo 4 % citrátu sodného může být uchována až 72 hodin od doby odběru při teplotě 2 – 30 °C. Aferéza plazmy může být skladována až 30 dní při teplotě ≤ -18 °C.
- E. Následující směrnice pro objem plazmy jsou založeny na pipetování ze skleněných nebo plastových dárcovských zkumavek 13 x 100 mm na pipetoru Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD. Uvedené objemy jsou určeny pro plazmu na povrchu zhuštěných červených krvinek a pro použití při testu **cobas**[®] TaqScreen MPX.

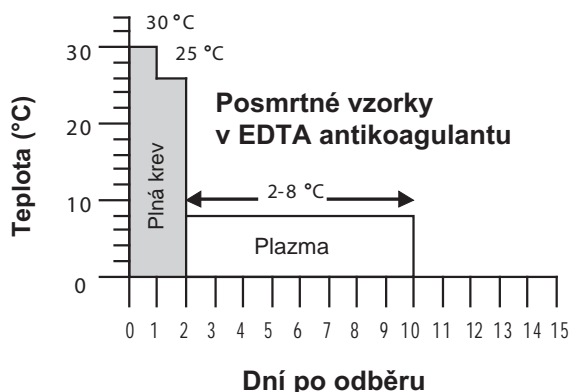
Typ směsi	Minimální objem plazmy
Primární směs*	3 ml
Opakovaná směs	1,5 ml
Rozlišovací směs	2 ml

*Zahrnuje vytvoření destičky s hlubokými jamkami (archivní destičky)

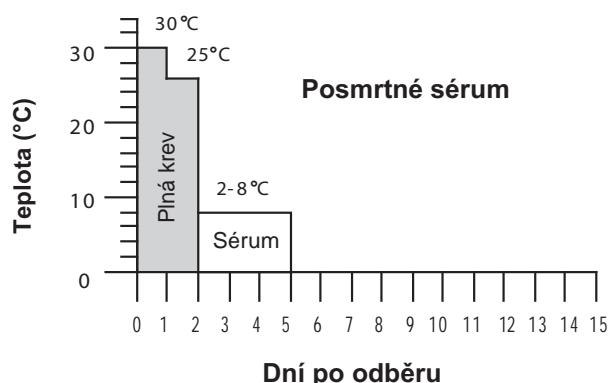
- F. **Plnou krev nezmrazujte.**
- G. **U Heparinu se zjistilo, že inhibuje PCR. Použití heparinovaných vzorků se nedoporučuje.**
- H. Zakryté destičky s hlubokými jamkami mohou být uskladněny při teplotě 2 – 8 °C po dobu až sedmi dní od separace plazmy od červených krvinek. Alternativně je plazmu možno skladovat při teplotě ≤ -18°C až 7 dní.
- I. Po trojnásobném zmrazení a rozmrazení vzorků plazmy nebyly pozorovány žádné nepříznivé účinky na výsledek testu.
- J. Před použitím ponechte smíchané nebo jednotlivé vzorky dárců zahřát na pokojovou teplotu.
- K. Uživatel musí ověřit další podmínky odběru a skladování. Pokud mají být vzorky přepravovány, musí být zabaleny a označeny dle platných státních a mezinárodních předpisů o přepravě vzorků a etiologických agens.³¹
- L. **Falešně pozitivní výsledky mohou nastat pokud vzorky nebudou patřičně kontrolovány během manipulace a zpracování vzorků.**

Kadaverózní vzorky

- A. Při testování vzorků z mrtvých dárců jsou vzorky vykazující slámovou až růžovou barvu klasifikovány jako středně hemolýzované a vzorky vykazující červenou až tmavě červenou nebo hnědou barvu jsou klasifikovány jako silně hemolýzované vzorky.
- B. Kadaverózní krevní vzorky odebrané do zkumavek s antikoagulantem EDTA nebo do séra lze testovat pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX. Postupujte dle pokynů výrobce vzorkové zkumavky. Zvýšené teploty ovlivňují stabilitu vzorků.
- C. Kadaverózní krev odebranou s použitím EDTA antikoagulantu je možné před oddělením plazmy skladovat až 24 hodin při teplotě 2 – 30 °C a poté až 24 hodin při 2 – 25 °C. Pro skladování delší dobu oddělte plazmu od červených krvinek odstředěním při 800-1600 x g po dobu 20 minut. Po oddělení lze plazmu uchovávat při teplotě 2 – 8 °C po dalších osm dní. Alternativně je plazmu možno skladovat při teplotě ≤ -18 °C až 30 dní. Kadaverózní EDTA plazmu lze zmrazit a rozmrazit maximálně třikrát (3x).



- D. Kadaverózní krev jako sérum je možné před odstředěním skladovat až 24 hodin při teplotě 2 – 30 °C a poté až 24 hodin při 2 – 25 °C. Pro skladování delší dvou dnů oddělte sérum od sraženin odstředěním při 800-1600 x g po dobu 20 minut. Po oddělení lze sérum uchovávat při teplotě 2 – 8 °C po další tři dny. Alternativně je sérum oddělené od sraženin možno skladovat při teplotě ≤ -18 °C až 15 dní. Kadaverózní vzorky séra lze zmrazit a rozmrazit maximálně třikrát (3x).



- E. Kadaverózní vzorky zředěné 1:5 v přípravku pro ředění kadaverózních vzorků **cobas**® TaqScreen je možné skladovat až 1 den při 2-8 °C a poté po promíchání (pipetováním nahoru a dolů čtyřikrát (4x) v každé zkumavce), testovat pomocí testu **cobas**® TaqScreen MPX.
- F. Pokud mají být vzorky přepravovány, musí být zabaleny a označeny dle platných státních a mezinárodních předpisů o přepravě vzorků a etiologických agens.³¹
- G. **Falešně pozitivní výsledky mohou nastat, pokud vzorky nebudou patřičně kontrolovány během manipulace a zpracování vzorků.**

VYTVÁŘENÍ SMĚSÍ A PIPETOVÁNÍ VZORKŮ

- A. Systém **cobas s 201** využívá pro veškeré pipetování a míchání vzorků pipetor Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD. Pipetor Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD provádí skenování čárových kódů a vytváření směsi ze stejných alikvotních částí objemů vzorků a vytváří směsi.
- B. Pokud jsou pomocí testu **cobas**® TaqScreen MPX detekovány reaktivní směsi, použije se pipetor Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD k odpipetování jednotlivých vzorků z destiček s hlubokými jamkami nebo zkumavek s původními vzorky pro potřebu rozlišovacích testů.
- C. V případě plazmy, pokud jsou pomocí testu **cobas**® TaqScreen MPX detekovány reaktivní směsi, použije se pipetor Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD k pipetování jednotlivých vzorků pomocí postupů pro 2D tvorbu směsí nebo pro tvorbu směsí pro ověření, viz *příručka obsluhy pro systém cobas s 201*.

POZNÁMKY K POSTUPU

- A. Vybavení
1. Připravte systém **cobas s 201** k použití podle pokynů v *příručce obsluhy pro systém cobas s 201*.
 2. Proveďte doporučenou údržbu přístroje k zajištění správné funkce.
- B. Činidla
1. 30 minut před použitím je nutné ponechat testovací činidla **cobas**® TaqScreen MPX v zařízení COBAS® AmpliPrep zahřát. Kontrolní souprava **cobas**® TaqScreen MPX a promývací činidlo **cobas**® TaqScreen musí mít před použitím pokojovou teplotu. Skladovací podmínky činidel viz kapitola *Požadavky na skladování a manipulaci*.
 2. Každá souprava testu **cobas**® TaqScreen MPX obsahuje dostatečné množství pro zpracování 96 testů, které se doporučuje provést v dávkách složených až z 24 testů na stojanu SK24. Jeden replikát negativní kontroly a jeden replikát každé pozitivní kontroly musí být zpracován u každé dávky vzorků nebo stojanu SK24. Kontroly se pomocí testu **cobas**® TaqScreen MPX zpracovávají stejně jak při testování vzorků živých dárců, tak i testování kadaverózních vzorků.

3. Každá souprava pro ředění kadaverózních vzorků **cobas**[®] TaqScreen obsahuje dostatečné množství pro zpracování 96 testů, které se doporučuje provést v dávkách složených až z 24 testů na stojanu SK24. Jeden replikát negativní kontroly a jeden replikát každé pozitivní kontroly musí být zpracován u každé dávky vzorků nebo stojanu SK24. Kontroly se pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX zpracovávají stejně jak při testování vzorků živých dárců, tak i testování kadaverózních vzorků.
4. Všechny kontroly jsou pouze na jedno použití.
5. Systém zabrání použití činidel z různých šarží, činidel, které přesáhly povolený počet hodin v přístroji, činidel, jejichž datum expirace vypršelo nebo smíšených kazet ze sady čtyř kazet na systému již dříve použitých. Neplňte smíchané šarže činidel do zařízení COBAS[®] AmpliPrep.

C. Zpracování vzorků

1. Zabraňte kontaminaci rukavic při manipulaci se vzorky a kontrolami.
2. Zvláště dbejte, aby nedošlo ke kontaminaci rukavic vzorky a TS (–) kontroly s pozitivními kontrolami.

D. Rozlišovací testy

1. Žijící dárci: Před provedením rozlišovacích testů musí být vzorky identifikovány v platné směsi a musí mít platné samostatné výsledky za použití testu **cobas**[®] TaqScreen MPX. Tento samostatný reaktivní vzorek může být otestován pomocí rozlišovacích testů COBAS[®] AmpliScreen HBV, COBAS[®] AmpliScreen HCV, v2.0 a COBAS[®] AmpliScreen HIV-1 Test, v1.5. Postupy pro provádění těchto rozlišovacích testů naleznete v příbalových letácích testů COBAS[®] AmpliScreen HBV, COBAS[®] AmpliScreen HCV, v2.0 a COBAS[®] AmpliScreen HIV-1, v1.5. Pro rozlišení mezi HIV-1 skupiny O a HIV-2 mohou být nutné další testy. Společnost Roche nedodává rozlišovací testy pro HIV-1 skupiny O a HIV-2.
2. Zemřelí dárci: Samostatný reaktivní kadaverózní vzorek může být otestován pomocí rozlišovacích testů COBAS[®] AmpliScreen HBV, COBAS[®] AmpliScreen HCV, v2.0 a COBAS[®] AmpliScreen HIV-1, v1.5. Postupy pro provádění těchto rozlišovacích testů s kadaverózními vzorky naleznete v příbalových letácích testů COBAS[®] AmpliScreen HBV, COBAS[®] AmpliScreen HCV, v2.0 a COBAS[®] AmpliScreen HIV-1, v1.5.

NÁVOD K POUŽITÍ

Systém **cobas s** 201 zahrnuje čtyři hlavní procesy: Pipetování vzorků a kontrol na pipetoru Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD, příprava vzorků na zařízení COBAS[®] AmpliPrep pomocí multiplexního testu **cobas**[®] TaqScreen MPX, amplifikace / detekce na analyzátoru COBAS[®] TaqMan[®] a setřídění dat.

Každá souprava **cobas**[®] TaqScreen MPX obsahuje osm kazet: dvě kazety **MPX CS1** s magnetickými skleněnými částicemi, dvě kazety **MPX CS2** s činidlem pro lýzu, dvě kazety **MPX CS3** s proteázou a elučním pufrem a dvě kazety **MPX CS4** s IC, MMX činidly 1 a MMX činidly 2. Tato testovací souprava musí být použita spolu s kontrolní sadou **cobas**[®] TaqScreen MPX a promývacím činidlem **cobas**[®] TaqScreen a pro zpracování vzorků se soupravou pro ředění kadaverózních vzorků **cobas**[®] TaqScreen.

Pozn.: Neotevírejte kazety.

Pozn.: Nesměšujte dohromady činidla z různých šarží, ani z různých lahvíček téže šarže.

Pozn.: Nesměšujte dohromady činidla (včetně kazet) z různých souprav.

Pozn.: Neplňte smíchané šarže činidel do zařízení COBAS[®] AmpliPrep.

Pozn.: Neoddělujte kontrolní zkumavky od nástavců.

Provedte veškerou požadovanou údržbu dle popisu v příručce obsluhy pro systém **cobas s** 201.

Detailní popis použití naleznete v příručce obsluhy pro systém **cobas s** 201.

A. Pipetování kontrol a vzorků pomocí pipetoru Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD

Pozn.: Při manipulaci se vzorky a kontrolami zabraňte kontaminaci rukavic.

Pozn.: Kontroly míchejte opatrným obrácením třikrát; nesmí přitom dojít k vytvoření bublin.

Pozn.: V okamžiku instalace systému cobas s 201 je pro testování kadaverózních vzorků použití destiček s hlubokými jamkami vypnuto.

1. Proveďte spouštěcí procedury pipetoru Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD, poté spusťte průvodce tvorby směsi (poolingu) Roche PDM Pooling Wizard a postupujte dle pokynů na obrazovce.
2. Buďte opatrní, abyste nepoškodili identifikační čárový kód na zkumavkách se vzorky a adaptérech zkumavek s kontrolami. V případě poškození nebude systém schopen rozeznat vzorky nebo kontroly.
3. Otevřete zkumavky s kontrolami a zaveďte vzorky, spotřební materiál a kontroly do pipetoru Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD. Po zavedení vzorků, spotřebního materiálu a kontrol přístroj přenes kontroly a vzorky do S-zkumavek.
4. V případě samostatných kadaverózních vzorků napipetujte 2000 µl **CADV SPEC DIL** do příslušně označených zkumavek 13 x 100 mm, přidejte 500 µl kadaverózního vzorku do každé zkumavky a promíchejte každý vzorek pipetováním nahoru a dolů čtyřikrát (4x). Zaveďte rozředěné kadaverózní vzorky, spotřební materiál a kontroly do pipetoru Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD. Po zavedení rozředěných kadaverózních vzorků, spotřebního materiálu a kontrol přístroj přenes kontroly a rozředěné vzorky do S-zkumavek. Rozředěné kadaverózní vzorky a kontroly MPX jsou v otevřených zkumavkách stabilní až 6 hodin.
5. Po dokončení pipetování zkontrolujte výstrahy a vytiskněte zprávu(y) tvorby směsi. Zkontrolujte směsi a jamky destičky s hlubokými jamkami. Vyřaďte směsi, případně jamky, pokud je zjištěna kontaminace červenými krvinkami nebo pokud nejsou shodné objemy.
6. Uzavřete S-zkumavky a přeneste stojan(y) SK24 na zařízení COBAS® AmpliPrep k extrakci nukleové kyseliny. Po přenesení do S-zkumavek jsou všechny virové cíle a kontroly stabilní v S-zkumavkách 6 hodin.
7. Uzavřete a uskladněte destičky s hlubokými jamkami (pokud byly destičky během pipetování vytvořeny). Všechny virové cíle v destičkách s hlubokými jamkami jsou stabilní 7 dní při teplotě 2-8 °C nebo 7 dní při ≤ -18 °C.
8. Vytáhněte a uskladněte dárcovské zkumavky. Podmínky skladování naleznete v kapitole „Odběr, skladování a vytváření směsi vzorků“.
9. Vytáhněte a uskladněte kontrolní zkumavky. (Všechny kontroly jsou pouze na jedno použití.)

B. Příprava a zavádění činidel testu cobas® TaqScreen MPX

Pozn.: *Buďte opatrní, abyste nepoškodili štítky kazet. Čtečka čárových kódů zařízení COBAS® AmpliPrep automaticky přečte štítek s čárovými kódy každé kazety při zavedení stojanů s činidly do přístroje.*

1. Před zpracováním prvního vzorku ponechte činidla v zařízení COBAS® AmpliPrep ohřát na teplotu okolí po dobu 30 minut. Žádná další příprava činidel není zapotřebí.
2. Před spuštěním zařízení musí být do přístroje zaveden dostatečný počet všech kazet ke zpracování celého počtu vzorků, které budou na zařízení COBAS® AmpliPrep zpracovány bez přestávky. Každá kazeta obsahuje dostatečné množství činidel pro provedení 48 testů. Informace o zavádění činidel pro nepřetržitý chod naleznete v *příručce obsluhy pro systém cobas s 201*.
3. Umístěte kazetu **MPX CS1** do stojanu na činidla a ujistěte se, že je čárový kód kazety vyrovnán s čárovým kódem umístěným na pravé straně stojanu. Kazety **MPX CS1** musí být společně naplněny na samostatném stojanu na činidla odděleně od ostatních kazet.
4. Zaveďte stojan na činidla obsahující **MPX CS1** do polohy pro stojany A, a posuňte jej až k zářivce zařízení COBAS® AmpliPrep, poté před zasunutím stojanu do konečné polohy na zadní strany přístroje vyčkejte, než se rozsvítí zelená LED kontrolka stojanů. Nezávádějte do přístroje smíšené šarže činidel.

5. Umístěte jednu sadu kazet **MPX CS2**, **MPX CS3** a **MPX CS4** pro každou kazetu **MPX CS1** do stojanu(ů) na čínidla a ujistěte se, že jsou čárové kódy vyrovnány s čárovým kódem stojanu umístěným na jeho pravé straně.
6. Zaveďte stojan(y) na čínidla do polohy pro stojany B, C, D nebo E, a posuňte jej až k zářívce zařízení COBAS® AmpliPrep, poté před zasunutím stojanu do konečné polohy na zadní strany přístroje vyčkejte, než se rozsvítí zelená LED kontrolka stojanů.
7. LED kontrolky na stavové liště zařízení COBAS® AmpliPrep se rozsvítí zeleně po zavedení a rozpoznání všech požadovaných součástí sady.

C. Extrakce nukleových kyselin z pipetovaných vzorků a kontrol

Pozn.: *Proveďte následující kroky na čisté pracovní ploše.*

1. Odstraňte obal ze svazku jednotky na zpracování vzorků (SPU). Nedotýkejte se pásky a plastového krytu.
2. Jednotky na zpracování vzorků (SPU) otočte tak, abyste viděli velký štítek, a svazek SPU zarovnejte do krajní pravé polohy na stojanu SPU.
3. Odstraňte pásku a plastový kryt z SPU umístěné ve stojanu. Ujistěte se, že jsou všechny SPU ve stojanu zatlačeny dolů, vyrovnány a dobře usazeny. Vyčnívající SPU mohou způsobit poruchu přístroje. Netlačte na S-špičku v SPU.
4. Posuňte naplněné stojany SPU do umístění pro stojany zařízení COBAS® AmpliPrep I, J nebo K, dokud nebude stojan úplně zasunut a rozpoznán zařízením. Do zařízení lze najednou umístit až 72 SPU. Umístěte potřebný počet SPU pro provedení cyklu testu nebo více, dle potřeby.
5. Odstraňte celofánový obal z výrobcem plněných stojanů na K-zkumavky a K-špičky. Budte opatrní, abyste stojany nepřeklopili. Ujistěte se, že jsou všechny dobře usazeny.
6. Posuňte alespoň požadovaný počet stojanů na K-zkumavky a K-špičky do zařízení COBAS® AmpliPrep na pozice M, N, O nebo P.
7. Na pracovní stanici vytvořte objednávku pomocí softwaru AMPLILINK.
8. Vložte stojany SK24 se vzorky napipetovanými pipetorem Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD a kontroly do zařízení COBAS® AmpliPrep na pozice F, G nebo H. Zasuňte je, až se stojan uzamkne. Zkontrolujte stavové okno systému Sample, abyste se přesvědčili, že byly rozpoznány všechny vzorky na každém stojanu.
9. Zkontrolujte software AMPLILINK a přesvědčte se, že bylo pro přípravu vzorků zavedeno dostatečné množství činidel a spotřebního materiálu.
10. Pro spuštění přípravy vzorků na zařízení COBAS® AmpliPrep stiskněte klávesu Start na pracovní stanici AMPLILINK.
11. Případné nepoužité K-špičky a K-zkumavky zůstanou zavřené v zařízení COBAS® AmpliPrep pro použití v dalším cyklu.

D. Amplifikace a detekce

1. Přeneste stojan SK24 obsahující zpracované vzorky do analyzátoru COBAS® TaqMan®. Analyzátor COBAS® TaqMan® automaticky zahájí amplifikaci a detekci. Cyklus na analyzátoru COBAS® TaqMan® musí být zahájen do 1 hodiny od dokončení přípravy vzorků pro daný stojan SK24. Výsledky ze stojanů SK24, které nejsou přeneseny do 1 hodiny budou neplatné, s výjimkou reaktivních výsledků v platné dávce, která je označena za reaktivní.
2. Jakmile analyzátor COBAS® TaqMan® dokončí amplifikaci a detekci, budou analyzované vzorky automaticky odstraněny do odpadní nádoby.

3. Potvrďte přijetí výsledků na pracovní stanici se softwarem AMPLILINK.
4. Výsledky jsou automaticky předány na PDM software.

E. Prohlížení a vydávání výsledků

1. Spusťte pracovní stanici Roche PDM
2. Vyhledejte nevyhodnocené dávky pomocí záložky „Review Batches“ v Data Manageru pracovní stanice.
3. Prohlédněte výstrahy označením dávky a poté kliknutím myši na tlačítko „Next“.
4. Prohlédněte kontrolní výsledky na záložce „Controls Review“. Kritéria platnosti kontrol viz kapitola „Kontrola kvality“.
5. Prohlédněte výsledky směsi na záložce „Alarms Review“ pro zvolenou dávku. Nereaktivní směsi mohou být v případě potřeby označeny za neplatné manuálně uživatelem. U vzorků od dárců v neplatné směsi musí být proveden opětovný test.
6. Prohlédněte a vydejte výsledky dárců na záložce „Donor Review“ pro zvolenou dávku.
7. Vytiskněte zprávy a zašlete je do Laboratorního informačního systému (LIS) (dle potřeby).

KONTROLA KVALITY

1. U každé dávky musí být provedena jedna replikace negativní kontroly [**TS (-) C**] a jedna replikace každé z pěti pozitivních kontrol [**HIV-1 M (+) C**, **HIV-1 O (+) C**, **HIV-2 (+) C**, **HCV (+) C** a **HBV (+) C**].
2. Stav dávky: Pokud jsou kontroly dávky platné, je stavu dávky přiděleno označení „Complete, Valid“. Pokud je jakákoli kontrola v rámci dávky neplatná, je celá dávka neplatná. Neplatnost výsledků na základě neúspěšné kontroly automaticky provádí software PDM.

a. Negativní kontrola

Aby byly platná negativní kontrola [**TS (-) C**], musí být interpretované výsledky nereaktivní a musí být platná asociovaná vnitřní kontrola. Pokud je vnitřní kontrola neplatná, jsou interpretované výsledky negativní kontroly neplatné. Pokud jsou interpretované výsledky negativní kontroly neplatné, je neplatná celá dávka a test musí být zopakován.

b. Pozitivní kontroly

Aby bylo 5 pozitivních kontrol (**HIV-1 M (+) C**, **HIV-1 O (+) C**, **HIV-2 (+) C**, **HCV (+) C** a **HBV (+) C**) platných, musí být interpretované výsledky pro každou pozitivní kontrolu reaktivní a asociovaná vnitřní kontrola musí být platná. Pokud je vnitřní kontrola neplatná, jsou interpretované výsledky pozitivní kontroly neplatné. Pokud jsou interpretované výsledky pozitivní kontroly neplatné, je neplatná celá dávka a test musí být zopakován.

3. Vnitřní kontrola vzorků dárců

- a. Aby měly vzorků dárců platný nereaktivní (-) výsledek testu, musí být platná asociovaná vnitřní kontrola; v opačném případě je nereaktivní výsledek neplatný a vzorek dárce musí být znovu testován.
- b. Aby byl u vzorků dárců platný reaktivní (Ct hodnota) výsledek testu, musí být asociovaná vnitřní kontrola buď platná nebo neplatná.

VÝSLEDKY

1. Výsledky vzorků jsou platné, pouze pokud je platná celá dávka, která je obsahuje. Akceptační kritéria viz kapitola *Kontrola kvality*. U každého vzorku jsou měřeny dva parametry, jeden pro cílový virus a druhý pro vnitřní kontrolu.
2. Konečné výsledky testu **cobas**[®] TaqScreen MPX jsou vykazovány pomocí PDM softwaru následovně:

Stav	Význam
Complete Non-Reactive	Dárce je nereaktivní u testovaného analytu(ů).
Complete Reactive	Dárce je reaktivní u testovaného analytu(ů).
Complete Unresolved	Doba životnosti vzorku dárce vypršela před přidělením stavu reaktivní nebo nereaktivní. U tohoto vzorku dárce nelze na systému provést dodatečné testování. (Informace o době realizovatelnosti naleznete v příručce obsluhy pro systém cobas s 201 .)

3. Dárci vyžadující dodatečné testování: dárcovské zkumavky, u jejichž směsi je stav „invalid“ nebo individuální stav vzorku dárce je „invalid“, mají přidělen stav „Repeat Needed“ a dárcovské zkumavky zahrnuté v reaktivní směsi mají stav „Resolution Needed“.

Repeat Needed

Dárcovské zkumavky, u jejichž směsi je přidělen „invalid“ stav, vyžadují opakování testu jako součást směsi nebo v samostatném testování.

Testování směsi – Resolution Needed

Když je směs s více vzorky vyhodnocena jako reaktivní, systém **cobas s 201** přiřadí všem dárcům v dané směsi stav „Resolution needed“. Tyto vzorky od jednotlivých dárců se napipetují pomocí pipetoru Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD (buď z destiček s hlubokými jamkami nebo z původních zkumavek se vzorky dárců) a dále se testují pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX, což je součást rozlišovacího procesu, který má určit reaktivní a nereaktivní vzorky jednotlivých dárců. Informace o rozlišovacích testech naleznete v *příručce obsluhy pro systém cobas s 201*.

Když je směs s více vzorky vyhodnocena jako nereaktivní nebo jakýkoli nebo všechny vzorky dárců testované v rámci rozlišovacího testu jsou vyhodnoceny jako nereaktivní, pak jsou jednotlivé vzorky vyhodnoceny jako „Complete, Non-reactive“. Případný jednotlivý vzorek, který je reaktivní, může být dále testován pomocí testů COBAS[®] AmpliScreen pro rozlišení viru.

Směsi vzorků plazmy dárců

V případě směsi plazmy jsou reaktivní směsi rozlišeny na jednotlivé reaktivní vzorky pomocí buď 2D tvorby směsí nebo pomocí tvorby směsi pro ověření, viz *příručka obsluhy pro systém cobas s 201*. Případný jednotlivý vzorek, který je reaktivní, může být dále testován pomocí testů COBAS[®] AmpliScreen pro rozlišení viru.

Samostatné testování

Když je vzorek dárce testovaný jako samostatný zjištěn jako nereaktivní, pak je vyhodnocen jako „Complete, Non-reactive“. Když je vzorek dárce zjištěn jako reaktivní, pak je vyhodnocen jako „Complete, Reactive“. Případný jednotlivý vzorek, který je reaktivní, může být dále testován pomocí testů COBAS[®] AmpliScreen pro rozlišení viru.

Pozn.: *Jako součást programu zabezpečení kvality může uživatel chtít provést dodatečné testování pro stanovení příčiny prvotní reaktivity vzorku.*

4. Rozlišovací testy

Každý jednotlivý reaktivní vzorek zjištěný pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX může být dále testován za účelem rozlišení viru(ů), který byl prvotně detekován: HIV-1, HBV nebo HCV. Postup pro rozlišovací testování HIV-1 skupiny M, HCV a HBV naleznete na příbalových letáčích testů COBAS[®] AmpliScreen HBV, COBAS[®] AmpliScreen HCV, v2.0 a COBAS[®] AmpliScreen HIV-1, v1.5 pro zpracování vzorků Multiprep. Postup pro rozlišovací testování kadaverózních vzorků na HIV-1 skupiny M, HCV a HBV naleznete na příbalových letáčích testů COBAS[®] AmpliScreen HBV, COBAS[®] AmpliScreen HCV, v2.0 a COBAS[®] AmpliScreen HIV-1, v1.5. Rozlišovací testy pro HIV-1 skupiny O a HIV-2 společnost Roche nenabízí.

Jestliže je jednotlivý vzorek pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX identifikován jako reaktivní, a pomocí všech tří testů COBAS[®] AmpliScreen označen za nereaktivní, může uživatel chtít provést další testy pomocí jiných NAT nebo sérologických testů, nebo může zavolat dárce zpět na následné testování. Uživatelé musí dodržovat vlastní zásady / postupy pro následné sledování dárce a potenciální opětovné zařazení.

PROCEDURÁLNÍ OMEZENÍ

1. Tento test byl schválen pouze pro použití v kombinaci s testovací soupravou **cobas**[®] TaqScreen MPX, kontrolní soupravou **cobas**[®] TaqScreen MPX, promývacím čidlem **cobas**[®] TaqScreen a systémem **cobas s** 201.
2. V případě testování kadaverózních vzorků byl test **cobas**[®] TaqScreen MPX schválen pouze v kombinaci se soupravou pro ředění kadaverózních vzorků **cobas**[®] TaqScreen, kontrolní soupravou **cobas**[®] TaqScreen MPX, promývacím čidlem **cobas**[®] TaqScreen a systémem **cobas s** 201.
3. **U heparinu se zjistilo, že inhibuje PCR. U této procedury nepoužívejte heparinovanou plazmu.**
4. Důvěryhodnost výsledků závisí na správném odběru vzorků a správném způsobu přepravy vzorků.
5. Pro automatickou přípravu směsi plazmy pro test **cobas**[®] TaqScreen MPX byl schválen pouze přístroj Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD. Řiďte se pokyny pro technické vybavení a dodržujte bezpečnostní opatření v *příručce obsluhy pro systém **cobas s** 201* a uživatelské příručce k pipetoru Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD.
6. Detekce HIV-1 RNA skupiny M, HIV-1 RNA skupiny O, HIV-2 RNA, HCV RNA a HBV DNA je závislá na počtu virových částic přítomných ve vzorku a mohou být ovlivněny způsobem odběru vzorků, faktory pacientů (tj. věk, přítomnost symptomů), případně stádiem infekce a velikostí směsi.
7. Ve vzácných případech nemusí mutace ve vysoce chráněných oblastech genomu viru pokrytých primery a/nebo sondami testu **cobas**[®] TaqScreen MPX detekovat virus.
8. Vzhledem k rozdílům mezi technologiemi se doporučuje, aby uživatelé před přechodem od jedné technologie k druhé provedli v jejich laboratoři studie pro stanovení rozdílů mezi těmito technologiemi. Uživatelé by měli dodržovat své vlastní zásady/postupy.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Vzorky žijících dárců

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost testu **cobas**[®] TaqScreen MPX pomocí systému **cobas s** 201 byla stanovena testováním panelu složeného z 12 randomizovaných zaslepených vzorků skládajících se ze dvou negativních vzorků plazmy a dvou pozitivních vzorků plazmy, každá pro HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV a HBV v koncentracích přibližně 0,54X a 3X detekční hranice (LOD) testu **cobas**[®] TaqScreen MPX u každého viru.

Testování bylo prováděno ve 3 centrech s jedním pracovníkem v každém centru, který používal 3 šarže souprav testů **cobas**[®] TaqScreen MPX a 1 systém **cobas s** 201. V každém centru byly každý den po dobu 5 dní testovány 4 panely a 4 kontrolní sady z každé ze 3 šarží sad čidel, tj. 180 testů u každého vzorku na panelu (celkově 2 160 testů).

Veškeré informace o reprodukovatelnosti byly vyhodnoceny výpočtem procentního podílu výsledku reaktivních testů u každé položky panelu. Data byla analyzována podle šarže sady a centra / pracovníka.

Tato studie prokázala stálou účinnost testu **cobas**[®] TaqScreen MPX ve všech šaržích sad a u všech testovacích center / pracovníků v různých dnech (tabulka 1).

Tabulka 1
cobas[®] TaqScreen MPX Test – Výsledky reprodukovatelnosti

Virus	Koncentrace	Šarže soupravy	Reaktivní výsledky podle šarže činidel	Centrum / Pracovník	Reaktivní výsledky podle centra / pracovníka
Negativní	0	A	0,0 % (0/120)	1	0,0 % (0/120)
		B	0,0 % (0/120)	2	0,0 % (0/120)
		C	0,0 % (0/120)	3	0,0 % (0/120)
HIV-1 skupina M	0,54 X LOD*	A	75,0 % (45/60)	1	75,0 % (45/60)
		B	80,0 % (48/60)	2	71,7 % (43/60)
		C	75,0 % (45/60)	3	83,3 % (50/60)
HIV-1 skupina O	0,54 X LOD*	A	96,7 % (58/60)	1	100,0 % (60/60)
		B	98,3 % (59/60)	2	95,0 % (57/60)
		C	98,3 % (59/60)	3	98,3 % (59/60)
HIV-2	0,54 X LOD*	A	83,3 % (50/60)	1	73,3 % (44/60)
		B	81,7 % (49/60)	2	80,0 % (48/60)
		C	73,3 % (44/60)	3	85,0 % (51/60)
HCV	0,54 X LOD*	A	81,4 % (48/59)	1	71,7 % (43/60)
		B	78,3 % (47/60)	2	71,2 % (42/59)
		C	61,7 % (37/60)	3	78,3 % (47/60)
HBV	0,54 X LOD*	A	98,3 % (58/59)	1	96,7 % (58/60)
		B	98,3 % (59/60)	2	98,3 % (58/59)
		C	95,0 % (57/60)	3	96,7 % (58/60)
HIV-1 skupina M	3 X LOD*	A	100,0 % (60/60)	1	98,3 % (59/60)
		B	98,3 % (59/60)	2	100,0 % (60/60)
		C	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)
HIV-1 skupina O	3 X LOD*	A	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)
		B	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)
		C	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)
HIV-2	3 X LOD*	A	100,0 % (59/59)	1	100,0 % (60/60)
		B	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)
		C	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (59/59)
HCV	3 X LOD*	A	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)
		B	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)
		C	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)
HBV	3 X LOD*	A	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)
		B	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)
		C	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)

* Detekční hranice

Reprodukovatelnost testu **cobas**[®] TaqScreen MPX byla rovněž stanovena testováním panelu složeného ze 6 vzorků skládajících se z jednoho negativního vzorku a jednoho pozitivního vzorku, každý pro HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV a HBV v koncentracích přibližně 1X detekční hranice (LOD) testu **cobas**[®] TaqScreen MPX u každého viru.

Testování bylo prováděno v 1 centru se 3 pracovníky, kteří používali 3 šarže soupravy testů **cobas**[®] TaqScreen MPX. Každý pracovník používal samostatnou část systému **cobas s 201** (tj. zařízení COBAS[®] AmpliPrep a analyzátor COBAS[®] TaqMan[®] s datovou stanicí AMPLILINK). Čtyři replikáty každého ze 6 členů panelu byly testovány v průběhu 5 dní s každou šarží soupravy činidel, a to v každé ze 3 dvojic přístroj - pracovník. S každou šarží soupravy činidel bylo testováno minimálně 60 platných replikátů každého člena panelu.

Veškeré informace o reprodukovatelnosti byly vyhodnoceny výpočtem procentního podílu výsledku reaktivních testů u každé položky panelu. Data byla analyzována podle šarže soupravy a páru centra-pracovníka.

Tato studie prokázala stálou účinnost testu **cobas**[®] TaqScreen MPX ve všech šaržích souprav a u všech testovacích dvojic přístroj/ pracovník v různých dnech při 1X LOD (tabulka 2).

Tabulka 2
Test cobas[®] TaqScreen MPX – Výsledky reprodukovatelnosti při 1X LOD

Virus	Koncentrace	Šarže soupravy	Reaktivní výsledky podle šarže činidel	Dvojice přístroj-pracovník	Reaktivní výsledky podle dvojice přístroj-pracovník
Negativní	0	1	0,0 % (0/60)	1	0,0 % (0/60)
		2	1,7 % (1/60)	2	0,0 % (0/60)
		3	0,0 % (0/60)	3	1,7 % (1/60)
HIV-1 skupina M	1 X LOD*	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)
		2	98,3 % (59/60)	2	98,3 % (59/60)
		3	98,3 % (59/60)	3	98,3 % (59/60)
HIV-1 skupina O	1 X LOD	1	100,0 % (60/60)	1	98,3 % (59/60)
		2	98,3 % (59/60)	2	100,0 % (60/60)
		3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)
HIV-2	1 X LOD	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)
		2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)
		3	98,3 % (59/60)	3	98,3 % (59/60)
HCV	1 X LOD	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)
		2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)
		3	98,3 % (59/60)	3	98,3 % (59/60)
HBV	1 X LOD	1	100,0 % (60/60)	1	98,3 % (59/60)
		2	98,3 % (59/60)	2	100,0 % (60/60)
		3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)

* Detekční hranice

Analytická senzitivita – Mezinárodní normy WHO / Normy Roche

Detekční hranice testu **cobas**[®] TaqScreen MPX pro HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV a HBV byly stanoveny pomocí následujících norem: Mezinárodní standard WHO pro HBV (kód NIBSC 97/746)³², 2. mezinárodní standard WHO pro HCV RNA (kód NIBSC 96/798)³³ a standardy společnosti Roche pro HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O a HIV-2. Standard společnosti Roche HIV-1 skupiny M je komerčně dostupný, kultivovaný virový kmen (HIV-1 LAV 8E5, PN 227, Boston Biomedica, Inc.) zjištělný dle prvního mezinárodního standardu WHO pro HIV-1 RNA (kód NIBSC 97/656) kalibrován pomocí testu COBAS[®] TaqMan[®] HIV-1 pro použití na systému High Pure.

Pro HIV-1 skupiny O a HIV-2 nejsou v současnosti k dispozici žádné mezinárodní standardy. Standardy společnosti Roche HIV-1 skupiny O a HIV-2 jsou komerčně dostupné, kultivované virové kmeny, PN 242O (Boston Biomedica, Inc.) a kat. č. 10-127-000 (Advanced Biotechnologies, Inc.). Standardy společnosti Roche HIV-1 skupiny O RNA a HIV-2 RNA jsou zjistitelné dle referenčního panelu šarže O1 CBER HIV-1 Subtype RNA Reference Panel #1a dle panelu CBER HIV-2 RNA Lot Release Panel ISD.

Byly připraveny tři nezávislé řady ředění každé virového standardu s normální, virově negativní lidskou plazmou. Každá řada ředění byla testována pomocí tří různých šarží sad testu **cobas**[®] TaqScreen MPX s 22 replikáty na šarži, celkem 198 replikátů na jednu koncentraci. Pro stanovení 95 % detekční hranice (LOD) a dvoustranných 95 % základních intervalů spolehlivosti (Tabulka 3) byla použita analýza pomocí PROBIT u kombinovaných dat ze všech testovaných replikátů každého viru. V tabulkách 4 – 8 jsou shrnuty celkové výsledky studie analytické senzitivity.

Tabulka 3
Analýza Probit pro virové standardy

Analyt	Standard	Jednotky	Průměrná 95 % detekční hranice (LOD)	Dolní mez 95 %	Horní mez 95 %
HIV-1 skupina M	Sekundární standard společnosti Roche	IU/ml	49	42,4	58,1
HIV-1 skupina O	Primární standard společnosti Roche	Kopii/ml	89	56	217
HIV-2	Primární standard společnosti Roche	Kopii/ml	59,3	51,9	69,7
HCV	Druhý mezinárodní standard WHO	IU/ml	11	7,0	21,7
HBV	Mezinárodní standard WHO	IU/ml	3,8	3,3	4,4

Tabulka 4
Shrnutí analytické senzitivity: Sekundární standard Roche pro HIV-1 skupiny M

Koncentrace RNA HIV-1 skupiny M (IU/ml)	Počet reaktivních	Počet samostatných testů	% reaktivních	Dolní mez spolehlivosti 95 % (jednostranná)
190	196	196	100 %	98,5 %
60	193	197	98,0 %	95,4 %
50	187	195	95,9 %	92,7 %
40	180	195	92,3 %	88,4 %
20	143	196	73,0 %	67,2 %
6	72	196	36,7 %	31,0 %

Tabulka 5
Shrnutí analytické senzitivity: Primární standard Roche pro HIV-1 skupiny O

Koncentrace RNA HIV-1 skupiny O (kopii/ml)	Počet reaktivních	Počet samostatných testů	% reaktivních	Dolní mez spolehlivosti 95 % (jednostranná)
293	194	194	100 %	98,5 %
147	198	198	100 %	98,5 %
117	196	198	99,0 %	96,9 %
93,8	191	197	97,0 %	94,1 %
29,3	98	198	49,5 %	43,4 %
9,4	46	189	24,3 %	19,3 %

Tabulka 6
Shrnutí analytické senzitivity: Primární standard Roche pro HIV-2

Koncentrace RNA HIV-2 (kopíí/ml)	Počet reaktivních	Počet samostatných testů	% reaktivních	Dolní mez spolehlivosti 95 % (jednostranná)
320	194	194	100,0 %	98,5 %
107	194	195	99,5 %	97,6 %
82,8	186	189	98,4 %	95,9 %
61,4	188	195	96,4 %	93,4 %
34,7	154	192	80,2 %	74,9 %
10,7	79	194	40,7 %	34,8 %

Tabulka 7
Shrnutí analytické senzitivity: Druhý mezinárodní standard WHO pro HCV (96/798)

Koncentrace RNA HCV (IU/ml)	Počet reaktivních	Počet samostatných testů	% reaktivních	Dolní mez spolehlivosti 95 % (jednostranná)
30,0	188	192	97,9 %	95,3 %
15,4	183	184	99,5 %	97,4 %
11,3	183	186	98,4 %	95,9 %
10,0	180	193	93,3 %	89,5 %
3,0	128	192	66,7 %	60,6 %
1,0	67	192	34,9 %	29,2 %

Tabulka 8
Shrnutí analytické senzitivity: Mezinárodní standard WHO pro HBV (97/746)

Koncentrace DNA HBV DNA (IU/ml)	Počet reaktivních	Počet samostatných testů	% reaktivních	Dolní mez spolehlivosti 95 % (jednostranná)
12,0	193	193	100,0 %	98,5 %
5,0	194	197	98,5 %	96,1 %
4,0	186	193	96,4 %	93,3 %
3,6	186	197	94,4 %	90,9 %
1,3	121	192	63,0 %	56,9 %
0,4	47	191	24,6 %	19,5 %

Senzitivita a inkluzivita genotypu / subtypu

Účinnost **cobas**[®] TaqScreen MPX testu byla stanovena u subtypů HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-1 skupiny N a HIV-2, a genotypů HCV a HBV.

HIV-1 skupina M

Pomocí testu COBAS[®] AMPLICOR HIV1 MONITOR, v1.5 bylo kvantifikováno padesát klinických vzorků HIV-1 skupiny M a 25 kultivovaných izolátů známého subtypu (7 subtypů A, 15 subtypů rekombinantů AE, 10 subtypů rekombinantů AG, 12 subtypů B, 9 subtypů C, 7 subtypů D, 4 subtypy F, 8 subtypů G, 2 subtypy H a 1 subtyp J) řaděných normální virově negativní lidskou plazmou na 3X a 1X detekční hranici (LOD) testu **cobas**[®] TaqScreen MPX pro HIV-1 skupiny M a testováno pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX. Všechny 50 klinických vzorků a 25 kultivovaných izolátů bylo reaktivních jak u detekční hranice (LOD) 3X, tak 1X.

Tabulka 9
Vzorky HIV-1 skupiny M a kultivované izoláty

Subtyp	Klinické vzorky	Vypěstované supernatanty	Celkem izolátů	Reaktivní při 3X LOD	Reaktivní při 1X LOD
A	3	4	7	100 % (7/7)	100 % (7/7)
AE	10	5	15	100 % (15/15)	100 % (15/15)
AG	10	0	10	100 % (10/10)	100 % (10/10)
B	10	2	12	100 % (12/12)	100 % (12/12)
C	7	2	9	100 % (9/9)	100 % (9/9)
D	2	5	7	100 % (7/7)	100 % (7/7)
F	1	3	4	100 % (4/4)	100 % (4/4)
G	4	4	8	100 % (8/8)	100 % (8/8)
H	2	0	2	100 % (2/2)	100 % (2/2)
J	1	0	1	100 % (1/1)	100 % (1/1)

HIV-1 skupiny O a HIV-1 skupiny N

Bylo testováno osm kultivovaných izolátů HIV-1 skupiny O a 1 kultivovaný izolát HIV-1 skupiny N. Vzhledem k tomu, že nebyla k dispozici žádná metoda ke kvantifikaci izolátů HIV-1 skupiny O a skupiny N, bylo připraveno poloviční ředění vypěstovaných kmenů v normální virově negativní lidské plazmě a každé ředění bylo testováno pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX.

Všech 8 izolátů HIV-1 skupiny O bylo detekováno pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX ve všech ředěních až do 1×10^{-7} a 1×10^{-8} . Izolát HIV-1 skupiny N byl detekován ve všech ředěních až do $3,3 \times 10^{-10}$.

HIV-2

Byly provedeny testy na devíti vypěstovaných izolátech HIV-2 (5 subtypů A, 1 subtyp A/B, 1 subtyp B a 2 s neznámým subtypem) a 11 klinických vzorcích HIV-2 (neznámého subtypu). Vzhledem k tomu, že nebyla k dispozici žádná metoda ke kvantifikaci vzorků HIV-2, bylo připraveno poloviční ředění kultivovaných kmenů a klinických vzorků v normální virově negativní lidské plazmě a každé ředění bylo testováno pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX.

5 kultivovaných izolátů HIV-2 subtypu A bylo detekováno pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX ve všech ředěních až do 1×10^{-8} a $3,3 \times 10^{-9}$. Izolát HIV-2 subtypu A/B byl detekován v ředěních až do 1×10^{-9} . Izolát HIV-2 subtypu B byl detekován v ředěních až do $3,3 \times 10^{-9}$. 2 kultivované izoláty HIV-2 neznámého subtypu byly detekovány v ředěních až do $3,3 \times 10^{-9}$. Pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX bylo detekováno všech 11 klinických vzorků HIV-2 (neznámého subtypu) v ředěních až do 1:100 (2 vzorky), 1:30 (3 vzorky), 1:10 (2 vzorky), 1:3 (3 vzorky) a nezředěném (1 vzorek).

HCV

Pomocí testu COBAS[®] AMPLICOR HCV MONITOR, v2.0 bylo kvantifikováno sedmdesát čtyři klinických vzorků HCV se známým genotypem (8 genotypu 1a, 13 genotypu 1b, 1 genotypu 2, 7 genotypu 2a, 1 genotypu 2a/c, 9 genotypu 2b, 8 genotypu 3a, 1 genotypu 3a/b, 6 genotypu 4, 1 genotypu 4a, 1 genotypu 4b/4c, 1 genotypu 4h, 2 genotypu 5, 9 genotypu 5a, 2 genotypu 6 a 4 genotypu 6a) ředěných v normální virově negativní lidské plazmě na 3X a 1X detekční hranice (LOD) testu **cobas**[®] TaqScreen MPX pro HCV a bylo otestováno pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX.

Všech sedmdesát čtyři izolátů bylo při detekční hranici 3X reaktivních. Při detekční hranici 1X bylo reaktivních 73 ze 74 izolátů. Jeden genotyp 1b nebyl reaktivní při 1X LOD, avšak při 3X LOD byl reaktivní.

Tabulka 10
Vzorky HCV

Genotyp	Klinické vzorky	Reaktivní při 3X LOD	Reaktivní při 1X LOD
1a	8	100 % (8/8)	100 % (8/8)
1b	13	100 % (13/13)*	92 % (12/13)*
2	1	100 % (1/1)	100 % (1/1)
2a	7	100 % (7/7)	100 % (7/7)
2a/c	1	100 % (1/1)	100 % (1/1)
2b	9	100 % (9/9)	100 % (9/9)
3a	8	100 % (8/8)	100 % (8/8)
3a/b	1	100 % (1/1)	100 % (1/1)
4	6	100 % (6/6)	100 % (6/6)
4a	1	100 % (1/1)	100 % (1/1)
4b/4c	1	100 % (1/1)	100 % (1/1)
4h	1	100 % (1/1)	100 % (1/1)
5	2	100 % (2/2)	100 % (2/2)
5a	9	100 % (9/9)	100 % (9/9)
6	2	100 % (2/2)	100 % (2/2)
6a	4	100 % (4/4)	100 % (4/4)

* Jeden genotyp 1b nebyl reaktivní při 3X LOD, avšak při 1X LOD byl reaktivní.

HBV

Pomocí testu COBAS® AMPLICOR HBV MONITOR bylo kvantifikováno šedesát čtyři klinických vzorků HBV a jeden molekulární klon se známým genotypem (13 genotypu A, 9 genotypu B, 10 genotypu C, 9 genotypu D, 14 genotypu E, 6 genotypu F, 2 genotypu G a 2 genotypu H), řaděných s normální virově negativní lidskou plazmou na 3X a 1X detekční hranici (LOD) testu **cobas**® TaqScreen MPX pro HBV a bylo otestováno pomocí testu **cobas**® TaqScreen MPX.

Všech 65 vzorků bylo reaktivních jak u 3X, tak 1X LOD.

Tabulka 11
Vzorky HBV

Genotyp	Klinické vzorky	Reaktivní při 3X LOD	Reaktivní při 1X LOD
A	13	100 % (13/13)	100 % (13/13)
B	9	100 % (9/9)	100 % (9/9)
C	10	100 % (10/10)	100 % (10/10)
D	9	100 % (9/9)	100 % (9/9)
E	14	100 % (14/14)	100 % (14/14)
F	6	100 % (6/6)	100 % (6/6)
G	2*	100 % (2/2)	100 % (2/2)
H	2	100 % (1/1)**	100 % (2/2)

* Jeden vzorek genotypu G byl spíše plazmid DNA než klinický vzorek.

** Jeden izolát genotypu H nebyl testován při 3X LOD vzhledem k nedostatečnému objemu.

Sérokonverzní panely

Účinnost testu **cobas**® TaqScreen MPX během sérokonverze byla stanovena pro HIV-1 skupiny M, HCV a HBV pomocí 60 komerčně dostupných sérokonverzních panelů. Pro HIV-1 skupiny O a HIV-2 nebyly dispozici žádné sérokonverzní panely.

Sérokonverzní panely HIV-1

Pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX bylo testováno dvacet komerčně dostupných sérokonverzních panelů od plazmaforézních dárců, u nichž byly sérokonvertovány protilátky HIV. Každý vzorek byl testován neřaděný i řaděný v poměru 1:6, aby se simulovalo testování ve směsích od 6 dárců. Výsledky testu **cobas**[®] TaqScreen MPX byly porovnány s výsledky získanými pomocí testů ABBOTT PRISM HIV O Plus Assay a Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA.

Pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX byla u neřaděných vzorků detekována HIV RNA před detekcí protilátky HIV jak u testu ABBOTT PRISM HIV O Plus, tak u Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA u 20 ze 20 panelů. Pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX byla u neřaděných vzorků detekována HIV RNA před detekcí protilátky HIV jak u testu ABBOTT PRISM HIV O Plus, tak u Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA v průměrném rozmezí 14 dnů.

Pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX byla u 6x řaděných vzorků detekována HIV RNA před detekcí protilátky HIV jak u testu ABBOTT PRISM HIV O Plus, tak u Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA u 20 ze 20 panelů. Pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX byla u 6x řaděných vzorků detekována HIV RNA před detekcí protilátky HIV jak u testu ABBOTT PRISM HIV O Plus, tak u Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA v průměrném rozmezí 13 dnů.

Panely, které byly reaktivní při testu **cobas**[®] TaqScreen MPX na první odběr, panely, které nebyly reaktivní na sérologický test u všech odběrů a panely s intervaly většími než 21 dní mezi prvním reaktivním odběrem a předchozím odběrem byly vyřazeny ze souhrnných kalkulací pro minimální, průměrný a maximální počet dnů dřívější detekce než HIV-1/2 protilátky.

Tabulka 12
Účinnost testu **cobas[®] TaqScreen MPX u HIV sérokonverzních panelů.**

HIV sérokonverzní panel	Poznámky	Počet dnů dřívější detekce než protilátky na HIV-1/2 s			
		Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA		ABBOTT PRISM HIV O Plus	
		Test cobas [®] TaqScreen MPX			
		Neřaděný	1:6	Neřaděný	1:6
1	A	15	15	15	15
2	C	14	14	14	14
3	A	18	18	18	18
4	B, C	5	5	5	5
5		9	9	14	14
6		10	10	10	10
7		17	11	17	11
8		7	7	10	10
9	B, D	10	10	10	10
10		13	13	13	13
11		19	19	19	19
12		25	25	25	25
13		19	14	19	14
14		7	7	7	7
15		19	19	19	19
16	E	89	89	9	9
17	B, C	7	7	7	7
18	B	14	11	14	11
19		11	7	11	7
20		15	15	15	15
Minimum		7	7	7	7
Průměr		14	13	14	13
Maximum		25	25	25	25

- A. Výsledek testu **cobas**[®] TaqScreen MPX byl reaktivní u prvního odběru v řadě u neřaděných vzorků a vzorků řaděných v poměru 1:6; vyřazeno ze souhrnných výpočtů.
- B. Žádná sérokonverze na HIV protilátky s Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA; vyřazeno ze souhrnných výpočtů pro Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA.
- C. Žádná sérokonverze na HIV protilátky u ABBOTT PRISM HIV O Plus; vynecháno ze souhrnných výpočtů pro ABBOTT PRISM HIV O Plus.
- D. Vyřazeno ze souhrnných výpočtů vzhledem k dlouhému intervalu (40 dní) mezi prvním reaktivním odběrem testovaným pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX a předchozím odběrem.
- E. Vyřazeno ze souhrnných výpočtů pro Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA vzhledem k dlouhému intervalu (80 dní) mezi prvním sérologicky reaktivním odběrem a předchozím odběrem.

Sérokonverzní panely HCV

Pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX bylo testováno dvacet komerčně dostupných sérokonverzních panelů od plazmaforézních dárců, u nichž byly sérokonvertovány protilátky HCV. Každý vzorek byl testován neřaděný i řaděný v poměru 1:6, aby se simulovalo testování ve směsích od 6 dárců. Výsledky testu **cobas**[®] TaqScreen MPX byly porovnány s výsledky získanými pomocí analýzy ABBOTT PRISM HCV a testovacího systému ELISA ORTHO HCV Verze 3.0.

Pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX byla u neřaděných vzorků detekována HCV RNA před detekcí HCV protilátek jak u analýzy ABBOTT PRISM HCV, tak u testovacího systému ELISA ORTHO HCV Verze 3.0 u 19 z 20 panelů a ve stejný den detekce HCV protilátek u 1 z 20 panelů. Test **cobas**[®] TaqScreen MPX u neřaděných vzorků detekoval HCV RNA před detekcí HCV protilátek u analýzy ABBOTT PRISM HCV a testovacího systému ELISA ORTHO HCV Verze 3.0 v průměru 24, respektive 25 dní.

Pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX byla u 6x řaděných vzorků detekována HCV RNA před detekcí HCV protilátek jak u analýzy ABBOTT PRISM HCV, tak u testovacího systému ELISA ORTHO HCV Verze 3.0 u 19 z 20 panelů a ve stejný den detekce HCV protilátek u 1 z 20 panelů. Test **cobas**[®] TaqScreen MPX u 6x řaděných vzorků detekoval HCV RNA před detekcí HCV protilátek u analýzy ABBOTT PRISM HCV a testovacího systému ELISA ORTHO HCV Verze 3.0 v průměru o 23, respektive 24 dní.

Panely, které byly reaktivní při testu **cobas**[®] TaqScreen MPX na první odběr, panely, které nebyly reaktivní na sérologický test u všech odběrů a panely s intervaly většími než 21 dní mezi prvním reaktivním odběrem a předchozím odběrem byly vyřazeny ze souhrnných kalkulací pro minimální, průměrný a maximální počet dnů dřívější detekce než HCV protilátky.

Tabulka 13
Účinnost testu cobas® TaqScreen MPX u HCV sérokonverzních panelů.

Sérokonverzní panel HCV	Poznámky	Počet dnů dřívější detekce než HCV protilátek			
		ELISA ORTHO HCV Verze 3.0		ABBOTT PRISM HCV Plus	
		Test cobas® TaqScreen MPX			
		Neřaděný	1:6	Neřaděný	1:6
1	A	97	97	97	97
2	A	85	85	85	85
3	A	16	16	13	13
4	A	7	7	7	7
5		7	7	3	3
6	A, B	27	27	24	24
7	A	19	19	13	13
8	A	8	8	8	8
9	A	14	14	14	14
10	A, B	9	9	7	7
11	A	23	23	16	16
12	A	21	21	18	18
13	A	39	39	37	37
14		32	32	32	32
15	A	31	31	28	28
16		23	23	23	23
17		39	33	39	33
18	C	32	32	32	32
19	C	38	38	38	38
20	D	0	0	0	0
Minimum		7	7	3	3
Průměr		25	24	24	23
Maximum		39	33	39	33

- A. Výsledek testu **cobas**® TaqScreen MPX byl reaktivní u prvního odběru v řadě u neřaděných vzorků a vzorků řaděných v poměru 1:6; vyřazeno ze souhrnných výpočtů.
- B. Žádná sérokonverze HCV protilátek u testu ELISA ORTHO HCV Verze 3.0; vyřazeno ze souhrnných výpočtů pro ELISA ORTHO HCV Verze 3.0.
- C. Vyřazeno ze souhrnných výpočtů kvůli dlouhému intervalu (28 dní, panel 18; 31 dní, panel 19) mezi prvním sérologicky reaktivním odběrem a předchozím odběrem.
- D. Vyřazeno ze souhrnných výpočtů kvůli dlouhému intervalu (69 dní) mezi prvním odběrem, který byl u všech metod nereaktivní a druhým odběrem, který byl u všech metod reaktivní.

Sérokonverzní panely HBV

Pomocí testu **cobas**® TaqScreen MPX bylo testováno dvacet komerčně dostupných sérokonverzních panelů od plazmaforézních dárců, u nichž byly sérokonvertovány HBsAg. Každý vzorek byl testován neřaděný i řaděný v poměru 1:6, aby se simulovalo testování ve směsích od 6 dárců. Výsledky testu **cobas**® TaqScreen MPX byly porovnány s výsledky získanými pomocí analýzy ABBOTT PRISM® HBsAg a testovacího systému ELISA ORTHO® HBsAg 3.

Test **cobas**® TaqScreen MPX u neřaděných vzorků detekoval HBV DNA před detekcí HBsAg s ABBOTT PRISM HBsAg u 17 z 20 panelů, ve stejný den detekce HBsAg u 2 z 20 panelů a po detekci HBsAg u 1 z 20 panelů. Ve srovnání s testovacím systémem ELISA ORTHO HBsAg 3 test **cobas**® TaqScreen MPX detekoval u neřaděných vzorků HBV DNA před detekcí HBsAg u 19 z 20 panelů a po detekci HBsAg u 1 z 20 panelů. Test **cobas**® TaqScreen MPX u neřaděných vzorků detekoval HBV DNA před detekcí HBsAg pomocí analýzy ABBOTT PRISM HBsAg a testovacího systému ELISA ORTHO HBsAg 3 průměrně o 19, respektive 24 dní.

Test **cobas**[®] TaqScreen MPX u 6x řaděných vzorků detekoval HBV DNA před detekcí HBsAg s ABBOTT PRISM HBsAg u 15 z 20 panelů, ve stejný den detekce HBsAg u 3 z 20 panelů a po detekci HBsAg u 2 z 20 panelů. Ve srovnání s testovacím systémem ELISA ORTHO HBsAg 3, test **cobas**[®] TaqScreen MPX detekoval u 6x zřaděných vzorků HBV DNA před detekcí HBsAg u 17 z 20 panelů, ve stejný den jako detekce HBsAg u 2 z 20 panelů a po detekci HBsAg u 1 z 20 panelů. Test **cobas**[®] TaqScreen MPX u 6x řaděných vzorků detekoval HBV DNA před detekcí HBsAg pomocí analýzy ABBOTT PRISM HBsAg a testovacího systému ELISA ORTHO HBsAg 3 průměrně o 8, respektive 13 dní.

Panely, které byly reaktivní pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX u prvních odběrů a panely s intervaly většími než 21 dní mezi prvním reaktivním odběrem a předchozím odběrem, byly ze souhrnných výpočtů vyřazeny. Dále byl vyřazen ze souhrnných výpočtů pro minimální, průměrný a maximální počet dnů dřívější detekce než HBsAg jeden panel reaktivní u testu ABBOTT PRISM HBsAg na první odběr a jeden panel, který byl střídavě reaktivní u testu **cobas**[®] TaqScreen MPX v průběhu 97 denního období.

Tabulka 14
Účinnost testu **cobas[®] TaqScreen MPX u HBV sérokonverzních panelů**

Sérokonverzní panel HBV	Poznámky	Počet dnů dřívější detekce než HBsAg			
		Testovací systém ELISA ORTHO HBsAg 3		ABBOTT PRISM HBsAg Plus	
		Test cobas [®] TaqScreen MPX			
		Neřaděný	1:6	Neřaděný	1:6
1	E	-5	-7	22	20
2		18	16	16	14
3	A, B	35	35	35	35
4		31	24	21	14
5	B, C, D	7	43	-36	0
6		21	0	21	0
7	A, B	8	8	4	4
8	A, B	13	13	9	9
9	A, B	14	14	7	7
10	A, B	18	18	7	7
11		28	16	26	14
12	A, B	7	7	2	2
13	A, B	19	19	12	12
14		21	12	23	14
15		21	9	19	7
16		26	0	8	-18
17	D	12	12	0	0
18	A, B	18	18	7	7
19	A, C, D	35	12	0	-23
20		21	17	18	14
Minimum		18	0	8	-18
Průměr		24	13	19	8
Maximum		31	24	26	14

- A. Test **cobas**[®] TaqScreen MPX byl reaktivní u prvního odběru v řadě u neřaděných vzorků; vyřazen ze souhrnných výpočtů.
- B. Test **cobas**[®] TaqScreen MPX byl reaktivní u prvního odběru v řadě u vzorků řaděných 1:6; vyřazen ze souhrnných výpočtů.
- C. Test ABBOTT PRISM HBsAg byl reaktivní u prvního odběru řady; vyřazen ze souhrnných výpočtů pro test ABBOTT PRISM HBsAg.
- D. Vyřazeno ze souhrnných výpočtů vzhledem k dlouhému intervalu mezi prvním reaktivním odběrem testovaným pomocí **cobas**[®] TaqScreen MPX testu a předchozím odběrem (panel 5: 36 dní, panel 17: 146 dní, panel 19: 23 dní).
- E. Reaktivní výsledky testu **cobas**[®] TaqScreen MPX u neřaděných vzorků ve dnech 4, 16 a 26 nejsou zahrnuty do výpočtu „Dní dřívější detekce“, protože ve dnech 7, 19, 23, 76 a 101 byly vzorky nereaktivní. Reaktivní výsledek testu **cobas**[®] TaqScreen MPX ve 4. den u řaděného vzorku 1:6 není zahrnutý do výpočtu „Dní dřívější detekce“, protože dalších 8 vzorků (ve dnech 7 až 106) byly nereaktivní. Tento panel byl také vyřazen ze souhrnu kvůli dlouhému střídavě reaktivnímu období.

Analytická specifická – Potenciálně křížově reaktivní a interferující mikroorganismy

Analytická specifická testu **cobas**[®] TaqScreen MPX byla vyhodnocována pomocí panelového testování 17 mikroorganismů, včetně 12 virových izolátů, 4 bakteriálních kmenů a 1 kvasinkového izolátu. Mikroorganismy byly přidány do normální virově negativní lidské plazmy a testovány s a bez HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV nebo HBV přidaných v koncentraci 3X detekční hranice testu **cobas**[®] TaqScreen MPX pro každý virus.

Nereaktivní výsledky získané pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX u všech vzorků mikroorganismů bez přidaného HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV nebo HBV. Testované mikroorganismy s testem **cobas**[®] TaqScreen MPX nevytvářely křížovou reakci. Reaktivní výsledky získané u všech vzorků mikroorganismů s přidaným HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV nebo HBV. Testované mikroorganismy neovlivňovaly test **cobas**[®] TaqScreen MPX.

Tabulka 15
Testované mikroorganismy

Analytická specifická – Testované mikroorganismy		
Adenovirus 2	Lidský herpes virus 6	<i>Staphylococcus aureus</i>
Cytomegalovirus	Lidský T-Lymfotropní virus; Typ I	<i>Candida albicans</i>
Virus Epstein-Barrové	Lidský T-Lymfotropní virus; Typ II	<i>Propionibacterium acnes</i>
Varicella zoster virus	Virus hepatitidy A	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Herpes simplex virus typ 1	Virus chřipky	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
Herpes simplex virus typ 2	Virus hepatitidy G (GBV-C)	

Analytická specifická – Ostatní stádia nemoci

Vzorky plazmy každé z následujících kategorií onemocnění (infekce cytomegalovirem, infekce virem hepatitidy A, infekce virem Epstein Barr a autoimunní onemocnění, tj. antinukleární protilátky, revmatoidní artritida) byly testovány s a bez HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV nebo HBV přidané ke koncentraci 3x detekční hranice každého viru testu **cobas**[®] TaqScreen MPX. Výsledky testu **cobas**[®] TaqScreen MPX byly nereaktivní u všech vzorků s onemocněním bez přidaného viru HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV nebo HBV, kromě jednoho vzorku, který byl zprvu reaktivní a po opětovném testování nereaktivní a reaktivní u všech vzorků s onemocněním s přidaným HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV nebo HBV. Tato onemocnění nenarušovala senzitivitu nebo specifickou testu **cobas**[®] TaqScreen MPX.

Potenciálně interferující látky

Endogenní interferující látky

Vzorky plazmy s abnormálně vysokými úrovněmi triglyceridů (až do 3 186 mg/dl), hemoglobin (až do 472 mg/dl), nekonjugovaný bilirubin (až do 63 mg/dl), albumin (až do 9,6 g/dl) nebo lidská DNA (až do 0,4 mg/dl) byly testovány s přidáním a bez přidání HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV nebo HBV v koncentraci 3X detekční hranice testu **cobas**[®] TaqScreen MPX pro každý virus. Tyto endogenní látky nenarušovaly senzitivitu nebo specifickou testu **cobas**[®] TaqScreen MPX. Vzorky plazmy s červenými krvinkami byly přidány do abnormálně vysokých úrovní (až 10 % obj.) a testovány s a bez HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV nebo HBV v koncentraci 3X detekční hranice testu **cobas**[®] TaqScreen MPX pro každý virus. Plazma s červenými krvinkami doplněná na 2,5 % obj. nenarušovala senzitivitu nebo specifickou testu **cobas**[®] TaqScreen MPX. U plazmy s červenými krvinkami přidanými v objemu 5,0 % byla snížena senzitivita testu **cobas**[®] TaqScreen MPX pro detekci HCV. U plazmy s červenými krvinkami přidanými v objemu 10,0 % byla snížena senzitivita testu **cobas**[®] TaqScreen MPX pro detekci HBV, HCV, HIV-1 skupiny O a HIV-2.

Exogenní interferující látky

Vzorky normální lidské plazmy obsahující abnormálně vysokou koncentraci acetaminofenu (paracetamolu) (1 324 µmol/l), acetylsalicylové kyseliny (3,62 µmol/l), kyseliny askorbové (342 µmol/l), atorvastatinu (600 Eq/l), fluoxetinu (11,2 µmol/l), ibuprofenu (2 425 µmol/l), loratadinu (0,78 µmol/L), nadololu (3,88 µmol/l), naproxenu (2 170 µmol/l), paroxetinu (3,04 µmol/l), penyleprinu HCl (491 µmol/l) a sertralínu (1,96 µmol/l) s a bez HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV nebo HBV v koncentraci 3x detekční hranice testu **cobas**[®] TaqScreen MPX pro každý virus. Tyto exogenní látky nenarušovaly senzitivitu nebo specifitu testu **cobas**[®] TaqScreen MPX.

Kadaverózní vzorky dárců

Reprodukovatelnost

20 individuálních kadaverózních EDTA vzorků plazmy bylo nastříknuto HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV nebo HBV pomocí sekundárního standardu společnosti Roche pro HIV-1 skupiny M, pomocí primárních standardů společnosti Roche pro HIV-1 skupiny O a HIV-2, pomocí sekundárního standardu společnosti Roche pro HCV a pomocí mezinárodního standardu WHO pro HBV (NIBSC 97/746) na konečnou koncentraci přibližně 3X LOD dle hladiny hemolýzy pro každý vzorek. Rovněž 20 jednotlivých vzorků EDTA plazmy od žijících dárců bylo nastříknuto stejnými standardy až do úrovně, která odpovídala přibližně 3X LOD ve směsích po 6. Kadaverózní vzorky byly manuálně naředěny 1:5 pomocí roztoku pro ředění kadaverózních vzorků **cobas**[®] TaqScreen a testovány postupem pro testování kadaverózních vzorků; vzorky žijících dárců byly naředěny 1:6 do negativní EDTA plazmy pomocí pipetoru Hamilton MICROLAB STAR IVD jako součást postupu testování vzorků živých dárců pro vyhodnocení směsi se 6 vzorky. Každý z 20 vzorků živých dárců a kadaverózních vzorků byl testován 2 pracovníky s použitím tří různých šarží testu **cobas**[®] TaqScreen MPX. Každý pracovník dostal systém **cobas s 201**, takže vznikly dvě dvojice pracovník-přístroj.

Veškeré informace o reprodukovatelnosti byly analyzovány srovnáním reaktivních hladin virových cílů HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV nebo HBV přenesených do vzorků žijících dárců a kadaverózních vzorků ve třech šaržích souprav (tabulka 16) a v rámci dvou dvojic pracovník-přístroj (tabulka 17). Výsledky byly vyhodnoceny pomocí jednostranného Fisherova přesného testu, aby bylo možné stanovit, zda reaktivní hladiny vzorků žijících dárců a kadaverózních vzorků jsou významné.

Tabulka 16
Shrnutí reprodukovatelnosti testu **cobas[®] TaqScreen MPX pro kadaverózní vzorky a vzorky od žijících pacientů – výsledky dle šarže soupravy**

Virové cíle	Typ dárce	Šarže 1	Šarže 2	Šarže 3	Jednostranná p-hodnota vzorků žijících dárců vs. kadaverózní vzorky podle cíle
HIV-1 skupina M	Kadaverózní	40 / 40 100 %	40 / 40 100 %	40 / 40 100 %	1
	Žijící	40 / 40 100 %	39 / 39 100 %	39 / 39 100 %	
HIV-1 skupina O	Kadaverózní	39 / 40 97,5 %	40 / 40 100 %	40 / 40 100 %	1
	Žijící	39 / 39 100 %	40 / 40 100 %	40 / 40 100 %	
HIV-2	Kadaverózní	40 / 40 100 %	40 / 40 100 %	40 / 40 100 %	1
	Žijící	39 / 39 100 %	40 / 40 100 %	40 / 40 100 %	
HCV	Kadaverózní	40 / 40 100 %	40 / 40 100 %	39 / 39 100 %	0,5
	Žijící	38 / 39 97,4 %	40 / 40 100 %	40 / 40 100 %	
HBV	Kadaverózní	40 / 40 100 %	40 / 40 100 %	40 / 40 100 %	1
	Žijící	39 / 39 100 %	40 / 40 100 %	39 / 39 100 %	
Jednostranná p-hodnota vzorků žijících dárců vs. kadaverózní vzorky podle šarže činidel		0,75	1	1	–

* Jeden replikát byl neplatný

Tabulka 17
Shrnutí reprodukovatelnosti testu cobas® TaqScreen MPX pro kadaverózní vzorky
a vzorky od žijících pacientů – výsledky dle dvojice pracovník-přístroj

Virové cíle	Typ dárce	Pracovník-přístroj č. 1	Pracovník-přístroj č. 2	Jednostranná p-hodnota vzorků žijících dárců vs. kadaverózní vzorky podle cíle
HIV-1 skupina M	Kadaverózní	60 / 60 100 %	60 / 60 100 %	1
	Žijící	60 / 60 100 %	58 / 58** 100 %	
HIV-1 skupina O	Kadaverózní	59 / 60 98,3 %	60 / 60 100 %	1
	Žijící	59 / 59* 100 %	60 / 60 100 %	
HIV-2	Kadaverózní	60 / 60 100 %	60 / 60 100 %	1
	Žijící	59 / 59* 100 %	60 / 60 100 %	
HCV	Kadaverózní	60 / 60 100 %	59 / 59* 100 %	0,5
	Žijící	59 / 59* 100 %	59 / 60 98,3 %	
HBV	Kadaverózní	60 / 60 100 %	60 / 60 100 %	1
	Žijící	58 / 58** 100 %	60 / 60 100 %	
Jednostranná p-hodnota vzorků žijících dárců vs. kadaverózní vzorky podle dvojice přístroj-pracovník		1,0	0,5	–

* Jeden replikát byl neplatný

** Dva replikáty byly neplatné

Senzitivita

HBV, HCV, HIV-1 skupiny M

Šedesát náhodně vybraných kadaverózních vzorků EDTA plazmy nereaktivní na HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2, HCV RNA a HBV DNA a klasifikovaných dle hladiny hemolýzy [středně hemolýzovaný vzorek (se slámovou až růžovou barvou) nebo vysoce hemolýzovaný vzorek (červený až tmavě červený nebo hnědý vzhled)], bylo rovnoměrně rozděleno do 5 klinických skupin pro přidání vzorku, každá s 12 vzorky ve skupině. Do každého kadaverózního vzorku ve skupině byl přidán jeden z pěti jedinečných klinických vzorků s jednou infekcí HIV-1 skupiny M, HCV nebo HBV o známém titru na konečnou koncentraci přibližně 3X detekční mez (3xLOD) dle hladiny hemolýzy. Každý vzorek byl před testováním manuálně naředěn 1:5 pomocí roztoku pro ředění kadaverózních vzorků **cobas®** TaqScreen. Pro tuto studii byly použity tři šarže činidel a každá skupina byla rozdělena mezi každou šarži na celkem 20 vzorků na šarži sady činidel na cíl. Pro šedesát testovaných kadaverózních vzorků pro každý cíl ve studii byla reaktivní hladina 100 % [95 % CI: 94 – 100 %] pro HIV-1 skupiny M, HCV a HBV pomocí testu **cobas®** TaqScreen MPX. Shrnutí výsledků testů senzitivity je uvedeno v tabulce 18.

HIV-1 skupiny O, HIV-2

Pro virové cíle HIV-1 skupiny O a HIV-2 byly použity primární standardy společnosti Roche, které byly přidány do kadaverózních vzorků EDTA plazmy v hodnotě přibližně 3x LOD podle příslušné hladiny hemolýzy [středně hemolýzovaný vzorek (se slámovou až růžovou barvou) nebo vysoce hemolýzovaný vzorek (červený až tmavě červený nebo hnědý vzhled)]. Tudiž tyto cíle měly jen jednu skupinu pro přidání vzorku. Každý vzorek byl před testováním manuálně naředěn 1:5 pomocí roztoku pro ředění kadaverózních vzorků **cobas®** TaqScreen. Pro tuto studii byly použity tři šarže činidel a každá skupina byla rozdělena mezi každou šarži na celkem 12 vzorků a každý byl testován na HIV-1 skupiny O a HIV-2. Pro dvanáct testovaných kadaverózních vzorků testovaných na HIV-1 skupiny O a HIV-2 byla reaktivní hladina 100 % [95 % CI: 73,5-100 %] testováno pomocí **cobas®** TaqScreen MPX. Shrnutí výsledků senzitivity je uvedeno v tabulce 18.

Tabulka 18
Shrnutí senzitivity testu cobas® TaqScreen MPX se středně hemolýzovanými (MH)
a vysoce hemolýzovanými (HH) kadaverózními vzorky

Šarže činidla	Hladina hemolýzy	HIV-1 skupina M	HIV-1 skupina O	HIV-2	HCV	HBV
Šarže 1	MH	14/14	3/3	3/3	14/14	14/14
	HH	6/6	1/1	1/1	6/6	6/6
	Celkem	20/20	4/4	4/4	20/20	20/20
Šarže 2	MH	13/13	3/3	3/3	13/13	13/13
	HH	7/7	1/1	1/1	7/7	7/7
	Celkem	20/20	4/4	4/4	20/20	20/20
Šarže 3	MH	16/16	3/3	3/3	16/16	16/16
	HH	4/4	1/1	1/1	4/4	4/4
	Celkem	20/20	4/4	4/4	20/20	20/20
Senzitivita		100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
		94,0 – 100 % CI	73,5 – 100 % CI	73,5 – 100 % CI	94,0 – 100 % CI	94,0 – 100 % CI

Specificita

Sedmdesát jednotlivých séronegativních vzorků od žijících pacientů (pre-mortem) a sedmdesát jedna jednotlivých séronegativních kadaverózních vzorků (post-mortem) vzorků EDTA plazmy bylo rozděleno do tří skupin a každá skupina vzorků byla testována jednou ze tří šarží soupravy testu **cobas® TaqScreen MPX**. Kadaverózní vzorky byly rozděleny do tří skupin o počtu 25, 21 a 25 vzorků a manuálně rozředěny 1:5 pomocí roztoku pro ředění kadaverózních vzorků **cobas® TaqScreen** a byly testovány dle postupu pro testování kadaverózních vzorků. Vzorky žijících pacientů byly rozděleny do tří skupin o počtu 25, 20 a 25 vzorků a manuálně rozředěny 1:6 se směsí EDTA plazmy (negativní na HIV-1 skupiny M, HIV-1 skupiny O, HIV-2 RNA, HCV RNA a HBV DNA) před testováním, aby tak bylo možné simulovat testování směsi se šesti vzorky, které je doporučeno pro test **cobas® TaqScreen MPX**.

Pro kadaverózní vzorky bylo získáno sedmdesát platných výsledků pomocí tří šarží souprav. Při testování byly původně tři vzorky reaktivní. Po opakovaném testování v duplikátech dva z těchto tří vzorků zůstaly reaktivní a jeden byl nereaktivní. Opakované testování pomocí testu **COBAS® AmpliScreen** na HIV-1, HCV a HBV potvrdilo, že všechny 3 vzorky byly reaktivní na HCV RNA. Tyto tři reaktivní vzorky byly vyřazeny z analýzy specificity, protože to byly skutečně virově pozitivní vzorky. U vzorků živých dárců bylo získáno sedmdesát platných výsledků pomocí tří stejných šarží souprav. Všechny sedmdesát výsledků bylo nereaktivních. Shrnutí výsledků testů specificity je uvedeno v tabulce 19.

Tabulka 19
Shrnutí testování specificity pomocí testu cobas® TaqScreen MPX
u kadaverózních vzorků a vzorků žijících dárců

Šarže činidla	Kadaverózní vzorky dárců (Ředěno 1:5 v soupravě pro ředění kadaverózních vzorků cobas® TaqScreen)			Vzorky žijících dárců (Ředěno 1:6 v negativní EDTA plazmě)		
	Počet platných výsledků	Počet nereaktivních výsledků	Počet reaktivních výsledků	Počet platných výsledků	Počet nereaktivních výsledků	Počet reaktivních výsledků
Šarže 1	24	24	0	25	25	0
Šarže 2	21	21	2*	20	20	0
Šarže 3	25	25	1**	25	25	0
Celkem	70	70	3	70	70	0
Specifická	100 %***			100 %		

* Po opětovném testování v duplikátu byl jeden vzorek nereaktivní a jeden vzorek byl reaktivní; podle testu COBAS® AmpliScreen HCV byly oba vzorky reaktivní.

** Po opětovném testování v duplikátu byl tento vzorek reaktivní; tento vzorek byl reaktivní podle testu COBAS® AmpliScreen HCV.

*** Specifická vypočítaná po odstranění 3 vzorků, u kterých byla potvrzena reaktivita testem COBAS® AmpliScreen HCV.

Plazma

Sérokonverzní panely

Třicet sérokonverzních panelů (10 HBsAg sérokonverzních panelů, 10 anti-HCV sérokonverzních panelů a 10 anti-HIV-1 sérokonverzních panelů) bylo testováno v neřaděném stavu a při řadění 1:96.

Sérokonverzní panely HIV-1

Všechny panely HIV-1 (100 %) testované neřaděné měly v testu cobas® TaqScreen MPX reaktivní výsledek před jakýmikoli sérologickými testy. Medián byl mezi 21 a 42 dny dřívější detekce s použitím testu cobas® TaqScreen MPX. Rovněž všechny panely (100 %) testované v řadění 1:96 měly v testu cobas® TaqScreen MPX reaktivní výsledek před jakýmikoli sérologickými testy. Medián panelů řaděných 1:96 byl mezi 9 a 28 dny dřívější detekce s použitím testu cobas® TaqScreen MPX.

Tabulka 20
Účinnost testu cobas® TaqScreen MPX u HIV-1 sérokonverzních panelů

	Počet dnů dřívější detekce než HIV protilátka									
	Abbott HIV-1 EIA		Systém bioMérieux Vironostika HIV-1 Microelisa		Genetic Systems rLAV EIA		Abbott HIV-1/2 EIA		Genetic Systems HIV-1/2	
	Test cobas® TaqScreen MPX									
	Neřaděný	1:96	Neřaděný	1:96	Neřaděný	1:96	Neřaděný	1:96	Neřaděný	1:96
Průměr	22	12	40	27	27	16	21	10	28	19
Medián	21	12	42	28	32	14	22	9	24	14
Min, Max	10, 33	5, 18	16, 67	16, 36	7, 40	7, 30	2, 38	2, 28	14, 49	14, 37

Poznámka: min = minimum; max = maximum.

Sérokonverzní panely HCV

Všechny HCV panely (100 %) testované neřaděné pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX měly reaktivní výsledek buď dříve než sérologický test Abbott 2.0 Anti-HCV (medián = 37 dní) nebo dříve než sérologický test Ortho ELISA Anti-HCV EIA 3.0 (medián = 32 dní). Rovněž všechny panely (100 %) testované v ředění 1:96 měly reaktivní výsledek buď před sérologickým testem Abbott 2.0 Anti-HCV (medián = 34 dní) nebo před sérologickým testem Ortho ELISA Anti-HCV EIA 3.0 (medián = 32 dní).

Tabulka 21
Účinnost testu **cobas[®] TaqScreen MPX u HCV sérokonverzních panelů**

	Počet dnů dřívější detekce než HCV protilátka			
	Abbott 2.0 Anti-HCV		Ortho ELISA Anti-HCV EIA 3.0	
	Test cobas [®] TaqScreen MPX			
	Neřaděný	1:96	Neřaděný	1:96
Průměr	34	32	31	28
Medián	37	34	32	32
Min, Max	3, 49	3, 49	7, 39	7, 39

Poznámka: min = minimum; max = maximum.

Sérokonverzní panely HBV

Všechny HBV panely (100 %) testované neřaděné pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX měly reaktivní výsledek buď před sérologickým testem Abbott Auszyme[®] Monoclonal HBsAg (medián = 32 dní) nebo před testem Genetic Systems HBsAg (2.0) (medián = 37 dní). Z testovaných panelů s ředěním 1:96 mělo 90 % (9/10) reaktivní výsledek v testu **cobas**[®] TaqScreen MPX před sérologickým testem Abbott Auszyme Monoclonal HBsAg (medián = 18 dní) a 100 % mělo reaktivní výsledek v testu **cobas**[®] TaqScreen MPX před testem Genetic Systems HBsAg (2.0) (medián = 15 dní). U panelu testovaného při ředění 1:96, kde testem Abbott Auszyme Monoclonal HbsAg byly detekovány reaktivní výsledky před reaktivními výsledky u testu **cobas**[®] TaqScreen MPX, byl test Abbott Auszyme Monoclonal HBsAg reaktivní ve dnech 21 a 25, nereaktivní ve dnech 28 a 35 a poté reaktivní 39 den, zatímco reaktivita pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX byla zjištěna 35 den a později.

Tabulka 22
Účinnost testu **cobas[®] TaqScreen MPX u HBV sérokonverzních panelů**

	Počet dnů dřívější detekce než HBsAg			
	Abbott Auszyme Monoclonal HBsAg		Genetic Systems HBsAg (2.0)	
	Test cobas [®] TaqScreen MPX			
	Neřaděný	1:96	Neřaděný	1:96
Průměr	33	15	36	17
Medián	32	18	37	15
Min, Max	11, 51	-14, 33	14, 47	3, 40

KLINICKÉ VÝSLEDKY

Reaktivita v populaci dárců plné krve

Klinická specifita testu **cobas**[®] TaqScreen MPX byla hodnocena testováním náhodně zvoleného odběru darované plné krve ve třech externích laboratořích. Testování bylo prováděno jak na samostatných vzorcích darované krve, tak na smíchaných vzorcích připravených z odpovídajících alikvotních částí jednotlivých dárcovských vzorků. Pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX bylo testováno celkem 72 281 vzorků dárcovské krve při klinické specifitě 99,98 % (72 266 / 72 281; 95 % CI = 99,97 až 99,99). U vzorků dárcovské krve testovaných ve formě směsi byly reaktivní rozlišeny dalším testováním vzorků jednotlivých dárců obsažených ve směsi. Během testování klinické specifity byl jeden vzorek dárce určen jako pozitivní; dárce byl stanoven HBV DNA pozitivní, což stávajícími metodami laboratoře nebylo detekováno. Souhrn výsledků testů pro **cobas**[®] TaqScreen MPX Test ve směsích je uveden níže v tabulce 23.

Tabulka 23
Reaktivita směsi vzorků krve dobrovolných dárců

Kategorie	Směsi	Procentní podíl
Počet testovaných směsí	10 090	100 %
Nereaktivní směsi	10 054	99,64 %
Zpočátku reaktivní směsi	36	0,36 %
Zpočátku reaktivní směsi s pozitivním stavem dárce	23	0,23 %
Pozitivní směsi vzhledem k odhalení viru	1	0,01 %
Zpočátku reaktivní směsi s negativním stavem dárce (falešně pozitivní)	12	0,12 %

Reaktivita v populaci dárců plazmy

Celkem 1 130 směsí o počtu 96 představující 108 216 dárcovských vzorků od 24 238 od dárců plazmy bylo začleněno do analýzy reaktivity směsí (všimněte si, že 178 směsí mělo 90 až 95 členů). Z těchto 1 130 směsí bylo 1 094 (96,8 %) nereaktivních v testu **cobas**[®] TaqScreen MPX a 36 (3,2 %) bylo reaktivních. Z 1 094 nereaktivních směsí 1 046 směsí obsahovalo všechny dárcovské vzorky nereaktivní a 13 směsí obsahovalo alespoň jeden vzorek pozitivní. Z těchto 13 směsí obsahovalo 12 směsí pozitivní dárcovský vzorek v důsledku pozitivního sérologického výsledku na anti-HCV nebo sérologického výsledku na anti-HIV-1/2 (ve 4 z těchto případů se potvrdilo, že sérologický výsledek byl falešně pozitivní) a 1 směs obsahovala vzorek, který měl pozitivní status v důsledku pozitivního výsledku ve směsi v testu COBAS[®] AmpliScreen HBV (tento vzorek byl v testu **cobas**[®] TaqScreen MPX reaktivní při individuálním testování). Další 35 nereaktivních směsí (3,1 %) obsahovalo alespoň jeden nejasný dárcovský vzorek.

Z 36 reaktivních směsí v testu **cobas**[®] TaqScreen MPX 29 směsí obsahovalo alespoň jeden pozitivní vzorek a 7 směsí obsahovalo všechny vzorky negativní. Z těchto 29 směsí bylo 5 směsí každá s jedním vzorkem identifikovaným jako pozitivní. Všechny těchto 5 pozitivních vzorků bylo reaktivních ve směsích v testu **cobas**[®] TaqScreen MPX a negativní (ve směsích) v testech COBAS[®] AmpliScreen a sérologii (individuální dárcovský vzorek). Tyto dárcovské vzorky byly pozitivní v testech COBAS[®] AmpliScreen (4 pozitivní v testu COBAS[®] AmpliScreen HBV a 1 pozitivní v testu COBAS[®] AmpliScreen HIV-1 v1.5) buď ve směsích v dalších dárcovských vzorcích nebo při individuálním testování při následném sledování. Tito dárce byli rovněž pozitivní v testech COBAS[®] AmpliScreen HBV nebo HIV-1 při individuálním testování při prvním odběru.

Výsledky testů 1 130 směsí shrnuje tabulka 24.

Tabulka 24
Reaktivita testu cobas® TaqScreen MPX se směsmi až z 96 vzorků plazmy dárců

Kategorie	Počet směsí	Procento testovaných směsí
Celkem testováno směsí o velikosti 96*:	1 130	100
Nereaktivní směsi**	1 094	96,8
Nereaktivní směsi se všemi dárcovskými vzorky negativními	1 046	92,6
Nereaktivní směsi s alespoň jedním dárcovským vzorkem pozitivním	13	1,2
Nereaktivní směsi s alespoň jedním nejasným dárcovským vzorkem	35	3,1
Reaktivní směsi**	36	3,2
Reaktivní směsi s alespoň jedním dárcovským vzorkem pozitivním	29	2,6
Reaktivní směsi se všemi dárcovskými vzorky s negativním dárcovským statutem (falešně reaktivní směsi)	7	0,6

* 178 z 1 130 směsí má mezi 90 až 95 vzorků.

** Dárcovský stav byl přiřazen na základě výchozích a dalších (jestliže byly provedeny testy) výsledcích testu COBAS AmpliScreen, sérologických výsledcích a následném testování (dle potřeby).

Klinická specifita testu **cobas**® TaqScreen MPX pro plazmu byla stanovena analýzou 107 170 vyhodnitelných dárcovských vzorků od 24 194 dárců testovaných ve směsích. Vyhodnitelné dárcovské vzorky měly platné výsledky testu **cobas**® TaqScreen MPX a COBAS AmpliScreen HBV, HCV a HIV-1 na základě testování směsí a platných sérologických výsledků (napříč analyty) na základě testování jednotlivých dárcovských vzorků. Z těchto 107 170 vyhodnitelných dárcovských vzorků bylo 107 127 přiřazen dárcovský stav negativní, z čehož 107 127 bylo vyhodnoceno testem **cobas**® TaqScreen MPX jako nereaktivní, po testu pro rozlišení pomocí algoritmu pro testování směsí, což odpovídá klinické specifitě 100 % (95 % CI = 99,997 % až 100 %). Sedm falešně reaktivních směsí v testu **cobas**® TaqScreen MPX z 96, které obsahovaly všechny nereaktivní dárcovské vzorky testované pomocí **cobas**® TaqScreen MPX po testu pro rozlišení s použitím algoritmu pro testování směsí.

LITERATURA

1. Kahn JO, Walker BD. Current Concepts: acute human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med.* 1998; **339**:33-39.
2. McCutchan FE. Global Epidemiology of HIV. *Journal of Medical Virology*, **78**:S7-S12 (2006).
3. Centers for Disease Control and Prevention (www.cdc.gov). Fact Sheet – Human Immunodeficiency Virus Type 2. October 1998.
4. Reeves JD and Doms WR. Human Immunodeficiency Virus Type 2. *Journal of General Virology* (2002), **83**:1253-1265.
5. Choo Q-L, Weiner AJ, Overby LR, et al. Hepatitis C virus: the major causative agent of viral non-A, non-B hepatitis. *Br Med Bull.* 1990; **46(2)**:423-441.
6. Alter HJ. Descartes before the horse: I clone, therefore I am: the hepatitis C virus in current perspective. *Ann Intern Med.* 1991; **115(8)**:644-649.
7. Chisari FV, Ferrari C. Viral Hepatitis. In: Nathanson N et al., eds. *Viral Pathogenesis*, Philadelphia, Lippincott-Raven, 1997: 745-748.
8. Hollinger FB, Liang TJ. Hepatitis B Virus. In: Knipe DM et al., eds. *Fields Virology*, 4th ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 2971-3036.
9. Mahoney FJ, Kane M. Hepatitis B Vaccine. In: Plotkin SA and Orenstein WA, eds. *Vaccines*, 3rd ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1999: 158-182.
10. Viral Hepatitis Prevention Board. *Prevention and Control of Hepatitis B in the Community*. Communicable Disease Series, 1996: 1.
11. World Health Organization. *Introduction of Hepatitis B Vaccine into Childhood Immunization Services*. Geneva, WHO, 2001 (unpublished document WHO/V&B/01.31 available on request from Department of Vaccines and Biologicals, World Health Organization, 1211 Geneva 27, Switzerland).
12. Murthy KK, Henrard DR, Eichberg JW, et al. Redefining the HIV-infectious window period in the chimpanzee model: evidence to suggest that viral nucleic acid testing can prevent blood-borne transmission. *Transfusion.* 1999; **39**:688-693.
13. Stramer SL, Glynn SA, Kleinman SH, et al. Detection of HIV-1 and HCV infections among antibody-negative blood donors by nucleic acid-amplification testing. *N Engl J Med.* 2004; **351**:760-768.
14. Busch MP, Glynn SA, Stramer SL, et al. a new strategy for estimating risks of transfusion-transmitted viral infections based on rates of detection of recently infected donors. *Transfusion.* 2005; **45**:254-264.
15. Offergeld R, Faensen D, Ritter S, Hamouda O. Human immunodeficiency virus, hepatitis C and hepatitis B infections among blood donors in Germany 2000-2002: risk of virus transmission and the impact of nucleic acid amplification testing. *Euro Surveill.* 2005; **10(2)**:8-11.
16. Hitzler WE, Runkel S. Routine HCV PCR screening of blood donations to identify early HCV infection in blood donors lacking antibodies to HCV. *Transfusion.* 2001; **41**:333-337.
17. Roth WK, Weber M, Petersen D, et al. NAT for HBV and anti-HBc testing increase blood safety. *Transfusion.* 2002; **42**:869-875.
18. Biswas R, Tabor E, Hsia CC, et al. Comparative sensitivity of HBV NATs and HBsAg assays for detection of acute HBV infection. *Transfusion.* 2003; **43**:788-798.
19. Minegishi K, Yoshikawa A, Kishimoto S, et al. Superiority of minipool nucleic acid amplification technology for hepatitis B virus over chemiluminescence immunoassay for hepatitis B surface antigen screening. *Vox Sang.* 2003; **84**:287-291.

20. Kleinman SH, Strong DM, Tegtmeier GE, et al. Hepatitis B virus (HBV) DNA screening of blood donations in minipools with the COBAS[®] AmpliScreen HBV test. *Transfusion*. 2005; **45**:1247-1257.
21. Busch MP, Lee LL, Satten GA, et al. Time course of detection of viral and serologic markers preceding human immunodeficiency type 1 seroconversion: implications for screening blood and tissue donors. *Transfusion*. 1995; **35**:91-97.
22. Yoshikawa A, Gotanda Y, Itabashi M, et al. Hepatitis B NAT virus-positive blood donors in the early and late stages of HBV infection: analyses of the window period and kinetics of HBV DNA. *Vox Sang*. 2005; **88**:77-86.
23. Comanor L and Holland P. Hepatitis B virus blood screening: unfinished agendas. *Vox Sanguinis* 2006; **91**:1-12.
24. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990; **93**:125-128.
25. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995; **373**:487-493.
26. 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**:869-878.
27. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith, R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY)*. 1992; **10**:413-417.
28. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996; **6**:986-994.
29. Richmond JY, McKinney RW, eds. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. HHS Publication Number (CDC) 99-8395, 1999.
30. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Third Edition. CLSI Document M29-A3 Wayne, PA:CLSI, 2005.
31. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations. 41st ed. Quebec, Canada. 2000.
32. Saldanha J, Gerlich W, Lelie N, Dawson P, Heermann K, Heath a & The WHO Collaborative Study Group: An international collaborative study to establish a World Health Organization international standard for hepatitis B virus DNA nucleic acid amplification techniques. *Vox Sang*. 2001; **80**:63-71.
33. Saldanha J, Heath A, Aberham C, Albrecht J, Gentili G, Gessner M and Pisani G: WHO Collaborative Study to Establish a Replacement WHO International Standard for HCV RNA NAT Assays. WHO/BS/03.1958 Expert Committee on Biological Standardization, Geneva, 17 to 21 February 2003.

Informace o revizi dokumentu

Doc Rev. 5.0
3/2010

Kapitola **DALŠÍ POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ JE VŠAK PRODÁVÁN SAMOSTATNĚ, Stojany a spotřební materiál** byla aktualizována vzhledem ke změně čísla dílu pro stojan SPU COBAS® AmpliPrep (P/N: 05471664001).

Kapitola **ČINIDLA** byla aktualizována a obsahuje nyní varování pro konzervant ProClin® 300.

Kapitola **NÁVOD K POUŽITÍ, Amplifikace a detekce** byla revidována následovně:

- Přeneste stojan SK24 obsahující zpracované vzorky do analyzátoru COBAS® TaqMan®. Analyzátor COBAS® TaqMan® automaticky zahájí amplifikaci a detekci. Cyklus na analyzátoru COBAS® TaqMan® musí být zahájen do 1 hodiny od dokončení přípravy vzorků pro daný stojan SK24. Výsledky ze stojanů SK24, které nejsou přeneseny do 1 hodiny budou neplatné, s výjimkou reaktivních výsledků v platné dávce, která je označena za reaktivní.

Byly aktualizovány výroky o obchodních značkách.

Doc Rev. 4.0
11/2009

Oddíl **ÚČEL POUŽITÍ** byl aktualizován a zahrnuje skríníng vzorků od dárců plazmy a kadaverózních orgánů a tkání.

Pro testování kadaverózních vzorků testem **cobas® TaqScreen MPX**, uživatel potřebuje soupravu pro ředění kadaverózních vzorků **cobas® TaqScreen**.

Oddíl **SOUHRN A VÝKLAD TESTU** byl doplněn aktuálními informacemi.

Oddíl **Automatická tvorba směcí vzorků a pipetování pomocí pipetoru Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD** byl aktualizován:

- Je možné použít pipetor Hamilton MICROLAB STARlet IVD.
- Vytvoření destičky s hlubokými jamkami je volitelné.
- Při testování kadaverózních vzorků by vzorek měl nejdříve být manuálně zředěn v poměru 1:5 v přípravku pro ředění kadaverózních vzorků **cobas® TaqScreen [CADV SPEC DIL]** před pipetováním pomocí pipetoru Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD.

Oddíl **ČINIDLA** byl aktualizován a zahrnuje informace o soupravě pro ředění kadaverózních vzorků **cobas® TaqScreen**.

Oddíl **POŽADAVKY NA SKLADOVÁNÍ a MANIPULACI** zahrnuje tyto aktualizace:

- Software AMPLILINK monitoruje celkovou dobu vložení kazet s činidly v přístroji COBAS® AmpliPrep a po celkově 40 hodinách použití kazety zablokuje.
- Software AMPLILINK nemonitoruje nepřetržité použití kazet s činidly v přístroji COBAS® AmpliPrep, ani počet cyklů s kazetami v přístroji. Je odpovědností uživatele zlikvidovat kazety s činidly po 24 hodinách nepřetržitého používání nebo po 6 cyklech na přístroji.
- Skladujte **CADV SPEC DIL** při teplotě 15 až 30 °C. Ředící roztok je stálý do vyznačeného data expirace. Po otevření je třeba jakoukoliv nespotebvanou část ředícího roztoku v nádobě zlikvidovat.

Oddíl **BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ** byl aktualizován:

- Souprava pro ředění kadaverózních vzorků **cobas® TaqScreen** se nesmí používat po datu expirace.
- Mělo by se předcházet použití nadměrně hemolýzovaných vzorků od žijících dárců.

Oddíl **ODBĚR, SKLADOVÁNÍ a VYTVÁŘENÍ SMĚSÍ VZORKŮ** byl upraven a aktualizován:

Vzorky žijících dárců

- Krev odebraná s použitím EDTA je možné před oddělením plazmy skladovat až 72 hodin při 2 – 30 °C a poté až 48 hodin při 2 – 8 °C. Pro skladování delší pěti dnů oddělte plazmu od červených krvinek odstředěním při 800-1600 x g po dobu 20 minut. Po oddělení lze plazmu skladovat při 2 – 8 °C až sedm dní a poté až 30 dní při ≤ -18 °C. EDTA plazmu lze zmrazit a rozmrazit maximálně třikrát (3x).
- Krev odebraná s použitím CPD, CPDA1 nebo CP2D může být před oddělením plazmy skladována až 72 hodin při teplotě 2 – 30 °C. Pro skladování delší než 72 hodin oddělte plazmu od červených krvinek odstředěním při 800-1600 x g po dobu 20 minut. Po oddělení lze plazmu skladovat při 2 – 8 °C až sedm dní a poté až 30 dní při ≤ -18°C. CPD, CPDA1 a CP2D plazma může být zmrazena a rozmrazena maximálně třikrát (3).
- Aferéza plazmy s použitím ACDA nebo 4 % citrátu sodného může být uchována až 72 hodin od doby odběru při teplotě 2 – 30 °C. Plazma z aferézy může být skladována až 30 dní při teplotě ≤ -18 °C.
- Zakryté destičky s hlubokými jamkami mohou být uskladněny při teplotě 2 – 8 °C po dobu až sedmi dní od separace plazmy od červených krvinek. Alternativně je plazmu možno skladovat při teplotě ≤ -18 °C až 7 dní.

Kadaverózní vzorky

- Při testování vzorků od kadaverózních dárců jsou vzorky vykazující slámovou až růžovou barvu klasifikovány jako středně hemolýzované a vzorky vykazující červenou až tmavě červenou nebo hnědou barvu jsou klasifikovány jako silně hemolýzované vzorky.
- Kadaverózní krevní vzorky odebrané do EDTA antikoagulačních zkumavek nebo do séra lze testovat pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX. Postupujte dle pokynů výrobce vzorkové zkumavky. Zvýšené teploty ovlivňují stabilitu vzorků.
- Kadaverózní krev odebranou s použitím EDTA antikoagulantu je možné před oddělením plazmy skladovat až 24 hodin při 2 – 30 °C a poté až 24 hodin při 2 – 25 °C. Pro skladování delší dvou dnů oddělte plazmu od červených krvinek odstředěním při 800-1600 x g po dobu 20 minut. Po oddělení lze plazmu uchovávat při teplotě 2 – 8 °C po dalších osm dní. Alternativně je plazmu možno skladovat při teplotě ≤ -18 °C až 30 dní. Kadaverózní EDTA plazmu lze zmrazit a rozmrazit maximálně třikrát (3x).
- Kadaverózní krev odebranou jako sérum je možné před odstředěním skladovat až 24 hodin při 2 – 30 °C a poté až 24 hodin při 2 – 25 °C. Pro skladování delší dvou dnů oddělte sérum od sraženin odstředěním při 800-1600 x g po dobu 20 minut. Po oddělení lze sérum uchovávat při teplotě 2 – 8 °C po další tři dny. Alternativně je sérum oddělené od sraženin možno skladovat při teplotě ≤ -18 °C až 15 dní. Kadaverózní vzorky séra lze zmrazit a rozmrazit maximálně třikrát (3x).
- Kadaverózní vzorky zředěné 1:5 v přípravku pro ředění kadaverózních vzorků **cobas**[®] TaqScreen je možné skladovat až 1 den při 2-8 °C a poté po promíchání (pipetováním nahoru a dolů čtyřikrát (4x) v každé zkumavce), testovat pomocí **cobas**[®] TaqScreen MPX.
- Pokud mají být vzorky přepravovány, musí být zabaleny a označeny dle platných státních a mezinárodních předpisů o přepravě vzorků a etiologických agens.³¹
- Falešně pozitivní výsledky mohou nastat, pokud vzorky nebudou patřičně kontrolovány během manipulace a zpracování vzorků.

Oddíl **VYTVÁŘENÍ SMĚSÍ a PIPETOVÁNÍ VZORKŮ** byl upraven a aktualizován: V případě plazmy, pokud jsou pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX detekovány reaktivní směsi, použijte se pipetor Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD k pipetování jednotlivých vzorků pomocí postupů pro 2D tvorbu směsí nebo pro tvorbu směsí pro ověření, viz *příručka obsluhy pro systém cobas s 201*.

Oddíl **POZNÁMKY K POSTUPU** byl upraven a aktualizován:

Činidla

- Každá souprava testu **cobas**[®] TaqScreen MPX obsahuje dostatečné množství pro zpracování 96 testů, které se doporučuje provést v dávkách složených až z 24 testů na stojanu SK24. Jeden replikát negativní kontroly a jeden replikát každé pozitivní kontroly musí být zpracován u každé dávky vzorků nebo stojanu SK24. Kontroly se pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX zpracovávají stejně jak při testování vzorků živých dárců, tak i testování vzorků zemřelých dárců.
- Každá souprava pro ředění kadaverózních vzorků **cobas**[®] TaqScreen obsahuje dostatečné množství pro zpracování 96 testů, které se doporučuje provést v dávkách složených až z 24 testů na stojanu SK24. Jeden replikát negativní kontroly a jeden replikát každé pozitivní kontroly musí být zpracován u každé dávky vzorků nebo stojanu SK24. Kontroly se pomocí testu **cobas**[®] TaqScreen MPX zpracovávají stejně jak při testování vzorků živých dárců, tak i testování vzorků zemřelých dárců.

Rozlišovací testy

- Žijící dárci: Postupy pro provádění těchto rozlišovacích testů naleznete v příbalových letáčích testů COBAS[®] AmpliScreen HBV, COBAS[®] AmpliScreen HCV, v2.0 a COBAS[®] AmpliScreen HIV-1, v1.5.
- Kadaverózní dárci: Samostatný reaktivní kadaverózní vzorek může být otestován pomocí rozlišovacích testů COBAS[®] AmpliScreen HBV, COBAS[®] AmpliScreen HCV, v2.0 a COBAS[®] AmpliScreen HIV-1, v1.5. Postupy pro provádění těchto rozlišovacích testů s kadaverózními vzorky naleznete v příbalových letáčích testů COBAS[®] AmpliScreen HBV, COBAS[®] AmpliScreen HCV, v2.0 a COBAS[®] AmpliScreen HIV-1, v1.5.

Oddíl **Pipetování kontrol a vzorků pomocí pipetoru Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD** byl upraven a aktualizován:

- Kontroly míchejte opatrným obrácením třikrát; nesmí přitom dojít k vytvoření bublin.
- V okamžiku instalace systému **cobas s 201** je pro testování kadaverózních vzorků použití destiček s hlubokými jamkami vypnuto.
- Buďte opatrní, abyste nepoškodili identifikační čárový kód na zkumavkách se vzorky a adaptérech zkumavek s kontrolami. V případě poškození nebude systém schopen rozeznat vzorky nebo kontroly.
- V případě samostatných kadaverózních vzorků napipetujte 2000 μ l **CADV SPEC DIL** do příslušně označených zkumavek 13 x 100 mm, přidejte 500 μ l kadaverózního vzorku do každé zkumavky a promíchejte každý vzorek pipetováním nahoru a dolů čtyři (4x) krát. Zaveďte rozředěné kadaverózní vzorky, spotřební materiál a kontroly do pipetoru Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD. Po zavedení rozředěných kadaverózních vzorků, spotřebního materiálu a kontrol přístroj přenese kontroly a rozředěné vzorky do S-zkumavek. Rozředěné kadaverózní vzorky a kontroly MPX jsou v otevřených zkumavkách stabilní až 6 hodin.
- Po přenesení do S-zkumavek jsou všechny virové cíle a kontroly stabilní v S-zkumavkách 6 hodin.
- Všechny virové cíle v destičkách s hlubokými jamkami jsou stabilní 7 dní při teplotě 2-8 °C nebo 7 dní při ≤ -18 °C.

Oddíl **Extrakce nukleových kyselin z pipetovaných vzorků a kontrol** byl upraven a aktualizován:

- Odstraňte obal ze svazku jednotky na zpracování vzorků (SPU). Nedotýkejte se pásky a plastového krytu.
- Jednotky na zpracování vzorků (SPU) otočte tak, abyste viděli velký štítek, a svazek SPU zarovnejte do krajní pravé polohy na stojanu SPU.
- Odstraňte pásku a plastový kryt z SPU umístěné ve stojanu. Ujistěte se, že jsou všechny SPU ve stojanu zatlačeny dolů, vyrovnány a dobře usazeny. Vyčnívající SPU mohou způsobit poruchu přístroje. Netlačte na S-špičku v SPU.
- Zasuňte alespoň požadovaný počet stojanů na K-zkumavky a K-špičky do zařízení COBAS® AmpliPrep na pozice M, N, O nebo P.

Oddíl **KONTROLA KVALITY** byl upraven a aktualizován:

- Neplatnost výsledků na základě neúspěšné kontroly automaticky provádí software PDM.
- Aby měly vzorků dárců platný nereaktivní (–) výsledek testu, musí být platná asociovaná vnitřní kontrola; v opačném případě je nereaktivní výsledek neplatný a vzorek dárce musí být znovu testován.

Oddíl **VÝSLEDKY** byl upraven a aktualizován:

- Směsi vzorků plazmy dárců

V případě směsi plazmy jsou reaktivní směsi rozlišeny na jednotlivé reaktivní vzorky pomocí buď 2D tvorby směsí nebo pomocí tvorby směsí pro ověření, viz *příručka obsluhy pro systém cobas s 201*. Případný jednotlivý vzorek, který je reaktivní, může být dále testován pomocí testů COBAS® AmpliScreen pro rozlišení viru.

- **Samostatné testování.** Rozlišovací testy.

Postup pro rozlišovací testování kadaverózních vzorků na HIV-1 skupiny M, HCV a HBV naleznete na příbalových letáčích testů COBAS® AmpliScreen HBV, COBAS® AmpliScreen HCV, v2.0 a COBAS® AmpliScreen HIV-1, v1.5.

Oddíl **PROCEDURÁLNÍ OMEZENÍ** byl upraven a aktualizován:

- V případě testování kadaverózních vzorků byl test **cobas®** TaqScreen MPX schválen pouze v kombinaci se soupravou pro ředění kadaverózních vzorků **cobas®** TaqScreen, kontrolní soupravou **cobas®** TaqScreen MPX, promývacím činidlem **cobas®** TaqScreen a systémem **cobas s 201**.
- Uživatelé by měli dodržovat své vlastní zásady/postupy při provádění studií pro stanovení rozdílů mezi technologiemi.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY byly kategorizovány pro vzorky žijících dárců, vzorky kadaverózních dárců a plazmu.

Vzorky žijících dárců

- Byly zařazeny výsledky reprodukovatelnosti při 1X LOD (tabulka 2).
- Byla aktualizována analýza PROBIT pro virové standardy v tabulce 3. Standardy společnosti Roche HIV-1 skupiny O RNA a HIV-2 RNA jsou zjistitelné dle referenčního panelu šarže O1 CBER HIV-1 Subtype RNA Reference Panel #1a dle panelu CBER HIV-2 RNA Lot Release Panel ISD.
- Byly opraveny koncentrace HIV-1 skupiny O RNA v tabulce 5.
- Byly opraveny koncentrace HIV-2 RNA v tabulce 6.
- Byla aktualizována senzitivita a inkluzivita genotypů/subtypů pro HIV-1 skupiny M (tabulka 9).

Kadaverózní vzorky dárců

- Byly zařazeny výsledky reprodukovatelnosti (tabulky 16 a 17).
- Byly zařazeny výsledky senzitivity (tabulka 18).
- Byly zařazeny výsledky specifity (tabulka 19).

Plazma

- Byly zařazeny údaje o výkonnosti u sérokonverzních panelů (tabulky 20, 21 a 22).

KLINICKÉ VÝSLEDKY

- Byly zařazeny výsledky reaktivity pro směsi až 96 položek dárcovské plazmy (tabulka 24).

Byl aktualizován oddíl **LITERATURA**.

Byly aktualizovány adresy dceřiných společností.

Máte-li jakékoli otázky, kontaktujte vašeho místního zástupce společnosti Roche.



Roche Molecular Systems, Inc., Branchburg, NJ 08876 USA
Člen Roche Group



Distributed by

Roche Diagnostics (Schweiz) AG
Industriestrasse 7
6343 Rotkreuz, Switzerland

Roche Diagnostics
2, Avenue du Vercors
38240 Meylan, France

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Straße 116
68305 Mannheim, Germany

Distributore in Italia:
Roche Diagnostics S.p.A.
Viale G. B. Stucchi 110
20052 Monza, Milano, Italy

Roche Diagnostics S.L.
Avda. Generalitat, 171-173
E-08174 Sant Cugat del Vallès
Barcelona, Spain

Distribuidor em Portugal:
Roche Sistemas de Diagnósticos Lda.
Estrada Nacional, 249-1
2720-413 Amadora, Portugal

Roche Diagnostica Brasil Ltda.
Av. Engenheiro Billings, 1729
Jaguará, Building 10
05321-010 São Paulo, SP Brazil

ROCHE, COBAS, COBAS S, TAQMAN, TAQSCREEN, AMPLISCREEN, AMPLICOR, AMPLILINK, AMPERASE, HIGH PURE a AMPLIPREP jsou obchodní známky společnosti Roche.

ROCHE RESPONSE CENTER je servisní známka společnosti Roche.

MICROLAB je obchodní známka společnosti Hamilton Company.

ARMORED RNA je patentovaná technologie vyvinutá ve spolupráci Ambion, Inc. a Cenetron Diagnostics, LLC. U.S. patenty č. 5,677,124, č. 5,919,625 a č. 5,939,262 a ostatní patenty v jednání. ARMORED RNA je obchodní známka společností Ambion a Cenetron.

PROCLIN je obchodní známka společnosti Rohm and Haas Company.

MICROCIDE SQ je obchodní známka společnosti Global Biotechnologies, Inc.

PRISM a AUSZYME jsou obchodní známky společnosti Abbott Laboratories Corporation.

ORTHO je obchodní známka společnosti Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.

Kyaninová barviva v tomto produktu podléhají patentovým právům GE Healthcare Bio-Sciences Corp. a Carnegie Mellon University a jsou licencovány společnosti Roche pouze za účelem výzkumu a jako součást diagnostických sad *in-vitro*. Jakékoli užití jiné než za účelem výzkumu a jako součást diagnostických sad *in-vitro* vyžaduje sublicence od GE Healthcare Bio-Sciences Corp., Piscataway, New Jersey, USA a Carnegie Mellon University, Pittsburgh, Pensylvánie, USA.

Copyright 2010 Roche Molecular Systems, Inc. Všechna práva vyhrazena.

3/2010
Doc Rev. 5.0

(04788397001-07ENGL)
05066620001-04CS



Roche Diagnostics GmbH
D-68298 Mannheim

