

cobas[®] MPX

Мультиплексный тест для обнаружения нуклеиновых кислот ВИЧ, ВГС и ВГВ в системах cobas[®] 5800/6800/8800

Для диагностики *in vitro*

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

Содержание

Назначение	4
Описание теста	4
Реагенты и материалы	7
Реагенты и контроли cobas® MPX	7
Реагенты cobas omni для пробоподготовки.....	11
Требования к условиям хранения реагентов.....	12
Требования к условиям использования реагентов для системы cobas® 5800.....	12
Требования к условиям использования реагентов для систем cobas® 6800/8800	13
Дополнительные необходимые материалы для системы cobas® 5800	13
Дополнительные необходимые материалы для систем cobas® 6800/8800.....	14
Необходимое оборудование и программное обеспечение	14
Меры предосторожности и правила работы.....	15
Меры предосторожности.....	15
Обращение с реагентами	15
Надлежащая лабораторная практика	16
Сбор, транспортировка, хранение и пулирование образцов.....	16
Образцы крови от живых доноров.....	16
Образцы крови от трупных доноров.....	19
Инструкция по работе с набором	20
Автоматизированное раскапывание и пулирование образцов (опционально)	20
Рекомендации по процедуре.....	20
Постановка теста cobas® MPX в системе cobas® 5800.....	21
Постановка теста cobas® MPX в системах cobas® 6800/8800	22
Результаты	23
Контроль качества и валидность результатов в системе cobas® 5800.....	23
Результаты тестирования контролей в системе cobas® 5800.....	23
Контроль качества и валидность результатов в системах cobas® 6800/8800.....	24
Интерпретация результатов.....	25
Дополнительная информация о интерпретации результатов в системе cobas® 5800	26
Повторное тестирование индивидуальных образцов.....	26
Ограничения процедуры.....	26
Эквивалентность/сравнение систем	26

Доклинические испытания теста в системах cobas® 6800/8800	27
Основные характеристики набора	27
Образцы от живых доноров	27
Предел обнаружения (LoD)	27
Воспроизводимость	32
Верификация генотипов.....	34
Сероконверсионные панели.....	38
Аналитическая специфичность	41
Аналитическая специфичность: интерферирующие вещества	42
Корреляция	43
Системные ошибки.....	44
Перекрестная контаминация.....	44
Образцы от трупных доноров.....	45
Чувствительность	45
Специфичность	46
Воспроизводимость	46
Клинические испытания теста в системах cobas® 6800/8800	48
Воспроизводимость.....	48
Клиническая специфичность.....	51
Реактивность в популяции доноров крови	51
Реактивность в популяции доноров плазмы	52
Исследования в группах высокого риска	53
Клиническая чувствительность	55
Исследования в NAT-положительных популяциях.....	55
Клиническая чувствительность в популяциях, сероположительных по ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2	56
Сероположительная популяция по ВИЧ-1 группы О.....	56
Сероположительная по ВИЧ-2 популяция	57
Подтверждение результатов серологии.....	58
Дополнительная информация	59
Основные характеристики теста	59
Условные обозначения.....	60
Производитель и импортёр.....	61
Товарные знаки и патенты.....	61
Авторское право	61
Литература	62
Редакция документа	65

Назначение

Тест **cobas® MPX**, предназначенный для использования на системах **cobas® 5800/6800/8800**, является качественным тестом *in vitro* для прямого обнаружения РНК вируса иммунодефицита человека типа 1 (ВИЧ-1) группы М, РНК ВИЧ-1 группы О, РНК вируса иммунодефицита человека типа 2 (ВИЧ-2), РНК вируса гепатита С (ВГС) и ДНК вируса гепатита В (ВГВ) в плазме и сыворотке крови человека.

Данный тест предназначен для скрининга донорских образцов на РНК ВИЧ-1 группы М, РНК ВИЧ-1 группы О, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ в образцах плазмы и сыворотки доноров, полученных от индивидуальных доноров, включая доноров цельной крови, компонентов крови и других живых доноров. Данный тест также предназначен для скрининга доноров органов и тканей, полученных от доноров, чье сердце на момент взятия образцов бьется, и от трупных доноров (чье сердце не бьется). Скрининг образцов плазмы и сыворотки всех доноров может проводиться на индивидуальных образцах. Для донаций цельной крови и компонентов крови образцы плазмы и сыворотки могут тестироваться индивидуально, плазму также можно тестировать в пулах, составленных из аликвот индивидуальных образцов. Для донаций от трупных (чье сердце не бьется) доноров органов и тканей образцы могут тестироваться только индивидуально.

При тестировании индивидуальных образцов результаты одновременно содержат данные по обнаружению и дифференциации ВИЧ, ВГС и ВГВ.

Тест **cobas® MPX** может применяться в качестве дополнительного теста для подтверждения ВИЧ-инфекции в образцах, повторно реактивных в CE-IVD тесте для обнаружения антител к ВИЧ и реактивных в тесте **cobas® MPX**.

Тест **cobas® MPX** может применяться в качестве дополнительного теста для подтверждения инфекции ВГС в образцах, повторно реактивных в CE-IVD тесте для обнаружения антител к ВГС и реактивных в тесте **cobas® MPX**.

Тест **cobas® MPX** может применяться в качестве дополнительного теста для подтверждения ВГВ-инфекции в образцах, повторно реактивных в CE-IVD тесте для обнаружения поверхностного антигена гепатита В и реактивных в тесте **cobas® MPX**.

Данный тест не предназначен для вспомогательной диагностики инфекции ВИЧ, ВГС или ВГВ.

Описание теста

Введение: скрининг крови на гемотрансмиссивные инфекции

Одной из основных проблем, связанных с переливанием крови и ее компонентов, является возможность передачи вирусных инфекций, в частности вируса иммунодефицита человека типа 1 (ВИЧ-1) и типа 2 (ВИЧ-2), вируса гепатита С (ВГС) и В (ВГВ). Эти агенты в первую очередь передаются при контакте с зараженной кровью или продуктами крови либо плазмы, с некоторыми другими биологическими тканями и жидкостями организма, при половом контакте или от инфицированной матери ее новорожденному ребенку.

ВИЧ-1 распространен во всем мире; в среднем инфицировано 1,1 % мирового населения (0,56 % в Северной Америке и 0,25 % в Западной Европе)¹. При инфицировании ВИЧ-1 может развиваться кратковременное острое гриппоподобное заболевание, сопровождаемое высокими уровнями вирусии в периферической крови в течение от 3 до 6 недель после заражения. Выделяют три генетически различающихся группы ВИЧ-1: группа М (основная), группа N (не М, не О) и группа О (обособленная). Группа М преобладает и подразделяется на 9 субтипов, а также несколько циркулирующих рекомбинантных форм (CRF)²⁻⁴.

ВИЧ-2 впервые был выделен в 1986 г. от пациентов в Западной Африке. Для ВИЧ-1 и ВИЧ-2 характерны одинаковые пути передачи, оба вируса ассоциированы со сходными оппортунистическими инфекциями и развитием синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД)^{5,6}. Распространенность ВИЧ-2 в некоторых африканских странах составляет более 1 %, в некоторых странах Европы, а также в Индии ВИЧ-2 также становится значимой проблемой⁷⁻¹¹.

ВГС является основным этиологическим агентом, ответственным за 90–95 % случаев посттрансфузионного гепатита ни-А-ни-В^{12–14}. Распространенность ВГС в мире варьирует от 0,5 до 2,0 % в Западной Европе¹⁵ и от 6 до 40 % в Египте¹⁶.

Более 2 миллиардов человек в мире на протяжении своей жизни были инфицированы ВГВ. Из них около 350 миллионов человек имеют хроническую инфекцию и становятся носителями вируса^{17–19}. Инфицирование ВГС и ВГВ может приводить к развитию хронического заболевания печени, эти вирусы являются наиболее распространенной причиной цирроза и рака печени, с ними связаны 78 % случаев этих заболеваний в мире²⁰.

Обоснование тестирования нуклеиновых кислот (NAT)

Применение серологических тестов позволило значительно снизить (но не исключить полностью) риск передачи вирусных инфекций при переливании крови и ее продуктов. Тестирование доноров цельной крови и плазмы на ВГВ было начато с использованием тестов на HBsAg в начале 1970-х и затем тестов на анти-HBc в 1980-е годы. Помимо скрининга на ВГВ, все донации крови и плазмы рутинно тестируются на антитела к ВИЧ и ВГС методами иммуноферментного анализа (ИФА)^{21, 22}. Остаточные риски инфицирования сохраняются из-за донаций крови, сделанных в период сероконверсионного окна, продолжительность которого может составлять 19 дней, 65 дней и 36 дней для ВИЧ-1, ВГС и ВГВ, соответственно²³. Определение вирусных нуклеиновых кислот (РНК ВИЧ-1, РНК ВГС и ДНК ВГВ) методом амплификации нуклеиновых кислот (NAT) позволяет значительно снизить этот риск^{24, 25}. Благодаря внедрению NAT в настоящее время остаточные риски посттрансфузионной передачи в США составляют 1:1,5 миллиона для ВИЧ-1, 1:1,2 миллиона для ВГС и 1:280 000–1:355 000 для ВГВ^{26, 27}. Сходные показатели отмечают для Германии, где тестирование NAT было внедрено в 1999 г.: в этой стране остаточные риски посттрансфузионной передачи ВИЧ-1, ВГС и ВГВ составляют 1:4,3 миллиона, 1:10,9 миллионов и 1:360 000 соответственно²⁴. В случае ВГВ тестирование NAT также позволяет выявлять доноров со скрытой ВГВ-инфекцией, при которой в крови присутствует ДНК ВГВ, но не выявляется HBsAg²⁸, а также вакцинированных доноров с прорывом инфекции, протекающей бессимптомно^{29–31}.

Принципы теста

Тест **cobas® MPX** является качественным мультиплексным тестом, выполняемым в системах **cobas® 5800/6800/8800**. Тест **cobas® MPX** позволяет одновременно выявлять и дифференцировать РНК ВИЧ, РНК ВГС, ДНК ВГВ, а также внутренний контроль в одной постановке в инфицированной индивидуальной донации или пуле образцов плазмы из индивидуальных донаций. Тест не позволяет дифференцировать ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2.

Процедуры, лежащие в основе теста

Тест **cobas® MPX** основан на методе ПЦР в реальном времени с полностью автоматизированной пробоподготовкой (выделением и очисткой нуклеиновых кислот) с последующей ПЦР-амплификацией и детекцией. Система **cobas® 5800** представляет собой один интегрированный прибор. Системы **cobas® 6800/8800** состоят из модуля подачи образцов, модуля переноса, модуля обработки и аналитического модуля. Автоматизированное управление данными осуществляется в программе системы **cobas® 5800** или **cobas® 6800/8800**, которая определяет результаты всех тестов как нереактивные, реактивные или невалидные. При использовании системы **cobas® 5800** для просмотра результатов и печати отчетов рекомендуется использовать программное обеспечение **cobas® Synergy**, оно также позволяет отправлять результаты в ЛСУИ или другую систему управления результатами. При использовании систем **cobas® 6800/8800** результаты можно просматривать непосредственно на экране системы, распечатать в виде отчета либо отправить в лабораторную систему управления информацией (ЛСУИ) или другую систему управления результатами.

Образцы можно тестировать индивидуально или в пулах, состоящих из нескольких образцов.

При проведении тестов в системе **cobas® 5800** необходимо использование программного обеспечения **cobas® Synergy**, даже если пулирование образцов не производится. Если на преаналитическом этапе производится пулирование образцов, для этого может использоваться прибор Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD с программным обеспечением **cobas® Synergy**.

При выполнении тестов в системах **cobas**® 6800/8800 на преаналитическом этапе для пулирования образцов может применяться прибор **cobas p** 680 или прибор Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD с программным обеспечением **cobas**® Synergy.

Нуклеиновые кислоты образца и вносимых в образец молекул защищенной РНК (Armored RNA) внутреннего контроля (ВК) (используемого для контроля процесса пробоподготовки и амплификации/детекции) выделяются одновременно. Дополнительно в тесте применяются четыре внешних контроля: три положительных и один отрицательный. Вирусные нуклеиновые кислоты освобождаются в результате внесения в образец протеазы и лизирующего реагента. Освободившаяся нуклеиновая кислота связывается с кремниевой поверхностью внесенных в образец магнитных стеклочастиц. Несвязавшиеся вещества и примеси, например денатурировавшие белки, клеточный дебрис, потенциальные ингибиторы ПЦР (такие как гемоглобин), удаляются на последующих этапах отмывки, и очищенная нуклеиновая кислота элюируется со стеклочастиц буфером для элюции при повышенных температурах.

Избирательная амплификация нуклеиновых кислот-мишеней из донорского образца достигается благодаря использованию прямого и обратного праймеров, специфичных к вирусу, подобранных к высококонсервативным участкам вирусной нуклеиновой кислоты. Для ВИЧ-1 группы М амплифицируются два различных участка вирусных геномов (двойная мишень). Термостабильный фермент ДНК-полимераза используется для обратной транскрипции и амплификации. В состав мастермикса входит трифосфат дезоксиуридина (dUTP) вместо трифосфата дезокситимидина (dTTP), который встраивается во вновь синтезируемые цепи ДНК (ампликон) ^{32–34}. Любые контаминирующие ампликоны из предыдущих постановок ПЦР элиминируются ферментом AmpErase [урацил-N-гликозилаза], входящим в состав мастермикса для ПЦР, во время нагревания на первом этапе термоциклирования. Однако вновь синтезируемые ампликоны не элиминируются, поскольку фермент AmpErase инактивируется при нагревании выше 55 °С.

Мастермикс **cobas**® MPX содержит зонды для детекции, специфичные к ВИЧ-1 (групп М и О), ВИЧ-2, ВГС, ВГВ и внутреннего контроля (ВК). В набор включены зонды для детекции каждой мишени ВИЧ-1 группы М, а также два зонда для ВГС. Каждый зонд для детекции, специфичный к ВИЧ, ВГС, ВГВ и ВК, мечен одним из четырех флуоресцентных красителей, действующих как репортерный краситель. Каждый зонд также несет еще один (пятый) краситель, который является гасителем. Сигналы от четырех репортерных красителей измеряются при специфичной для каждого красителя длине волны, что обеспечивает одновременную детекцию и дифференциацию амплифицированных мишеней ВИЧ, ВГС и ВГВ, а также ВК ^{35, 36}. При несвязывании с последовательностью-мишенью флуоресцентные сигналы интактных зондов подавляются гасителем. Во время этапа амплификации ПЦР зонды гибридизуются со специфичными одноцепочечными молекулами ДНК и разрушаются вследствие 5'–3' нуклеазной активности ДНК-полимеразы. Это приводит к разделению репортерного и гасящего красителей и, как следствие, генерированию флуоресцентного сигнала. На каждом цикле ПЦР увеличивается количество разрушенных зондов и происходит кумулятивный рост сигнала от репортерного красителя. Поскольку сигналы от четырех специфичных репортерных красителей измеряются при разных длинах волн, происходит одновременная детекция и дифференциация амплифицированных мишеней ВИЧ, ВГС, ВГВ и ВК.

Реагенты и материалы

Реагенты и контроли cobas® MPX

Все неоткрытые реагенты и контроли должны храниться как рекомендовано в Табл. 1 до Табл. 4.

Табл. 1 Тест cobas® MPX

Тест cobas® MPX Хранить при температуре 2–8 °C Кассета на 480 теста (P/N 09040862190)		
Компоненты набора	Состав реагента	Количество в наборе 480 тестов
Раствор протеазы (PASE)	Трис буфер, < 0,05 % ЭДТА, хлорид кальция, ацетат кальция, 8 % (м/о) протеаза, глицерин EUN210: Паспорт безопасности предоставляется по запросу. EUN208: Содержит субтилизин, полученный из бактерий <i>Bacillus subtilis</i> . Может вызывать аллергическую реакцию.	38 мл
Внутренний контроль (IC)	Трис буфер, < 0,05 % ЭДТА, < 0,001 % защищенная РНК (Armored RNA) внутреннего контроля (неинфекционная РНК, заключенная в бактериофаг MS2), < 0,002 % поли гА РНК (синтетическая), < 0,1 % азид натрия	38 мл
Буфер для элюции (EB)	Трис буфер, 0,2 % метил-4-гидроксibenзоат	38 мл
MPX мастермикс реагент 1 (MMX-R1)	Ацетат марганца, гидроксид калия, < 0,1 % азид натрия	14,5 мл
MPX мастермикс реагент 2 (MPX MMX-R2)	Трициновый буфер, ацетат калия, глицерин, 18 % диметилсульфоксид, Tween 20, ЭДТА, < 0,06 % dATP, dGTP, dCTP, < 0,14 % dUTP, < 0,01 % прямые и обратные праймеры для ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2, ВГС, ВГВ и внутреннего контроля, < 0,01 % меченые флуоресцентным красителем зонды для ВИЧ, ВГС и ВГВ, < 0,01 % меченый флуоресцентным красителем зонд для внутреннего контроля, < 0,01 % олигонуклеотидный аптамер, < 0,01 % Z05D ДНК-полимераза, < 0,01 % фермент AmpErase (урацил-N-гликозилаза) (бактериальный), < 0,1 % азид натрия	17,5 мл

* Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

** Опасное для здоровья вещество.

Табл. 2 Набор контролей cobas® MPX Control Kit

cobas® MPX Control Kit Хранить при 2–8 °C (P/N 09040846190)			
Компоненты набора	Состав реагента	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения *
Мультиположительный контроль MPX (MPX М (+) С)	< 0,001 % синтетическая (защищенная) РНК ВИЧ-1 группы М в оболочечном белке бактериофага MS2, < 0,001 % синтетическая (защищенная) РНК ВГС в оболочечном белке бактериофага MS2, < 0,001 % синтетическая (плазмидная) ДНК ВГВ в оболочечном белке бактериофага Лямбда, нормальная человеческая плазма, нереактивная в лицензированных тестах на антитела к ВГС, антитела к ВИЧ-1/2, HBsAg, антитела к HBc; негативная по РНК ВИЧ-1, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ при тестировании методом ПЦР 0,1 % консервант ProClin® 300 **	4 мл (4 × 1 мл)	  ВНИМАНИЕ H317: При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию. P261: Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/ тумана/паров/аэрозолей. P272: Не выносить загрязненную одежду с рабочего места. P280: Использовать защитные перчатки. R333 + R313: При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться за медицинской помощью. R362 + R364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед использованием. P501: Утилизировать содержимое/ контейнер в специализированном центре. 55965-84-9 Реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-2Н-изотиазол-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).
MPX HIV-1 О положительный контроль (MPX О (+) С)	< 0,001 % синтетическая (защищенная) РНК ВИЧ-1 группы О в оболочечном белке бактериофага MS2, нормальная человеческая плазма, нереактивная в лицензированных тестах на антитела к ВГС, антитела к ВИЧ-1/2, HBsAg, антитела к HBc; негативная по РНК ВИЧ-1, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ при тестировании методом ПЦР 0,1 % консервант ProClin® 300 **	4 мл (4 × 1 мл)	  ВНИМАНИЕ H317: При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию. P261: Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/ тумана/паров/аэрозолей. P272: Не выносить загрязненную одежду с рабочего места. P280: Использовать защитные перчатки. R333 + R313: При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться за медицинской помощью. R362 + R364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед использованием. P501: Утилизировать содержимое/ контейнер в специализированном центре. 55965-84-9 Реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-2Н-изотиазол-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).

cobas® MPX Control Kit			
Хранить при 2–8 °C (P/N 09040846190)			
Компоненты набора	Состав реагента	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения *
MPX HIV-2 положительный контроль (MPX 2 (+) C)	< 0,001 % синтетическая (защищенная) РНК ВИЧ-2 в оболочечном белке бактериофага MS2, нормальная человеческая плазма, нереактивная в лицензированных тестах на антитела к ВГС, антитела к ВИЧ-1/2, HBsAg, антитела к HBc; негативная по РНК ВИЧ-1, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ при тестировании методом ПЦР 0,1 % консервант ProClin® 300 **	4 мл (4 × 1 мл)	  ВНИМАНИЕ H317: При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию. P261: Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/паров/аэрозолей. P272: Не выносить загрязненную одежду с рабочего места. P280: Использовать защитные перчатки. P333 + P313: При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться за медицинской помощью. P362 + P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед использованием. P501: Утилизировать содержимое/контейнер в специализированном центре. 55965-84-9 Реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-2Н-изотиазол-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).

* Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

** Опасное для здоровья вещество.

Табл. 3 Набор отрицательной контроли cobas® NHP Negative Control Kit

cobas® NHP Negative Control Kit			
Хранить при 2–8 °C (P/N 09051554190)			
Компоненты набора	Состав реагента	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения *
Нормальная плазма человека — отрицательный контроль (NHP-NC)	Нормальная человеческая плазма, нереактивная в лицензированных тестах на антитела к ВГС, антитела к ВИЧ-1/2, HBsAg, антитела к HBe; негативная по РНК ВИЧ-1, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ при тестировании методом ПЦР < 0,1 % консервант ProClin® 300 **	16 мл (16 × 1 мл)	  ВНИМАНИЕ H317: При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию. P261: Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/паров/аэрозолей. P272: Не выносить загрязненную одежду с рабочего места. P280: Использовать защитные перчатки. P333 + P313: При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться за медицинской помощью. P362 + P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед использованием. P501: Утилизировать содержимое/контейнер в специализированном центре. 55965-84-9 Смесь: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-он [ЕС № 247-500-7] и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он [ЕС № 220-239-6] (3:1).

* Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

** Опасное для здоровья вещество.

Реагенты cobas omni для пробоподготовки

Табл. 4 Реагенты cobas omni для пробоподготовки *

Реагенты	Состав реагента	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения **
Реагент cobas omni MGP Reagent (MGP) Хранить при 2–8 °C (P/N 06997546190)	Магнитные стеклочастицы, трис буфер, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат, < 0,1 % азид натрия	480 тестов	Неприменимо
Дилуэнт для образцов cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Хранить при 2–8 °C (P/N 06997511190)	Трис буфер, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат, < 0,1 % азид натрия	4 × 875 мл	Неприменимо
Лизирующий реагент cobas omni Lysis Reagent (LYS) Хранить при 2–8 °C (P/N 06997538190)	42,56 % (м/м) гуанидин тиоцианат ***, 5 % (м/о) полидоканол ***, 2 % (м/о) дитиотреитол ***, дигидрат цитрата натрия	4 × 875 мл	 ОПАСНО H302 + H332: Вредно при проглатывании или вдыхании. H314: Вызывает серьезные ожоги кожи и повреждения глаз. H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями. EUH032: При контакте с кислотой выделяет особо токсичный газ. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Использовать перчатки, спецодежду и средства для защиты глаз / лица / органов слуха. P303 + P361 + P353 ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой. P304 + P340 + P310: ПРИ ВДЫХАНИИ: вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту. P305 + P351 + P338 + P310: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту. P391: Ликвидировать просыпания/проливы/утечки. 593-84-0 Гуанидин тиоцианат 9002-92-0 Полидоканол 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-димеркаптобутан-2,3-диол
Промывочный реагент cobas omni Wash Reagent (WASH) Хранить при 15–30 °C (P/N 06997503190)	Дигидрат цитрата натрия, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат	4,2 л	Неприменимо

* Данные реагенты не входят в набор cobas® MPX. См. перечень необходимых дополнительных материалов (Табл. 8 + Табл. 9).

** Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

*** Опасное для здоровья вещество.

09199659001-01RU

Doc Rev. 1.0

11

Требования к условиям хранения реагентов

Условия хранения реагентов и работы с ними приведены в Табл. 5, Табл. 6 и Табл. 7.

Когда реагенты не загружены в системы cobas® 5800/6800/8800, они должны храниться при температурах, указанных в Табл. 5.

Табл. 5 Хранение реагентов (когда реагенты не загружены в систему)

Реагент	Температура хранения
cobas® MPX – 480	2–8 °C
cobas® MPX Control Kit	2–8 °C
cobas® NHP Negative Control Kit	2–8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2–8 °C
cobas omni MGP Reagent	2–8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2–8 °C
cobas omni Wash Reagent	15–30 °C

Требования к условиям использования реагентов для системы cobas® 5800

Когда реагенты загружены в систему cobas® 5800, они хранятся при необходимых температурах и их сроки годности отслеживаются системой. Система допускает использование реагентов, только если они соответствуют всем условиям, приведенным в Табл. 6. Система автоматически блокирует использование реагентов с истекшим сроком годности. Табл. 6 содержит сведения об условиях использования реагентов в соответствии с требованиями системы cobas® 5800.

Табл. 6 Требования системы cobas® 5800 к срокам хранения реагентов

Реагент	Срок годности набора	Стабильность открытого набора	Число постановок, для которых может использоваться набор	Стабильность на борту
cobas® MPX – 480	Не истек	90 дней после первого использования	Максимум 40 постановок	Максимум 36 дней
cobas® MPX Control Kit	Не истек	Неприменимо ^a	Неприменимо	Максимум 36 дней
cobas® NHP Negative Control Kit	Не истек	Неприменимо ^a	Неприменимо	Максимум 36 дней
cobas omni Lysis Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni MGP Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni Specimen Diluent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni Wash Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо

^a Реагенты для однократного применения.

* Время определяется после первой загрузки реагента в систему cobas® 5800.

Требования к условиям использования реагентов для систем cobas® 6800/8800

Когда реагенты загружены в системы cobas® 6800/8800, они хранятся при необходимых температурах и их сроки годности отслеживаются системой. Система допускает использование реагентов, только если они соответствуют всем условиям, приведенным в Табл. 7. Система автоматически блокирует использование реагентов с истекшим сроком годности. Табл. 7 содержит сведения об условиях использования реагентов в соответствии с требованиями систем cobas® 6800/8800.

Табл. 7 Требования систем cobas® 6800/8800 к срокам хранения реагентов

Реагент	Срок годности набора	Стабильность открытого набора	Число постановок, для которых может использоваться набор	Стабильность после загрузки (общее время в системе, вне холодильника)
cobas® MPX – 480	Не истек	30 дней после первого использования	Максимум 20 постановок	Максимум 20 часов
cobas® MPX Control Kit	Не истек	Неприменимо ^a	Неприменимо	Максимум 8 часов
cobas® NHP Negative Control Kit	Не истек	Неприменимо ^a	Неприменимо	Максимум 10 часов
cobas omni Lysis Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni MGP Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni Specimen Diluent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni Wash Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо

* Время определяется после первой загрузки реагента в системы cobas® 6800/8800.

^a Реагенты для однократного применения.

Дополнительные необходимые материалы для системы cobas® 5800

Табл. 8 Реагенты и расходные материалы для работы с системой cobas® 5800

Материал	P/N
Планшет для обработки образцов cobas omni 24	08413975001
Планшет для амплификации cobas omni 24	08499853001
Планшет для жидких отходов cobas omni 24	08413983001
Наконечники CORE TIPS с фильтром, 1 мл	04639642001
Наконечники CORE TIPS с фильтром, 300 мкл	07345607001
Контейнер для жидких отходов cobas omni	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Пакет для твердых отходов или Пакет для твердых отходов с вставкой	07435967001 или 08030073001

Дополнительные необходимые материалы для систем cobas® 6800/8800

Табл. 9 Реагенты и расходные материалы для работы с системами cobas® 6800/8800

Материал	P/N
Планшет для обработки образцов cobas omni	05534917001
Амплификационный планшет cobas omni	05534941001
Наконечники cobas omni	05534925001
Контейнер для жидких отходов cobas omni	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Пакет для твердых отходов	07435967001
Контейнер для твердых отходов	07094361001

Необходимое оборудование и программное обеспечение

В системе **cobas® 5800** должен быть установлен аналитический пакет **cobas® MPX** для системы **cobas® 5800**. Программное обеспечение для управления данными **x800 Data Manager** для системы **cobas® 5800** поставляется вместе с системой. Должно быть установлено ПО **cobas® Synergy**.

Программа **cobas® 6800/8800** и аналитический пакет **cobas® MPX** должны быть установлены на приборе (приборах). Сервер Instrument Gateway (IG) поставляется вместе с системой. По необходимости должно быть установлено ПО **cobas® Synergy**.

Табл. 10 Приборы

Оборудование	P/N
Система cobas® 5800	08707464001
Система cobas® 6800 (опция — подвижная)	05524245001 и 06379672001
Система cobas® 6800 (фиксированная)	05524245001 и 06379664001
Система cobas® 8800	05412722001
Модуль подачи образцов для систем cobas® 6800/8800	06301037001
Электронная лицензия на программное обеспечение cobas® Synergy (только для системы cobas® 5800)	09311246001
Для автоматизированного раскапывания и пулирования	P/N
Прибор cobas p 680 (только для систем cobas® 6800/8800)	06570577001
Электронная лицензия на программное обеспечение cobas® Synergy (только для систем cobas® 6800/8800)	09311238001
Прибор Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001
Прибор Hamilton MICROLAB® STARlet IVD	04872649001

См. дополнительную информацию в руководстве пользователя системы **cobas® 5800** или систем **cobas® 6800/8800**. Дополнительные сведения о первичных и вторичных пробирках для образцов, подходящих приборам, приведены в руководствах пользователя прибора **cobas p 680** или в руководстве пользователя ПО **cobas® Synergy**.

Примечание. Обратитесь в ваше региональное представительство Roche за подробным списком штативов для образцов, штативов для засоренных наконечников и подставок для штативов, подходящих приборам.

Меры предосторожности и правила работы

Меры предосторожности

Как и при выполнении любых тестов, соблюдение правил надлежащей лабораторной практики является условием качественного выполнения данного теста. Вследствие высокой аналитической чувствительности теста необходимо тщательно оберегать от контаминации реагенты и амплификационные смеси.

- Только для диагностики *in vitro*.
- Все образцы нужно рассматривать как потенциально инфекционные и соблюдать при работе с ними правила биологической безопасности, приведенные в документах Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories и CLSI Document M29-A4^{37, 38}. Только персонал, обученный работе с инфицированными материалами, а также работе с тестом **cobas® MPX**, системами **cobas® 5800/6800/8800** и прибором **cobas p 680** (для систем **cobas® 6800/8800**) или прибором Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD с программным обеспечением **cobas® Synergy**, может выполнять данную процедуру.
- Все материалы человеческого происхождения должны рассматриваться как потенциально инфекционные, работать с ними нужно с соблюдением стандартных мер предосторожности. При разливе материалов немедленно проведите дезинфекцию свежеприготовленным 0,5%-м раствором гипохлорита натрия в дистиллированной или деионизованной воде (соответствует разведению — 1:10 бытовой хлорки) или следуйте стандартным инструкциям, принятым в вашей лаборатории.
- Набор контролей **cobas® MPX Control Kit** и набор отрицательных контролей **cobas® NHP Negative Control Kit** содержат плазму, полученную из человеческой крови. Источник был протестирован в лицензированных тест-системах для выявления антител и оказался нереактивным по антителам к ВГС, антителам к ВИЧ-1/2, HBsAg и антителам к HBc. Тестирование нормальной человеческой плазмы методом ПЦР также подтвердило отсутствие РНК ВИЧ-1 (групп М и О), РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ. Ни один из известных методов не может обеспечить полную гарантию отсутствия инфекционных агентов в продуктах крови человека.
- Не замораживайте цельную кровь.
- Рекомендуются использовать стерильные одноразовые дозаторы и свободные от нуклеаз наконечники. Для оптимального выполнения теста используйте только входящие в состав системы или рекомендованные для нее производителем расходные материалы.
- Внимательно следуйте рекомендациям и инструкциям для корректного проведения теста. Любое отклонение от инструкции может повлиять на результаты теста.
- Ложноположительные результаты могут быть получены при отсутствии адекватного контроля перекрестных контаминаций образцов на этапах пробоподготовки.
- О любых серьезных инцидентах, имевших место при работе с данным тестом, сообщайте в местный уполномоченный орган.

Обращение с реагентами

- Работайте со всеми реагентами, контролями и образцами в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики для предотвращения перекрестной контаминации образцов и контролей.
- Перед началом работы осмотрите все кассеты реагентов, дилуэнт, лизирующий реагент и промывочный реагент и убедитесь в отсутствии протекания. При наличии протекания не используйте данный материал для постановки теста.
- Лизирующий реагент **cobas omni Lysis Reagent** содержит гуанидин тиоцианат — потенциально опасное вещество. Не допускайте попадания реагента на кожу, в глаза, на слизистые оболочки. В случае попадания немедленно смойте большим количеством воды; в противном случае может возникнуть ожог.

- Реагенты наборов **cobas®** MPX, реагент **cobas omni** MGP Reagent и дилуэнт для образцов **cobas omni** Specimen Diluent содержат в качестве консерванта азид натрия. Не допускайте попадания реагента на кожу, в глаза, на слизистые оболочки. В случае попадания немедленно смойте большим количеством воды; в противном случае может возникнуть ожог. При проливе этих реагентов промойте их водой и затем вытрите.
- Не допускайте контакта лизирующего реагента **cobas omni** Lysis Reagent, содержащего гуанидин тиоцианат, с раствором гипохлорита натрия (хлорки). Данная смесь может выделять высокотоксичный газ.
- Паспорта безопасности материалов (SDS) доступны по запросу в вашем региональном представительстве компании Roche.
- Утилизируйте все материалы, контактировавшие с образцами и реагентами, в соответствии с государственными, федеральными и региональными правилами.

Надлежащая лабораторная практика

- Не пипетируйте ртом.
- Не ешьте, не пейте и не курите в рабочих лабораторных помещениях.
- Работайте со всеми реагентами и образцами в средствах для защиты глаз, лабораторном халате и одноразовых перчатках. Для предотвращения контаминации меняйте перчатки после работы с образцами, прежде чем начать работу с реагентами наборов **cobas®** MPX и **cobas omni**. Не допускайте контаминации перчаток при работе с образцами и контролями.
- Тщательно мойте руки после работы с образцами и компонентами набора и после снятия перчаток.
- Тщательно очищайте и дезинфицируйте все рабочие поверхности свежеприготовленным 0,5%-м раствором гипохлорита натрия в дистиллированной или деионизованной воде (разведите бытовую хлорку в соотношении 1:10), затем протирайте их 70%-м этанолом.
- При разлитии материала в приборе **cobas®** 5800 проведите очистку и дезинфекцию поверхностей прибора в соответствии с инструкциями в руководстве пользователя системы **cobas®** 5800.
- При разлитии реагентов или образцов в приборе **cobas®** 6800/8800 проведите очистку и дезинфекцию поверхности приборов в соответствии с инструкциями в руководстве пользователя систем **cobas®** 6800/8800.

Сбор, транспортировка, хранение и пулирование образцов

Примечание. Работайте со всеми образцами и контролями как с потенциально инфекционными материалами. Храните все донорские образцы при указанной температуре. Стабильность образцов снижается при повышенных температурах.

- Образцы сыворотки крови рекомендуется тестировать в течение 8 часов после центрифугирования при $1600 \times g$ в течение 20 мин или в течение 24 часов после центрифугирования на высоких оборотах (например, $2600 \times g$ в течение 20 мин).

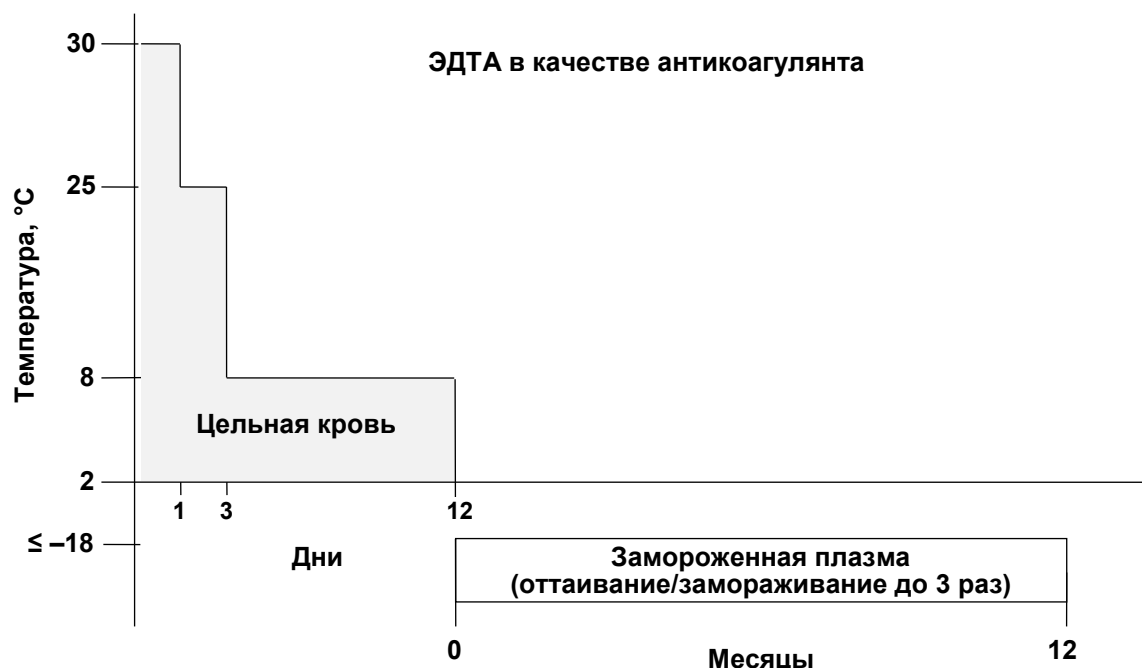
Образцы крови от живых доноров

- Для работы с тестом **cobas®** MPX может использоваться плазма, собранная с ЭДТА, CPD, CPDA1, CP2D и 4 % цитратом натрия в качестве антикоагулянта, и сыворотка, собранная в пробирки с активатором сгустка сыворотки. Следуйте инструкциям производителя пробирок/мешков для сбора образцов по работе с образцами и их центрифугированию.
- Перед загрузкой в системы **cobas®** 6800/8800 или **cobas®** 5800 или прибор для дополнительного пулирования образцы в пробирках для отделения плазмы Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) или пробирках с K2 ЭДТА и гелем для получения плазмы Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tubes можно подвергнуть дополнительному центрифугированию при $600 \times g$ в течение 5 минут.

- Кровь, собранная в пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта, может храниться до 12 дней при следующих условиях:
 - образцы должны быть центрифугированы в течение 72 часов после забора крови;
 - при хранении при температуре выше 8 °С образцы могут храниться в пределах 72 часов при температуре до 25 °С (в течение 72 часов) и при температуре до 30 °С (в течение 24 часов).

Помимо описанных выше условий, образцы хранят при температуре 2–8 °С. Кроме того, плазма, отделенная от клеток, может храниться до 12 месяцев при температуре ≤ -18 °С с тремя допустимыми циклами заморозки/оттаивания. См. Рис. 1.

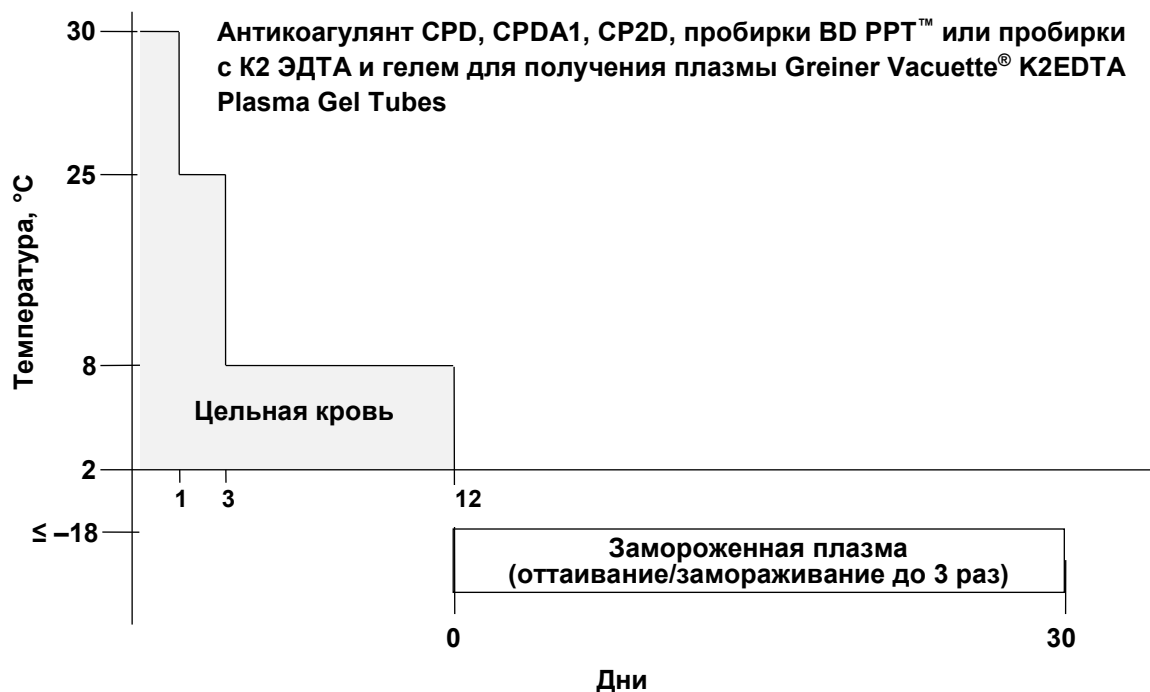
Рис. 1 Условия хранения образцов от живых доноров с антикоагулянтом ЭДТА



- Кровь, собранная с CPD, CPDA1, CP2D в качестве антикоагулянта, а также кровь в пробирках для отделения плазмы Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) или пробирках с K2 ЭДТА и гелем для получения плазмы Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tubes может храниться до 12 дней при следующих условиях:
 - образцы должны быть центрифугированы в течение 72 часов после забора крови;
 - при хранении при температуре выше 8 °С образцы могут храниться в пределах 72 часов при температуре до 25 °С (в течение 72 часов) и при температуре до 30 °С (в течение 24 часов).

Помимо описанных выше условий, образцы хранят при температуре 2–8 °С. Кроме того, плазма, отделенная от клеток, может храниться до 30 дней при температуре ≤ -18 °С с тремя допустимыми циклами заморозки/оттаивания. См. Рис. 2.

Рис. 2 Условия хранения образцов от живых доноров



- Кровь, собранная в пробирки с активатором сгустка, может храниться до 7 дней при температуре 2–8 °C при следующих условиях:
 - образцы должны быть центрифугированы в течение 72 часов после забора крови;
 - при хранении при температуре выше 8 °C образцы могут храниться в пределах 72 часов при температуре до 25 °C (в течение 72 часов) и при температуре до 30 °C (в течение 24 часов).

Помимо описанных выше условий, образцы хранят при температуре 2–8 °C. Кроме того, сыворотка, отделенная от клеток, может храниться до 30 дней при температуре ≤ -18 °C с тремя допустимыми циклами заморозки/оттаивания.

- Плазма, собранная с 4 % цитратом натрия в качестве антикоагулянта, может храниться до 30 дней при температуре 2–8 °C при следующих условиях:
 - при хранении при температуре выше 8 °C образцы могут храниться в пределах 72 часов при температуре до 25 °C (в течение 72 часов) и при температуре до 30 °C (в течение 24 часов).

Кроме того, плазма, собранная с 4 % цитратом натрия в качестве антикоагулянта, может храниться до 12 месяцев при температуре ≤ -18 °C с двумя циклами заморозки/оттаивания, или

- Плазма, собранная с 4 % цитратом натрия в качестве антикоагулянта, может храниться до 18 дней при температуре 2–8 °C при следующих условиях:
 - при хранении при температуре выше 8 °C образцы могут храниться в пределах 72 часов при температуре до 25 °C (в течение 72 часов) и при температуре до 30 °C (в течение 24 часов).

Кроме того, плазма, собранная с 4 % цитратом натрия в качестве антикоагулянта, может храниться до 12 месяцев при температуре ≤ -18 °C с тремя циклами заморозки/оттаивания.

Образцы крови от трупных доноров

- Для работы с тестом **cobas® MPX** могут использоваться образцы крови от трупных доноров, собранные в пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта и (или) в пробирки для сыворотки с активатором сгустка. Следуйте инструкциям производителя пробирок/мешков для сбора образцов по работе с образцами и их центрифугированию.
- Кровь от трупных доноров, собранная в пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта, может храниться до 8 дней при температуре 2–8 °С при следующих условиях:
 - образцы должны быть центрифугированы в течение 72 часов после забора крови;
 - при хранении при температуре выше 8 °С образцы могут храниться в пределах 72 часов при температуре до 30 °С (в течение 24 часов).

Помимо описанных выше условий, плазма от трупных доноров с ЭДТА, отделенная от клеток, может храниться до 14 дней при температуре ≤ -18 °С. См. Рис. 3.

Рис. 3 Условия хранения образцов от трупных доноров



- Образцы крови от трупных доноров, собранные в пробирки для сыворотки с активатором сгустка, могут храниться до 5 дней при температуре 2–8 °С при следующих условиях:
 - образцы должны быть центрифугированы в течение 72 часов после забора крови;
 - при хранении при температуре выше 8 °С образцы могут храниться в пределах 72 часов при температуре до 30 °С (в течение 24 часов).
- Если необходимо транспортировать образцы от живых и (или) трупных доноров, образцы должны быть упакованы и маркированы в соответствии с правилами транспортировки образцов и инфекционных агентов, действующими в вашей стране, и (или) международными правилами.

Инструкция по работе с набором

Автоматизированное раскапывание и пулирование образцов (опционально)

Прибор **cobas p 680** или Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD с программным обеспечением **cobas® Synergy** можно использовать как дополнительные к системам **cobas® 6800/8800** приборы для автоматизированного пипетирования и пулирования аликвот нескольких первичных образцов в один пулированный образец.

Прибор Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD с программным обеспечением **cobas® Synergy** следует использовать как дополнение к системе **cobas® 5800** для автоматизированного пипетирования и пулирования аликвот нескольких первичных образцов в один пулированный образец.

Более подробные сведения приведены в руководстве пользователя прибора **cobas p 680** и в руководстве пользователя ПО **cobas® Synergy**.

Рекомендации по процедуре

- Не используйте реагенты набора **cobas® MPX**, набор контролей **cobas® MPX Control Kit**, набор отрицательных контролей **cobas® NHP Negative Control Kit** и реагенты **cobas omni** после истечения их сроков годности.
- Не используйте повторно расходные материалы. Они предназначены только для однократного применения.
- Инструкции по эксплуатации и обслуживанию приборов приведены в руководстве пользователя системы **cobas® 5800**.
- Инструкции по эксплуатации и обслуживанию приборов приведены в руководстве пользователя систем **cobas® 6800/8800**.

Постановка теста cobas® MPX в системе cobas® 5800

Подробное описание процедуры теста приведено в руководстве пользователя системы cobas® 5800. На рис. 4 приведена схема постановки теста. Подробное описание дополнительных процедур пулирования см. в руководстве пользователя программного обеспечения cobas® Synergy.

Рис. 4 Процедура теста cobas® MPX в системе cobas® 5800

1	Пипетирование и пулирование
2	Загрузка штативов для образцов в систему: • Загрузить штативы для образцов в систему • Если нет доступных заданий из ЛИС, задать тесты вручную
3	Пополнение реагентов и расходных материалов по запросу системы: • Загрузить тест-специфичную(ые) кассету(ы) реагентов • Загрузить мини-штативы контролей • Загрузить наконечники обработки • Загрузить наконечники элюата • Загрузить планшеты обработки • Загрузить планшеты для жидких отходов • Загрузить амплификационные планшеты • Загрузить кассету MGP • Пополнить дилуэнт для образцов • Пополнить лизирующий реагент • Пополнить промывочный реагент
4	Запустить постановку вручную нажатием кнопки «Старт» в пользовательском интерфейсе; все последующие постановки будут запускаться автоматически, если запуск не отложен вручную
5	Просмотр результатов
6	Удалить все пробирки с образцами Очистка прибора: • Выгрузить кассеты реагентов • Выгрузить мини-штативы контролей • Освободить секцию амплификационных планшетов • Удалить жидкие отходы • Удалить твердые отходы

Постановка теста cobas® MPX в системах cobas® 6800/8800

Подробное описание процедуры теста приведено в руководстве пользователя систем cobas® 6800/8800.

Подробное описание дополнительных процедур пулирования см. в руководстве пользователя прибора cobas p 680 или в руководстве пользователя программного обеспечения cobas® Synergy, соответственно. Рис. 5 ниже отражает схему постановки теста.

Рис. 5 Процедура теста cobas® MPX

1	Пипетирование и пулирование
2	Создание задания
3	Пополнение реагентов и расходных материалов по запросу системы: • Повторно загрузить промывочный реагент, лизирующий реагент и дилуэнт • Повторно загрузить планшеты для обработки и амплификации • Повторно загрузить магнитные стеклочастицы • Повторно загрузить тест-специфичные реагенты • Повторно загрузить кассеты с контролями • Повторно загрузить штативы с наконечниками • Заменить штатив для засоренных наконечников
4	Запуск постановки теста: • Загрузить штативы с образцами • Выбрать кнопку «Старт» на интерфейсе
5	Просмотр и экспорт результатов
6	Выгрузка расходных материалов: • Удалить амплификационные планшеты из аналитического модуля • Выгрузить пустые кассеты для контролей • Удалить твердые отходы • Удалить жидкие отходы

Результаты

Системы **cobas®** 6800/8800 или **cobas®** 5800 автоматически выявляют и дифференцируют РНК ВИЧ, РНК ВГС, ДНК ВГВ одновременно в образцах и контролях.

Контроль качества и валидность результатов в системе **cobas®** 5800

Система **cobas®** 5800 поставляется со стандартными настройками включения контролей (положительных и отрицательных) в каждую постановку, но может быть настроена на менее частое включение в зависимости от лабораторных правил и (или) местных нормативных требований. Для этого следует обратиться к сервисному инженеру Roche или в службу технической поддержки Roche.

- Один отрицательный [(-) С] и три положительных контроля [MPX М (+) С, MPX О (+) С и MPX 2 (+) С] обрабатываются не реже, чем каждые 24 часа, или с каждым новым лотом набора.
- В системе **cobas®** 5800 или отчете проверьте наличие флагов и соответствующих им результатов для проверки валидности контролей.
- Связанные с контролями образцы валидны, если ни для одного из четырех контролей нет сигнальных сообщений.

Невалидность результатов определяется системой **cobas®** 5800 автоматически на основании невалидных результатов для отрицательного или положительных контролей.

Результаты тестирования контролей в системе **cobas®** 5800

Результаты для контролей отображаются в программе **cobas®** 5800 в приложении «Контроли».

- Контроли отмечены как «Валидно» в колонке «Результат контроля», если все мишени контроля признаны валидными. Контроли отмечены как «Невалидно» в колонке «Результат контроля», если все или одна мишень контроля признаны невалидными.
- Контроли, отмеченные как «Невалидно», отображаются с флагом в колонке «Флаги». Дополнительные сведения о том, почему контроль отображается невалидным, включая информацию о флаге, доступны в подробном представлении.
- Если один из положительных контролей невалиден, повторите тестирование всех положительных контролей и всех связанных образцов. Если отрицательный контроль невалиден, повторите тестирование всех контролей и всех связанных образцов.

Табл. 11 Флаги отрицательного и положительных контролей в системе **cobas®** 5800

Отрицательный контроль	Флаг	Результат контроля	Интерпретация
(-) С	Отображается флаг	Невалидно	Вся постановка признается невалидной, если невалиден результат для (-) С.
Положительный контроль	Флаг	Результат контроля	Интерпретация
MPX М (+) С	Отображается флаг	Невалидно	Вся постановка признается невалидной, если невалиден результат для MPX М (+) С.
MPX О (+) С	Отображается флаг	Невалидно	Вся постановка признается невалидной, если невалиден результат для MPX О (+) С.
MPX 2 (+) С	Отображается флаг	Невалидно	Вся постановка признается невалидной, если невалиден результат для MPX 2 (+) С.

Если один из контролей невалиден, повторите тестирование соответствующих контролей и всех связанных образцов.

Контроль качества и валидность результатов в системах cobas® 6800/8800

- Один отрицательный [(-) C] и три положительных контроля [MPX M (+) C, MPX O (+) C и MPX 2 (+) C] включаются в каждую постановку.
- В программе **cobas® 6800/8800** или отчете проверьте наличие флагов и соответствующих им результатов для проверки валидности постановки.
- Постановка валидна, если ни для одного из четырех контролей нет сигнальных сообщений.

Невалидность результатов определяется программой **cobas® 6800/8800** автоматически на основании невалидных результатов для отрицательного и положительных контролей.

Флаги контролей в системах cobas® 6800/8800

Табл. 12 Флаги отрицательного и положительных контролей

Отрицательный контроль	Флаг	Результат	Интерпретация
(-) C	Q02	Невалидно	Вся постановка признается невалидной, если невалиден результат для (-) C.
Положительный контроль	Флаг	Результат	Интерпретация
MPX M (+) C	Q02	Невалидно	Вся постановка признается невалидной, если невалиден результат для MPX M (+) C.
MPX O (+) C	Q02	Невалидно	Вся постановка признается невалидной, если невалиден результат для MPX O (+) C.
MPX 2 (+) C	Q02	Невалидно	Вся постановка признается невалидной, если невалиден результат для MPX 2 (+) C.

Если постановка невалидна, необходимо повторить всю процедуру постановки теста, включая образцы и контроли.

Интерпретация результатов

Для валидной постановки партии контролей проверьте наличие флагов для каждого образца в программном обеспечении систем **cobas® 5800/6800/8800** или отчетах. Интерпретация результатов должна быть следующей:

- валидная постановка может содержать как валидные, так и невалидные результаты для индивидуальных донорских образцов в зависимости от сигнальных сообщений, соответствующих образцам;
- результаты образцов валидны только в том случае, если соответствующие положительные и отрицательный контроли данной постановки валидны.

Для каждого образца определяются четыре параметра: ВИЧ, ВГС, ВГВ и внутренний контроль. Конечные результаты теста **cobas® MPX** для каждого образца выдаются программой. Помимо общего результата, системы **cobas® 5800/6800/8800** выдают результаты по отдельным мишеням, которые необходимо интерпретировать указанным ниже образом.

Табл. 13 Интерпретация результатов по отдельным мишеням

Результат мишени	Интерпретация
HIV Non-Reactive	Сигнал мишени ВИЧ отсутствует, сигнал ВК обнаружен.
HIV Reactive	Сигнал мишени ВИЧ обнаружен, сигнал ВК может быть или отсутствовать.
HCV Non-Reactive	Сигнал мишени ВГС отсутствует, сигнал ВК обнаружен.
HCV Reactive	Сигнал мишени ВГС обнаружен, сигнал ВК может быть или отсутствовать.
HBV Non-Reactive	Сигнал мишени ВГВ отсутствует, сигнал ВК обнаружен.
HBV Reactive	Сигнал мишени ВГВ обнаружен, сигнал ВК может быть или отсутствовать.
Invalid	Сигнал мишени и внутреннего контроля не обнаружен.

При использовании программного обеспечения **cobas® Synergy** просматривать расчеты окончательного результата следует в программном обеспечении **cobas® Synergy**.

Дополнительная информация о интерпретации результатов в системе cobas® 5800

Результаты образцов отображаются в системе cobas® 5800. Для просмотра результатов рекомендуется использовать программное обеспечение cobas® Synergy.

- Образцы, связанные с валидной постановкой для партии контролей (в соответствии с настройками контролей), отображаются как «Валидно» в колонке «Результат контроля». Образцы, связанные с невалидной постановкой для партии контролей, отображаются как «Невалидно» в колонке «Результат контроля».
- Если связанные с результатом образца контроли невалидны, к результату будет добавлен соответствующий флаг из перечисленных ниже.
 - Q05D: валидность результата не подтверждена из-за наличия невалидного положительного контроля.
 - Q06D: валидность результата не подтверждена из-за наличия невалидного отрицательного контроля.
- Значения в колонке «Результаты» для результата отдельной мишени образца следует интерпретировать как показано в Табл. 13 выше.
 - Система cobas® 5800 отобразит отдельные результаты мишеней. Общие результаты будут отображены только при просмотре в программном обеспечении cobas® Synergy.
 - Дополнительные сведения о результатах образцов и флагах см. в руководстве пользователя системы cobas® 5800

Повторное тестирование индивидуальных образцов

Пробирки с образцами, для которых по одной мишени получен результат «Невалидно», должны быть тестированы повторно независимо от валидности результатов по остальным мишеням.

Ограничения процедуры

- Тест cobas® MPX валидирован только для работы с набором контролей cobas® MPX Control Kit, набором отрицательных контролей cobas® NHP Negative Control Kit, реагентом cobas omni MGP Reagent, лизирующим реагентом cobas omni Lysis Reagent, дилуэнтном для образцов cobas omni Specimen Diluent и промывочным реагентом cobas omni Wash Reagent в системах cobas® 5800 и cobas® 6800/8800.
- Надежность результатов теста зависит от адекватности сбора, хранения и обработки образцов.
- Не используйте для данного теста гепаринизированную плазму, так как гепарин может ингибировать ПЦР.
- Обнаружение РНК ВИЧ-1 группы М, РНК ВИЧ-1 группы О, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ зависит от количества вирусных частиц, содержащихся в образце, которое зависит от адекватности методов сбора, хранения и анализа образцов, факторов пациента (например, возраст, наличие симптомов) и (или) стадии инфекции и объема пула.
- Редкие мутации в высококонсервативных участках вирусных геномов, являющихся мишенями теста cobas® MPX, могут препятствовать посадке праймеров и (или) зондов и приводить к неспособности обнаружить наличие вируса.
- Вследствие естественных различий между технологиями пользователю рекомендуется, прежде чем заменить одну технологию на другую, провести корреляционные испытания для двух методов, чтобы оценить возможные различия между технологиями. Пользователи должны следовать политике и процедурам, принятым в их учреждении.

Эквивалентность/сравнение систем

Эквивалентность систем cobas® 5800 и cobas® 6800/8800 была подтверждена исследованиями эквивалентности.

Результаты, приведенные в данной инструкции по применению, основаны на эквивалентности рабочих характеристик всех систем.

Доклинические испытания теста в системах cobas® 6800/8800

Основные характеристики набора Образцы от живых доноров

Предел обнаружения (LoD)

Международные стандарты ВОЗ/первичные стандарты Roche

Предел обнаружения (LoD) теста cobas® MPX для РНК ВИЧ-1 группы М, РНК ВИЧ-1 группы О, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ определяли с помощью указанных ниже стандартов.

- 3-й Международный стандарт ВОЗ для РНК ВИЧ-1 группы М (код NIBSC 10/152).
- Международный стандарт ВОЗ для РНК ВИЧ-2 (код NIBSC 08/150) ³⁹
- Первичные стандарты Roche для РНК ВИЧ-1 группы О.
- 2-й Международный стандарт ВОЗ для РНК ВГС (код NIBSC 96/798).
- 3-й Международный стандарт ВОЗ для ДНК ВГВ (NIBSC 10/264).

В настоящее время отсутствует международный стандарт для РНК ВИЧ-1 группы О. Стандарт Roche РНК ВИЧ-1 группы О прослеживается до референсной панели № 1 лот 01 РНК ВИЧ-1 субтипа СВЕР. Первичные стандарты Roche для РНК ВИЧ-1 группы О получены из коммерчески доступных запасов культурального вируса, P/N 2420 (номер по каталогу 500493, SeraCare Life Sciences).

Для международных стандартов ВОЗ для ВИЧ-1 группы М, ВГС и ВГВ, ВИЧ-2, а также первичного стандарта Roche ВИЧ-1 группы О готовили по три независимых серии разведений каждого стандарта, совместно приготовленных для ВИЧ-1 группы М, ВГС и ВГВ и индивидуально приготовленных для ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2 в нормальной вирус-негативной (по ВИЧ, ВГС и ВГВ) человеческой плазме с ЭДТА. Каждую серию разведений тестировали с 3 разными лотами реагентов cobas® MPX примерно в 63 повторях для лота, всего около 189 повторов для каждой концентрации. Для международного стандарта ВОЗ ВИЧ-2 для каждого из 3 лотов реагентов тестировали 33 повтора 3 независимых разведений, всего 99 повторов для каждой концентрации. LoD для каждого вируса определяли методом 95 % PROBIT (Табл. 14) и 50 % (Табл. 15) PROBIT анализа данных, объединенных для серий разведений и лотов реагентов, а также определяли нижний и верхний пределы 95%-го доверительного интервала. Показатели частоты реактивности при определении LoD для каждого вируса приведены в Табл. 16 до Табл. 20.

Табл. 14 Результаты 95 % PROBIT анализа LoD для данных, полученных по вирусным стандартам в плазме с ЭДТА и сыворотке крови

Матрикс	Аналит	Единицы измерения	LoD	Нижний предел доверительного интервала 95 %	Верхний предел доверительного интервала 95 %
Плазма с ЭДТА	ВИЧ-1 группа М	МЕ/мл	25,7	21,1	32,8
	ВИЧ-1 группа О	копии/мл	8,2	7,0	10,0
	ВИЧ-2	МЕ/мл	4,0	3,3	5,2
	ВГС	МЕ/мл	7,0	5,9	8,6
	ВГВ	МЕ/мл	1,4	1,2	1,7
Сыворотка крови	ВИЧ-1 группа М	МЕ/мл	23,7	20,0	29,1
	ВИЧ-1 группа О	копии/мл	12,2	10,3	14,9
	ВИЧ-2	МЕ/мл	4,4	3,5	5,8
	ВГС	МЕ/мл	8,1	6,8	10,1
	ВГВ	МЕ/мл	1,3	1,1	1,5

Табл. 15 Результаты 50 % PROBIT анализа LoD для данных, полученных по вирусным стандартам в плазме с ЭДТА и сыворотке крови

Матрикс	Аналит	Единицы измерения	LoD	Нижний предел доверительного интервала 95 %	Верхний предел доверительного интервала 95 %
Плазма с ЭДТА	ВИЧ-1 группа М	МЕ/мл	3,8	3,4	4,3
	ВИЧ-1 группа О	копии/мл	1,7	1,5	1,9
	ВИЧ-2	МЕ/мл	0,9	0,8	1,1
	ВГС	МЕ/мл	1,3	1,1	1,4
	ВГВ	МЕ/мл	0,3	0,3	0,3
Сыворотка крови	ВИЧ-1 группа М	МЕ/мл	4,6	4,1	5,1
	ВИЧ-1 группа О	копии/мл	2,5	2,2	2,7
	ВИЧ-2	МЕ/мл	0,9	0,8	1,1
	ВГС	МЕ/мл	1,4	1,3	1,6
	ВГВ	МЕ/мл	0,3	0,3	0,3

Табл. 16 Частота реактивности по ВИЧ-1 группы М в плазме с ЭДТА и сыворотке крови

Матрикс	Концентрация РНК ВИЧ-1 группы М (МЕ/мл)	Количество реактивных результатов	Число валидных повторов	% реактивных результатов	Нижний предел доверительного интервала 95 % (одностороннего)
Плазма с ЭДТА	30	186	188	98,9 %	96,7 %
	15	170	189	89,9 %	85,6 %
	7,5	124	189	65,6 %	59,5 %
	4,5	96	189	50,8 %	44,6 %
	1,5	50	189	26,5 %	21,2 %
Сыворотка крови	30	186	189	98,4 %	95,9 %
	15	170	189	89,9 %	85,6 %
	7,5	123	189	65,1 %	59,0 %
	4,5	85	189	45,0 %	38,8 %
	1,5	31	189	16,4 %	12,1 %

Табл. 17 Частота реактивности по ВИЧ-1 группы О в плазме с ЭДТА и сыворотке крови

Матрикс	Концентрация РНК ВИЧ-1 группы О (копии/мл)	Количество реактивных результатов	Число валидных повторов	% реактивных результатов	Нижний предел доверительного интервала 95 % (одностороннего)
Плазма с ЭДТА	18	187	187	100,0 %	98,4 %
	9	181	187	96,8 %	93,8 %
	4,5	162	189	85,7 %	80,8 %
	2,7	117	189	61,9 %	55,7 %
	0,9	57	189	30,2 %	24,7 %
Сыворотка крови	18	186	187	99,5 %	97,5 %
	9	173	188	92,0 %	88,0 %
	4,5	142	189	75,1 %	69,4 %
	2,7	79	189	41,8 %	35,8 %
	0,9	39	189	20,6 %	15,9 %

Табл. 18 Частота реактивности по ВИЧ-2 в плазме с ЭДТА и сыворотке крови

Матрикс	Концентрация РНК ВИЧ-2 (МЕ/мл)	Количество реактивных результатов	Число валидных повторов	% реактивных результатов	Нижний предел доверительного интервала 95 % (одностороннего)
Плазма с ЭДТА	10	98	98	100,0 %	97,0 %
	5	98	99	99,0 %	95,3 %
	2,5	80	98	81,6 %	74,0 %
	1,5	71	99	71,7 %	63,3 %
	0,5	26	99	26,3 %	19,1 %
Сыворотка крови	10	98	98	100,0 %	97,0 %
	5	98	99	99,0 %	95,3 %
	2,5	81	99	81,8 %	74,2 %
	1,5	63	98	64,3 %	55,6 %
	0,5	28	98	28,6 %	21,1 %

Табл. 19 Частота реактивности по ВГС в плазме с ЭДТА и сыворотке крови

Матрикс	Концентрация РНК ВГС (МЕ/мл)	Количество реактивных результатов	Число валидных повторов	% реактивных результатов	Нижний предел доверительного интервала 95 % (одностороннего)
Плазма с ЭДТА	12	187	188	99,5 %	97,5 %
	6	178	189	94,2 %	90,6 %
	3	148	189	78,3 %	72,8 %
	1,8	112	189	59,3 %	53,0 %
	0,6	50	189	26,5 %	21,2 %
Сыворотка крови	12	186	189	98,4 %	95,9 %
	6	173	189	91,5 %	87,4 %
	3	139	189	73,5 %	67,7 %
	1,8	112	189	59,3 %	53,0 %
	0,6	41	189	21,7 %	16,9 %

Табл. 20 Частота реактивности по ВГВ в плазме с ЭДТА и сыворотке крови

Матрикс	Концентрация ДНК ВГВ (МЕ/мл)	Количество реактивных результатов	Число валидных повторов	% реактивных результатов	Нижний предел доверительного интервала 95 % (одностороннего)
Плазма с ЭДТА	3,40	188	188	100,0 %	98,4 %
	1,70	184	189	97,4 %	94,5 %
	0,85	165	189	87,3 %	82,6 %
	0,51	126	189	66,7 %	60,6 %
	0,17	58	189	30,7 %	25,2 %
Сыворотка крови	3,40	189	189	100,0 %	98,4 %
	1,70	184	189	97,4 %	94,5 %
	0,85	166	189	87,8 %	83,2 %
	0,51	140	189	74,1 %	68,3 %
	0,17	52	189	27,5 %	22,2 %

Воспроизводимость

Воспроизводимость теста **cobas®** MPX в системах **cobas®** 6800/8800 определяли с помощью следующих стандартов:

- вторичные стандарты компании Roche для ВИЧ-1 группы М, ВГС и ВГВ;
- первичные стандарты компании Roche для ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2.

В данном исследовании тестировали три панели, включавших в себя одновременно ВИЧ-1 группы М, ВГС и ВГВ, а также отдельные образцы ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2 в концентрациях, равных примерно $0,5 \times$, $1 \times$ и $2 \times$ LoD теста **cobas®** MPX для каждого вируса. Тестирование выполняли при следующих переменных факторах:

- вариабельность между днями на протяжении 3 дней;
- вариабельность между лотами для 3 разных лотов набора реагентов теста **cobas®** MPX;
- вариабельность между приборами для 3 разных систем **cobas®** 8800.

Примерно 21 повтор был протестирован для каждой из 3 панелей, всего 63 повтора для каждого лота набора реагентов. Воспроизводимость для всех валидных данных оценивали методом расчета процента реактивных результатов теста для каждой концентрации для всех переменных факторов.

Пределы двустороннего 95%-го доверительного интервала рассчитывали для каждой частоты обнаружения каждой из трех концентраций ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2, ВГС и ВГВ, тестируемых в течение 3 дней с 3 лотами реагентов на 3 системах **cobas®** 8800. Было продемонстрировано, что результаты теста **cobas®** MPX воспроизводимы в течение нескольких дней с несколькими лотами набора реагентов на нескольких приборах. Результаты вариабельности между лотами набора реагентов приведены в Табл. 21.

Табл. 21 Воспроизводимость между лотами набора реагентов **cobas®** MPX

Аналит	Концентрация	Лот набора реагентов	% реактивных (реактивные/валидные повторы)	Нижний предел доверительного интервала 95 %	Верхний предел доверительного интервала 95 %
ВИЧ-1 группа М	$2 \times$ LoD	1	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
	$1 \times$ LoD	1	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	98,4 % (62/63)	91,5 %	100,0 %
		3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
	$0,5 \times$ LoD	1	85,7 % (54/63)	74,6 %	93,3 %
		2	95,2 % (60/63)	86,7 %	99,0 %
		3	92,1 % (58/63)	82,4 %	97,4 %
ВИЧ-1 группа О	$2 \times$ LoD	1	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
	$1 \times$ LoD	1	92,1 % (58/63)	82,4 %	97,4 %
		2	93,7 % (59/63)	84,5 %	98,2 %
		3	93,7 % (59/63)	84,5 %	98,2 %
	$0,5 \times$ LoD	1	74,6 % (47/63)	62,1 %	84,7 %
		2	76,2 % (48/63)	63,8 %	86,0 %
		3	74,6 % (47/63)	62,1 %	84,7 %

Аналит	Концентрация	Лот набора реагентов	% реактивных (реактивные/валидные повторы)	Нижний предел доверительного интервала 95 %	Верхний предел доверительного интервала 95 %
ВИЧ-2	2 × LoD	1	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	98,4 % (62/63)	91,5 %	100,0 %
	1 × LoD	1	82,5 % (52/63)	70,9 %	90,9 %
		2	93,7 % (59/63)	84,5 %	98,2 %
		3	87,3 % (55/63)	76,5 %	94,4 %
	0,5 × LoD	1	74,6 % (47/63)	62,1 %	84,7 %
		2	71,4 % (45/63)	58,7 %	82,1 %
		3	73,0 % (46/63)	60,3 %	83,4 %
БГС	2 × LoD	1	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
	1 × LoD	1	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	98,4 % (62/63)	91,5 %	100,0 %
	0,5 × LoD	1	77,8 % (49/63)	65,5 %	87,3 %
		2	98,4 % (62/63)	91,5 %	100,0 %
		3	93,7 % (59/63)	84,5 %	98,2 %
БГВ	2 × LoD	1	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
	1 × LoD	1	90,5 % (57/63)	80,4 %	96,4 %
		2	90,5 % (57/63)	80,4 %	96,4 %
		3	93,7 % (59/63)	84,5 %	98,2 %
	0,5 × LoD	1	84,1 % (53/63)	72,7 %	92,1 %
		2	76,2 % (48/63)	63,8 %	86,0 %
		3	77,8 % (49/63)	65,5 %	87,3 %

Верификация генотипов

Способность теста **cobas**® MPX выявлять субтипы ВИЧ-1 группы М (А–Н, J, K, BF, BG) и циркулирующие рекомбинантные формы (CRF01_AE и CRF02_AG), ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-1 группы N, субтипы ВИЧ-2 (А и В), генотипы ВГС (1–6) и генотипы ВГВ (А–Н и мутант пресcore) определяли методом тестирования индивидуальных клинических образцов и (или) культуральных изолятов для каждого субтипа и генотипа, приведенных в Табл. 22 до Табл. 26.

ВИЧ-1 группа М

Всего 115 индивидуальных клинических образцов, содержащих ВИЧ-1 группы М с известным субтипом ВИЧ-1, количественно оценивали на концентрацию ВИЧ-1 в тесте COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0. Все 115 образцов тестировали после разведения нормальной вирус-негативной (по ВИЧ, ВГС и ВГВ) человеческой плазмой с ЭДТА до концентрации $5 \times \text{LoD}$ в тесте **cobas**® MPX, из них 102 образца также тестировали неразведенными. Во всех 115 клинических образцах, содержащих известные субтипы, были обнаружены искомые аналиты при тестировании неразведенных образцов и (или) в разведении до $5 \times \text{LoD}$ (Табл. 22).

Табл. 22 Клинические образцы с ВИЧ-1 группы М

Субтип	% реактивных (реактивные/тестируемые образцы) без разведения	% реактивных (реактивные/тестируемые образцы) разведение до $5 \times \text{LoD}$
A	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
CRF01_AE	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
CRF02_AG	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
B	100,0 % (11/11)	100,0 % (11/11)
C	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
D	100,0 % (11/11)	100,0 % (11/11)
F	100,0 % (10/10)	100,0 % (10/10)
G	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
H	100,0 % (10/10)	100,0 % (10/10)
BF	Не исследовался *	100,0 % (3/3)
BG	Не исследовался *	100,0 % (4/4)
J	Не исследовался *	100,0 % (2/2)
K	Не исследовался *	100,0 % (4/4)

* Недостаточный объем для тестирования неразведенным.

ВИЧ-1 группа О и ВИЧ-1 группа N

Всего 7 культуральных изолятов ВИЧ-1 группы О и 2 культуральных изолята ВИЧ-1 группы N тестировали после логарифмических разведений нормальной вирус-негативной (по ВИЧ, ВГС и ВГВ) человеческой плазмой с ЭДТА. Для изолятов ВИЧ-1 группы О тестировали 28 повторов для 7 изолятов, в 4 повторах для каждого разведения. Для ВИЧ-1 группы N тестировали два изолята. Для одного изолята тестировали в четырех повторах разведения от 1:1,00E+02 до 1:1,00E+03 и в одном повторе тестировали второй изолят в разведении 1:1,00E+04. В культуральных изолятах ВИЧ-1 группы О были обнаружены искомые аналиты в разведениях до 1:1,00E+07, в культуральных изолятах группы N были обнаружены искомые аналиты в разведениях до 1:1,00E+04 (Табл. 23).

Табл. 23 Культуральные изоляты ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-1 группы N

Разведение образца	% реактивных (реактивные/валидные тестировавшиеся повторы)	
	ВИЧ-1 группа О	ВИЧ-1 группа N
1:1,00E+02	100,0 % (28/28)	100,0 % (4/4)
1:1,00E+03	100,0 % (28/28)	100,0 % (4/4)
1:1,00E+04	89,3 % (25/28)	20,0 % (1/5)
1:1,00E+05	71,4 % (20/28)	0,0 % (0/4)
1:1,00E+06	71,4 % (20/28)	0,0 % (0/4)
1:1,00E+07	71,4 % (20/28)	0,0 % (0/4)

ВИЧ-2

Всего 5 культуральных изолятов ВИЧ-2 субтипа А (4) и В (1) тестировали после логарифмических разведений нормальной вирус-негативной (по ВИЧ, ВГС и ВГВ) человеческой плазмой с ЭДТА. Для субтипа А всего 16 повторов для 4 изолятов тестировали в каждом разведении. Для одного изолята субтипа В всего тестировали 4 повтора для каждого разведения. Всего 11 клинических образцов ВИЧ-2 субтипа А (5) и В (6) тестировали после логарифмических разведений нормальной вирус-негативной человеческой плазмой с ЭДТА. Для субтипа А тестировали 20 повторов для 5 клинических образцов, для субтипа В тестировали 24 повтора для 6 клинических образцов, по 4 повтора для каждого разведения. Во всех культуральных изолятах были обнаружены искомые аналиты в тесте **cobas® MPX**. В клинических образцах были обнаружены искомые аналиты в тесте **cobas® MPX** в разведениях до 1:1,00E+03 для субтипов А и В. Обобщенные результаты приведены в Табл. 24.

Табл. 24 Культуральные изоляты и клинические образцы ВИЧ-2

Разведение образца	% реактивных (реактивные/валидные тестировавшиеся повторы)			
	Культуральный изолят		Клинический образец	
	Субтип А	Субтип В	Субтип А	Субтип В
1:1,00E+02	100,0 % (16/16)	100,0 % (4/4)	100,0 % (20/20)	100,0 % (24/24)
1:1,00E+03	100,0 % (16/16)	100,0 % (4/4)	65,0 % (13/20)	50,0 % (12/24)
1:1,00E+04	100,0 % (15/15)	100,0 % (4/4)	25,0 % (5/20)	0,0 % (0/24)
1:1,00E+05	100,0 % (16/16)	100,0 % (4/4)	5,0 % (1/20)	0,0 % (0/24)
1:1,00E+06	100,0 % (16/16)	100,0 % (4/4)	0,0 % (0/20)	0,0 % (0/24)
1:1,00E+07	81,2 % (13/16)	0,0 % (0/4)	0,0 % (0/20)	0,0 % (0/24)

ВГС

Всего 96 индивидуальных клинических образцов ВГС с известным генотипом ВГС количественно оценивали на концентрацию ВГС в тесте COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Test v2.0. Все 96 клинических образцов с известным генотипом ВГС тестировали после разведения нормальной вирус-негативной (по ВИЧ, ВГС и ВГВ) человеческой плазмы с ЭДТА до концентрации $5 \times \text{LoD}$ теста cobas® MPX. Из этих образцов 95 также тестировали неразведенными. Все образцы тестировали в одном повторе. Во всех 96 ВГС-позитивных клинических образцах был обнаружен искомый анализ при тестировании неразведенными и (или) разведенными, как указано в Табл. 25.

Табл. 25 Клинические образцы с ВГС

Генотип	% реактивных (реактивные/тестируемые образцы) без разведения	% реактивных (реактивные/тестируемые образцы) разведение до $5 \times \text{LoD}$
1a	100,0 % (9/9)	100,0 % (9/9)
1b	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
1	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
2b	100,0 % (1/1)	100,0 % (1/1)
2	100,0 % (13/13)	100,0 % (13/13)
3a	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
3	100,0 % (1/1)	100,0 % (1/1)
4	100,0 % (13/13)	100,0 % (13/13)
5a	100,0 % (10/10)	100,0 % (10/10)
5	100,0 % (2/2)	100,0 % (2/2)
6	100,0 % (10/10)	100,0 % (11/11)

ВГВ

Всего 94 индивидуальных клинических образца ВГВ с известным генотипом вируса, включая мутанты pre-core, количественно оценивали на концентрацию ВГВ в тесте COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV Test. Все 94 клинических образца ВГВ с известным генотипом вируса тестировали неразведенными и (или) разведенными нормальной вирус-негативной (по ВИЧ, ВГС и ВГВ) человеческой плазмой с ЭДТА до концентрации $5 \times \text{LoD}$ теста cobas® MPX. Все образцы тестировали в одном повторе. Во всех 94 ВГВ-позитивных клинических образцах был обнаружен искомый аналит при тестировании неразведенными и (или) разведенными, как указано в Табл. 26.

Табл. 26 Клинические образцы с ВГВ

Генотип	% реактивных (реактивные/тестируемые образцы) без разведения	% реактивных (реактивные/тестируемые образцы) разведение до $5 \times \text{LoD}$
A	100,0 % (15/15)	100,0 % (15/15)
B	100,0 % (12/12)	100,0 % (11/11)
C	100,0 % (10/10)	100,0 % (9/9)
D	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
E	100,0 % (12/12)	100,0 % (11/11)
F	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)
G	Не исследовался *	100,0 % (1/1)
H	100,0 % (8/8)	100,0 % (8/8)
Преконовый мутант	100,0 % (12/12)	100,0 % (12/12)

* Недостаточный объем для тестирования неразведенным.

Сероконверсионные панели

Характеристики теста **cobas® MPX** оценивали с помощью коммерчески доступных сероконверсионных панелей ВИЧ-1 группы М, ВГС и ВГВ. Результаты, полученные в тесте **cobas® MPX**, сравнивали с результатами, полученными при тестировании этих же панелей в лицензированном FDA тесте **cobas® TaqScreen MPX Test** в системе **cobas s 201**. Дополнительно для каждого вируса проводили сравнения результатов теста **cobas® MPX** с результатами серологических тестов, лицензированных CE-IVD и FDA.

Сероконверсионные панели ВИЧ-1 группы М

Тестировали 10 коммерчески доступных сероконверсионных панелей. Каждый образец панели тестировали неразведенным и в разведении 1:6 и 1:96 для имитации разведения в пулах при тестировании в тестах **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX Test**. Полученные в тесте **cobas® MPX** результаты сравнивали с результатами теста **cobas® TaqScreen MPX Test**, а также лицензированных CE-IVD и FDA серологических тестов на ВИЧ при тестировании неразведенных образцов. Обобщенные результаты приведены в Табл. 27.

Табл. 27 Результаты испытаний теста **cobas® MPX** на сероконверсионных панелях ВИЧ

Сероконверсионные панели ВИЧ	Дни до обнаружения антител/антигена ВИЧ или РНК ВИЧ								
	Abbott ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo: неразведенные			Abbott PRISM HIV Ag/Ab Combo: неразведенные			cobas® TaqScreen MPX Test: неразведенные, 1:6, 1:96		
	Дни до обнаружения в тесте cobas® MPX								
	Нераз- веден- ные	1:6	1:96	Нераз- веден- ные	1:6	1:96	Нераз- веден- ные	1:6	1:96
1	3	3	3	3	3	3	0	0	0
2	7	2	2	12	7	7	5	0	0
3	7	5	5	7	5	5	2	0	0
4	15	15	8	15	15	8	0	0	0
5	7	7	7	7	7	7	0	0	2
6	10	3	3	10	3	3	2	0	0
7	9	9	7	9	9	7	0	0	0
8	11	11	9	11	11	9	0	0	0
9	2	2	2	2	2	2	0	0	0
10	7	7	7	7	7	7	0	0	2
Минимум	2	2	2	2	2	2	0	0	0
Среднее	7,8	6,4	5,3	8,3	6,9	5,8	0,9	0	0,4
Максимум	15	15	15	15	15	9	5	0	2

Сероконверсионные панели ВГС

Тестировали 10 коммерчески доступных сероконверсионных панелей. Каждый образец панели тестировали неразведенным и в разведении 1:6 и 1:96 для имитации разведения в пулах при тестировании в тестах **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX Test**. Полученные в тесте **cobas® MPX** результаты сравнивали с результатами теста **cobas® TaqScreen MPX Test**, а также лицензированных CE-IVD и FDA серологических тестов на ВГС при тестировании неразведенных образцов. Обобщенные результаты приведены в Табл. 28.

Табл. 28 Результаты испытаний теста **cobas® MPX** на сероконверсионных панелях ВГС

Сероконверсионные панели ВГС	Дни до обнаружения антител/антигена ВГС или РНК ВГС								
	Тест-система ORTHO HCV Version 3.0 ELISA Test System: неразведенные			Abbott PRISM HCV: неразведенные			cobas® TaqScreen MPX Test: неразведенные, 1:6, 1:96		
	Дни до обнаружения в тесте cobas® MPX								
	Нераз- веден- ные	1:6	1:96	Нераз- веден- ные	1:6	1:96	Нераз- веден- ные	1:6	1:96
1	13	13	13	13	13	13	0	0	0
2	23	23	23	23	23	23	0	0	0
3	33	33	33	33	33	33	–6	0	0
4	32	32	32	32	32	32	0	0	0
5	38	38	38	38	38	38	–24 **	0	0
6	34	34	34	34	34	34	0	0	0
7 *	11	11	11	11	11	11	0	0	0
8	65	65	65	65	65	65	0	0	0
9 *	13	13	13	16	16	16	0	0	0
10 *	21	21	21	21	21	21	0	0	0
Минимум	13	13	13	13	13	13	–24	0	0
Среднее с исключениями *	34	34.	34	34	34	34	–3	0	0
Максимум	65	65	65	65	65	65	0	0	0

* Панели с постоянно реактивными в тесте **cobas® MPX** образцами, соответствующими первому забору крови, были исключены из расчета минимального, среднего и максимального числа дней до обнаружения антител к ВГС.

** 24-дневный интервал между точками.

Сероконверсионные панели ВГВ

Тестировали 10 коммерчески доступных сероконверсионных панелей. Каждый образец панели тестировали неразведенным и в разведении 1:6 и 1:96 для имитации разведения в пулах при тестировании в тестах **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX Test**. Полученные в тесте **cobas® MPX** результаты сравнивали с результатами теста **cobas® TaqScreen MPX Test**, а также лицензированных CE-IVD и FDA серологических тестов на ВГВ при тестировании неразведенных образцов. Обобщенные результаты приведены в Табл. 29.

Табл. 29 Результаты испытаний теста **cobas® MPX** на сероконверсионных панелях ВГВ

Сероконверсионные панели ВГВ	Дни до обнаружения HBsAg или ДНК ВГВ								
	Тест-система ORTHO HBSAg ELISA Test System 3: неразведенные			Abbott PRISM HBsAg: неразведенные			cobas® TaqScreen MPX Test: неразведенные, 1:6, 1:96		
	Дни до обнаружения в тесте cobas® MPX								
	Нераз- веден- ные	1:6	1:96	Нераз- веден- ные	1:6	1:96	Нераз- веден- ные	1:6	1:96
1	36	19	7	29	12	0	17	0	0
2	19	11	7	8	0	−4 *	0	−3	0
3	24	24	0	24	24	0	−7	7	0
4	17	17	0	0	0	−17 *	0	0	0
5	30	30	9	28	28	7	0	0	7
6	28	28	17	18	18	7	−8	4	10
7	16	13	5	11	8	0	9	0	5
8	30	28	14	0	−2 *	−16 *	2	12	0
9	24	24	13	17	17	6	0	2	6
10	38	42	27	29	33	18	−4	15	3
Минимум	16	11	0	0	−2	−17	−8	−3	0
Среднее	26,2	23,6	9,9	16,4	13,8	0,1	0,9	3,7	3,1
Максимум	38	42	27	29	33	18	17	15	10

* Низкие концентрации ДНК ВГВ присутствовали в разведенных образцах панелей, как было определено в тесте **cobas® MPX** позднее, по сравнению с данными серологических тестов; 0,6 МЕ/мл в панели 2 в разведении 1:96, 2,0 МЕ/мл в панели 4 в разведении 1:96 (плюс необычно ранний, но слабый серологический результат S/Co), данный анализ не обнаружен в панели 8 в разведении 1:6 и обнаружен в концентрации 0,5 МЕ/мл в панели 8 в разведении 1:96, в образце с конверсией NAT в тесте **cobas® MPX**, подтвержденной альтернативным методом количественного анализа NAT.

Аналитическая специфичность

Аналитическую специфичность теста **cobas® MPX** определяли методом оценки перекрестной реактивности при тестировании 25 микроорганизмов в концентрации 10^6 частиц, копий или PFU/мл, включая 18 вирусных изолятов, 6 бактериальных штаммов и 1 изолят дрожжей (Табл. 30). Микроорганизмы вводили в нормальную вирус-негативную (по ВИЧ, ВГС и ВГВ) человеческую плазму с ЭДТА и тестировали в отсутствие и в присутствии ВИЧ-1 группы М, ВГС, ВГВ (одновременно три вируса), ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2, вводимых в концентрации примерно $3 \times \text{LoD}$ теста **cobas® MPX** для каждого вируса. Тестируемые микроорганизмы не вызвали перекрестную реактивность и не оказывали интерферирующего влияния при проведении теста **cobas® MPX**.

Табл. 30 Микроорганизмы, тестируемые для определения аналитической специфичности

Вирусы	Флавивирус	Бактерии	Дрожжи
Аденовирус типа 5	Вирус Западного Нила	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Цитомегаловирус	Вирус Денге типа 1	<i>Propionibacterium acnes</i>	-
Вирус Эпштейна – Барр	Вирус Усуту	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Вирус простого герпеса типа 1	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Вирус простого герпеса типа 2	-	<i>Streptococcus viridans</i>	-
Вирус гепатита А	-	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-
Вирус гепатита Е	-	-	-
Вирус гепатита G	-	-	-
Т-клеточный лимфотропный вирус человека, тип I	-	-	-
Т-клеточный лимфотропный вирус человека, тип II	-	-	-
Вирус герпеса человека 6	-	-	-
Вирус гриппа А	-	-	-
Парвовирус В19	-	-	-
Вирус чикунгунья	-	-	-
Вирус варицелла зостер	-	-	-

Образцы плазмы, полученные от пациентов с клинически подтвержденными заболеваниями (Табл. 31), тестировали в отсутствие и в присутствии ВИЧ-1 группы М, ВГС, ВГВ (одновременно три вируса), ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2, вводимых в концентрации примерно $3 \times \text{LoD}$ теста **cobas® MPX** для каждого вируса. Данные заболевания не вызвали перекрестную реактивность и не оказывали интерферирующего влияния при проведении теста **cobas® MPX**.

Табл. 31 Образцы от пациентов с клинически подтвержденным заболеванием, тестируемые для определения аналитической специфичности

Заболевание		
Аденовирус типа 5	Вирус простого герпеса типа 1	Т-клеточный лимфотропный вирус человека, тип I
Цитомегаловирус	Вирус простого герпеса типа 2	Т-клеточный лимфотропный вирус человека, тип II
Вирус Денге	Вирус гепатита А	Парвовирус В19
Вирус Эпштейна – Барр	Вирус гепатита Е	Вирус Западного Нила

Аналитическая специфичность: интерферирующие вещества

Эндогенные интерферирующие вещества

Образцы плазмы с аномально повышенными уровнями триглицеридов (до 33,2 г/л), гемоглобина (до 2 г/л), свободного билирубина (до 0,236 г/л), альбумина (до 60 г/л) и человеческой ДНК (до 0,002 г/л) тестировали в отсутствие и в присутствии ВИЧ-1 группы М, ВГС, ВГВ (одновременно три вируса), ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2, вводимых в концентрации примерно $3 \times \text{LoD}$ теста cobas® MPX. Образцы, содержащие данные эндогенные вещества, не оказывали интерферирующего влияния при определении чувствительности или специфичности теста cobas® MPX.

Экзогенные интерферирующие вещества

Образцы нормальной вирус-негативной (ВИЧ, ВГС и ВГВ) человеческой плазмы с ЭДТА, содержащие лекарственные препараты в повышенных концентрациях (Табл. 32), тестировали в отсутствие и в присутствии ВИЧ-1 группы М, ВГС, ВГВ (одновременно три вируса), ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2, вводимых в концентрации примерно $3 \times \text{LoD}$ теста cobas® MPX для каждого вируса. Данные экзогенные вещества не оказывали интерферирующего влияния при определении чувствительности или специфичности теста cobas® MPX.

Табл. 32 Клинические образцы, тестировавшиеся с лекарственными препаратами

Название исследуемого лекарственного препарата	Концентрация
Ацетаминофен	1324 мкмоль/л
Ацетилсалициловая кислота	3620 мкмоль/л
Аскорбиновая кислота	342 мкмоль/л
Аторвастатин	600 мкг-экв./л
Флуоксетин	11,2 мкмоль/л
Ибупрофен	2425 мкмоль/л
Лоратадин	0,78 мкмоль/л
Надолол	3,88 мкмоль/л
Напроксен	2170 мкмоль/л
Пароксетин	3,04 мкмоль/л
Фенилэфрин HCL	491 мкмоль/л
Сертралин	1,96 мкмоль/л

Корреляция

Сравнительные испытания теста cobas® MPX и теста cobas® TaqScreen MPX Test, v2.0

Сравнительные испытания теста cobas® MPX и теста cobas® TaqScreen MPX Test, v2.0 проводили при тестировании 100 индивидуальных серопозитивных образцов плазмы для ВИЧ-1 группы М, ВГС и ВГВ соответственно. Образцы тестировали неразведенными и в разведении 1:6. Для ВИЧ-2 48 серопозитивных образцов тестировали неразведенными, 99 образцов тестировали в разведении 1:6, для ВИЧ-1 группы О тестировали 13 серопозитивных образцов в разведении 1:6. Также в двух тестах параллельно тестировали 103 серонегативных образца плазмы.

При тестировании серонегативных образцов специфичность составила 100 %, в обоих тестах были получены 103 нереактивных результата для 103 образцов.

Для образцов, положительных по ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2, ВГС и ВГВ, оба теста продемонстрировали согласованность результатов, подтвержденную тестом Мак-Немара. Таким образом, была показана эквивалентность тестов cobas® MPX и cobas® TaqScreen MPX Test, v2.0 (Табл. 33 и Табл. 34).

Табл. 33 Корреляция при тестировании серопозитивных образцов (неразведенных)

Методы		Результаты выявления индивидуальной вирусной мишени			
Тест cobas® TaqScreen MPX Test, v2.0	cobas® MPX	ВИЧ-1 группа М	ВГВ	ВГС	ВИЧ-2
Нереактивный	Нереактивный	0	0	0	4
Реактивный	Нереактивный	0	0	0	4 *
Нереактивный	Реактивный	0	0	0	7
Реактивный	Реактивный	100	100	100	33
Всего		100	100	100	48
Тест Мак-Немара, значение р (двусторонний, $\alpha = 0,05$)		1,0	1,0	1,0	0,55

* Четыре дискордантных образца, оказавшихся нереактивными в тесте cobas® MPX при тестировании неразведенными, имели концентрацию ниже предела количественного определения ВИЧ-2 в ПЦР-тесте (< 100 копий/мл, Hopital Bichat-Claude Bernard) и были отрицательными в обоих тестах в разведении 1:6.

Табл. 34 Корреляция при тестировании серопозитивных образцов (разведение 1:6)

Методы		Результаты выявления индивидуальной вирусной мишени				
Тест cobas® TaqScreen MPX Test, v2.0	cobas® MPX	ВИЧ-1 М	ВГВ	ВГС	ВИЧ-2	ВИЧ-1 О
Нереактивный	Нереактивный	0	0	0	39	0
Реактивный	Нереактивный	0	0	0	6 *	0
Нереактивный	Реактивный	0	0	0	8	0
Реактивный	Реактивный	100	100	100	46	13
Всего		100	100	100	99	13
Тест Мак-Немара, значение р (двусторонний, $\alpha = 0,05$)		1,0	1,0	1,0	0,79	1,0

* Шесть дискордантных образцов были выявлены, все были нереактивными в тесте cobas® MPX. Три из этих шести дискордантных образцов, оказавшихся нереактивными в тесте cobas® MPX в разведении 1:6, имели концентрацию ниже предела количественного определения ВИЧ-2 в ПЦР-тесте (< 100 копий/мл) (Hopital Bichat-Claude Bernard). Остальные три образца также имели низкий титр (27,7 МЕ/мл, ниже предела количественного определения ВИЧ-2 в тесте HIV-2 RNA LDT, и 150 копий/мл для теста HIV-2 Quant PCR assay) и все три образца были положительными в обоих тестах при тестировании неразведенными.

Системные ошибки

Частоту системной ошибки для теста cobas® MPX определяли при тестировании в 100 повторях образцов плазмы с ЭДТА, в которую вносили ВИЧ-1 группы М, ВГС, ВГВ (одновременно три вируса), ВИЧ-1 группы О или ВИЧ-2, всего в 300 повторях. Данные образцы тестировали при концентрации мишени, равной примерно $3 \times \text{LoD}$ в пулах по одному образцу (неразведенными). Тестирование проводили в системе cobas® 8800 с прибором cobas p 680 (раскапывание и пулирование).

Полученные результаты показали, что все повторы дали положительный результат для каждой мишени, при этом частота системной ошибки составила 0 %. Нижняя граница двустороннего 95 %-го доверительного интервала была равна 0 %, верхняя — 1,22 % [0 %: 1,22 %].

Перекрестная контаминация

Частоту перекрестной контаминации в тесте cobas® MPX определяли при тестировании 240 повторов образцов нормальной вирус-негативной (ВИЧ, ВГС и ВГВ) человеческой плазмы с ЭДТА и 220 повторов образца ВГВ с высоким титром, равным $1,00\text{E}+08$ МЕ/мл. Исследование проводили в системе cobas® 8800. Всего было проведено 5 постановок, в которых положительные и отрицательные образцы были расставлены в шахматном порядке.

Все 240 повторов отрицательных образцов были нереактивны. Таким образом, частота перекрестной контаминации составила 0 %. Нижняя граница двустороннего 95 %-го доверительного интервала была равна 0 %, верхняя — 1,53 % [0 %: 1,53 %].

Образцы от трупных доноров

Чувствительность

Клиническая чувствительность теста **cobas®** MPX для РНК ВИЧ-1 группы М, РНК ВИЧ-1 группы О, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ оценивалась при исследовании 60 индивидуальных вирус-негативных образцов от трупных доноров, из которых 35 индивидуальных образцов были классифицированы как умеренно гемолизированные (от соломенного до розового цвета), а 25 индивидуальных образцов были классифицированы как сильно гемолизированные (от красного до коричневого цвета). Кроме того, исследовано всего 60 индивидуальных вирус-негативных образцов от живых доноров. Все образцы от трупных и живых доноров разделялись равномерно на три лота реагентов, 5 вводимых методом добавок групп клинических образцов (для ВИЧ-1, ВГС и ВГВ) по 12 образцов в группе. В каждый образец от трупных и живых доноров была введена добавка смеси трех индивидуальных клинических образцов (ВИЧ-1 группы М, ВГС и ВГВ) или первичные стандарты Roche (отдельно для ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2) в концентрации примерно $5 \times \text{LoD}$ от соответствующих видов образцов. Каждый образец от трупных доноров разводили 1:5,6 с помощью дилуента для образцов **cobas omni Specimen Diluent** в приборе и исследовали с помощью процедуры тестирования образцов от трупных доноров.

Во всех образцах от трупных и живых доноров частота реактивности составляла 100 % (доверительный интервал 95 %: 94,0–100 %). Клиническая чувствительность, наблюдаемая для образцов от трупных доноров, была эквивалентна чувствительности, наблюдаемой для образцов от живых доноров, как подтверждено точным критерием Фишера и показано в Табл. 35.

Табл. 35 Частота реактивности в образцах от трупных и живых доноров в плазме с ЭДТА

Аналит	Образцы от трупных доноров	Образцы от живых доноров
	% реактивных (количество реактивных/ количество исследованных образцов)	% реактивных (количество реактивных/ количество исследованных образцов)
ВИЧ-1 группа М	100 % (60/60)	100 % (60/60)
ВИЧ-1 группа О	100 % (60/60)	100 % (60/60)
ВИЧ-2	100 % (60/60)	100 % (60/60)
ВГС	100 % (60/60)	100 % (60/60)
ВГВ	100 % (60/60)	100 % (60/60)
Точный критерий Фишера, значение p ($\alpha = 0,05$)	Достоверных различий в частоте реактивности нет ($p = 1,000$)	

Специфичность

Специфичность теста **cobas® MPX** в плазме с ЭДТА и образцах сыворотки крови от трупных доноров оценивалась и сравнивалась со специфичностью в образцах от живых доноров путем исследования 60 индивидуальных образцов плазмы с ЭДТА от трупных доноров, из которых 37 индивидуальных образцов были классифицированы как умеренно гемолизированные (от соломенного до розового цвета), а 23 индивидуальных образца были классифицированы как сильно гемолизированные (от красного до коричневого цвета); 61 индивидуального образца сыворотки крови от трупных доноров, из которых 42 индивидуальных образца были классифицированы как умеренно гемолизированные, а 19 индивидуальных образцов были классифицированы как сильно гемолизированные, 60 индивидуальных серонегативных образцов плазмы и 60 индивидуальных образцов сыворотки крови от живых доноров. Исследование проводилось с тремя независимыми лотами реагентов **cobas® MPX**. Каждый образец от трупных доноров разводили 1:5,6 с помощью дилуэнта для образцов **cobas omni Specimen Diluent** в приборе и исследовали с помощью процедуры тестирования образцов от трупных доноров. Все образцы плазмы с ЭДТА и сыворотки от трупных и живых доноров были нереактивными, что говорит о 100 % специфичности. Специфичность, наблюдаемая в образцах от трупных доноров, была эквивалентна специфичности, наблюдаемой в образцах от живых доноров, как подтверждено точным критерием Фишера ($\alpha = 0,05$) и показано в Табл. 36.

Табл. 36 Частота реактивности в образцах от трупных и живых доноров в плазме с ЭДТА и сыворотке крови

Матрикс	Тип образцов	Количество нереактивных	Число тестировавшихся образцов	% нереактивных	Двусторонний доверительный интервал 95 %
Плазма с ЭДТА	Трупный донор	60	60	100 %	94,0–100 %
	Живой донор	60	60	100 %	94,0–100 %
Сыворотка крови	Трупный донор	61	61	100 %	94,1–100 %
	Живой донор	60	60	100 %	94,0–100 %
Общие результаты при применении точного критерия Фишера ($\alpha = 0,05$)		Специфичность для образцов от трупных и живых доноров эквивалентна: точный критерий Фишера, $p = 1,000$			

Воспроизводимость

Воспроизводимость теста **cobas® MPX** в системах **cobas® 6800/8800** определялась с помощью 20 образцов от трупных доноров (умеренно или сильно гемолизированных), в которые были введены клинические образцы ВИЧ-1 М, ВГВ и ВГС и первичные стандарты компании Roche для РНК ВИЧ-1 группы О РНК и РНК ВИЧ-2 до концентрации примерно $5 \times \text{LoD}$ теста **cobas® MPX**. Результаты сравнивали с воспроизводимостью, полученной с 20 образцами от живых доноров с введенными первичными и вторичными стандартами компании Roche до концентрации примерно $5 \times \text{LoD}$ теста **cobas® MPX**.

Тестирование выполняли при следующих переменных факторах:

- вариабельность между днями на протяжении 6 дней;
- вариабельность между лотами для 3 разных лотов набора реагентов теста **cobas® MPX**;

Один повтор тестировался с каждым из трех лотов реагентов в течение шести дней для 18 повторов образцов от трупных и живых доноров. Каждый образец от трупных доноров разводили 1:5,6 с помощью дилуэнта для образцов **cobas omni Specimen Diluent** в приборе и исследовали с помощью процедуры тестирования образцов от трупных доноров. Все валидные данные по воспроизводимости оценивались путем сравнения частоты реактивности образцов от живых доноров и образцов от трупных доноров (двусторонний доверительный интервал 95 %) среди всех переменных факторов. Значение p точного критерия Фишера рассчитывалось для исследования статистической значимости различия между процентами реактивности, наблюдаемыми в образцах от трупных и живых доноров. Значимых различий не наблюдалось.

Тест cobas® MPX воспроизводим в течение нескольких дней с несколькими лотами реагентов для образцов от трупных и живых доноров. Результаты вариабельности между лотами набора реагентов приведены в Табл. 37.

Табл. 37 Воспроизводимость теста cobas® MPX для реагентов от лота к лоту для образцов от трупных и живых доноров

Аналит	Лот набора реагентов	Тип образцов	% реактивных (реактивные/ валидные повторы)	Нижний предел доверительного интервала 95 %	Верхний предел доверительного интервала 95 %	Значимое различие при применении точного критерия Фишера ($\alpha = 0,05$)
ВИЧ-1 группа М	1	Трупный	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	Значение $p = 1,0000$
		Живой донор	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	2	Трупный	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	Значение $p = 1,0000$
		Живой донор	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	3	Трупный	100,0 % (118/118)	96,9 %	100,0 %	Значение $p = 1,0000$
		Живой донор	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
ВИЧ-1 группа О	1	Трупный	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	Значение $p = 1,0000$
		Живой донор	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	2	Трупный	100,0 % (117/117)	96,9 %	100,0 %	Значение $p = 1,0000$
		Живой донор	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	3	Трупный	99,2 % (118/119)	95,4 %	100,0 %	Значение $p = 0,4979$
		Живой донор	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
ВИЧ-2	1	Трупный	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	Значение $p = 1,0000$
		Живой донор	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	2	Трупный	98,3 % (118/120)	94,1 %	99,8 %	Значение $p = 0,4979$
		Живой донор	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	3	Трупный	99,2 % (118/119)	95,4 %	100,0 %	Значение $p = 0,4979$
		Живой донор	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
ВГС	1	Трупный	98,3 % (118/120)	94,1 %	99,8 %	Значение $p = 0,4979$
		Живой донор	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	2	Трупный	98,3 % (118/120)	94,1 %	99,8 %	Значение $p = 0,4979$
		Живой донор	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	3	Трупный	97,5 % (115/118)	92,7 %	99,5 %	Значение $p = 0,1203$
		Живой донор	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
ВГВ	1	Трупный	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	Значение $p = 1,0000$
		Живой донор	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	2	Трупный	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	Значение $p = 1,0000$
		Живой донор	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	3	Трупный	100,0 % (118/118)	96,9 %	100,0 %	Значение $p = 1,0000$
		Живой донор	99,2 % (119/120)	95,4 %	100,0 %	

Клинические испытания теста в системах cobas® 6800/8800

Воспроизводимость

Воспроизводимость теста cobas® MPX для систем cobas® 6800/8800 определяли с помощью образцов панелей, содержащих ВИЧ-1 группы М, группы О, ВИЧ-2, ВГС и/или ВГВ при трех различных концентрациях каждого вируса для разных лотов, лабораторий (приборов), дней и постановок.

В каждой лаборатории теста cobas® MPX операторы выполняли тестирование в течение пяти дней с использованием трех лотов реагентов cobas® MPX, чтобы получить по две валидные постановки за каждый день.

В Табл. 38 представлен процент согласованности по лаборатории (прибору), лоту, дню и постановке валидных результатов тестирования положительных образцов панелей. Данное исследование показало, что результаты теста cobas® MPX для систем cobas® 6800/8800 воспроизводимы в отношении всех оцениваемых переменных (лот, лаборатория (прибор), день и постановка) для пяти тестируемых аналитов.

Табл. 38 Результаты тестов, обобщенные по категориям: лаборатория (прибор), лот, день и постановка (положительные образцы панели)

Вирусная мишень	Вирусная концентрация	Лаборатория/прибор		Лот		День		Постановка	
		ИД	Положительные результаты (%)	ИД	Положительные результаты (%)	ИД	Положительные результаты (%)	ИД	Положительные результаты (%)
ВИЧ-1 группа М	~0,5 × LoD	1	81,7 % (49/60)	1	81,7 % (49/60)	1	91,7 % (33/36)	1	84,3 % (75/89)
		2	84,7 % (50/59)	2	88,3 % (53/60)	2	77,1 % (27/35)	2	81,1 % (73/90)
		3	81,7 % (49/60)	3	78,0 % (46/59)	3	83,3 % (30/36)		
						4	83,3 % (30/36)		
						5	77,8 % (28/36)		
	~1 × LoD	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)	1	97,2 % (35/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)	2	97,2 % (35/36)	2	97,8 % (88/90)
		3	96,7 % (58/60)	3	96,7 % (58/60)	3	100,0 % (36/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	100,0 % (36/36)		
	~3 × LoD	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (36/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (36/36)	2	100,0 % (90/90)
		3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (36/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	100,0 % (36/36)		

		Лаборатория/прибор		Лот		День		Постановка	
Вирусная мишень	Вирусная концентрация	ИД	Положительные результаты (%)	ИД	Положительные результаты (%)	ИД	Положительные результаты (%)	ИД	Положительные результаты (%)
ВИЧ-1 группа О	~0,5 × LoD	1	78,3 % (47/60)	1	83,3 % (50/60)	1	72,2 % (26/36)	1	73,3 % (66/90)
		2	76,7 % (46/60)	2	78,3 % (47/60)	2	77,8 % (28/36)	2	86,7 % (78/90)
		3	85,0 % (51/60)	3	78,3 % (47/60)	3	77,8 % (28/36)		
						4	86,1 % (31/36)		
						5	86,1 % (31/36)		
	~1 × LoD	1	98,3 % (59/60)	1	98,3 % (59/60)	1	94,4 % (34/36)	1	95,6 % (86/90)
		2	100,0 % (60/60)	2	96,7 % (58/60)	2	100,0 % (36/36)	2	98,9 % (89/90)
		3	93,3 % (56/60)	3	96,7 % (58/60)	3	97,2 % (35/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	94,4 % (34/36)		
	~3 × LoD	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (36/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (36/36)	2	100,0 % (90/90)
		3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (36/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	100,0 % (36/36)		
ВИЧ-2	~0,5 × LoD	1	74,1 % (43/58)	1	73,3 % (44/60)	1	77,8 % (28/36)	1	69,7 % (62/89)
		2	76,7 % (46/60)	2	79,7 % (47/59)	2	69,4 % (25/36)	2	79,8 % (71/89)
		3	73,3 % (44/60)	3	71,2 % (42/59)	3	75,0 % (27/36)		
						4	71,4 % (25/35)		
						5	80,0 % (28/35)		
	~1 × LoD	1	96,7 % (58/60)	1	100,0 % (60/60)	1	97,2 % (35/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	98,3 % (59/60)	2	96,7 % (58/60)	2	100,0 % (36/36)	2	96,7 % (87/90)
		3	100,0 % (60/60)	3	98,3 % (59/60)	3	97,2 % (35/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	97,2 % (35/36)		
	~3 × LoD	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (36/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (36/36)	2	100,0 % (90/90)
		3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (36/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	100,0 % (36/36)		

		Лаборатория/прибор		Лот		День		Постановка	
Вирусная мишень	Вирусная концентрация	ИД	Положительные результаты (%)	ИД	Положительные результаты (%)	ИД	Положительные результаты (%)	ИД	Положительные результаты (%)
ВГС	~0,5 × LoD	1	75,0 % (45/60)	1	80,0 % (48/60)	1	66,7 % (24/36)	1	79,8 % (71/89)
		2	70,7 % (41/58)	2	76,7 % (46/60)	2	77,8 % (28/36)	2	74,2 % (66/89)
		3	85,0 % (51/60)	3	74,1 % (43/58)	3	69,4 % (25/36)		
						4	91,2 % (31/34)		
						5	80,6 % (29/36)		
	~1 × LoD	1	100,0 % (60/60)	1	98,3 % (59/60)	1	97,2 % (35/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	96,7 % (58/60)	2	98,3 % (59/60)	2	100,0 % (36/36)	2	97,8 % (88/90)
		3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)	3	97,2 % (35/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	100,0 % (36/36)		
	~3 × LoD	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (36/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	100,0 % (59/59)	2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (36/36)	2	100,0 % (89/89)
		3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (59/59)	3	100,0 % (36/36)		
						4	100,0 % (35/35)		
						5	100,0 % (36/36)		
ВГВ	~0,5 × LoD	1	80,0 % (48/60)	1	80,0 % (48/60)	1	80,6 % (29/36)	1	72,2 % (65/90)
		2	78,3 % (47/60)	2	73,3 % (44/60)	2	80,6 % (29/36)	2	82,2 % (74/90)
		3	73,3 % (44/60)	3	78,3 % (47/60)	3	75,0 % (27/36)		
						4	77,8 % (28/36)		
						5	72,2 % (26/36)		
	~1 × LoD	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (36/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (36/36)	2	100,0 % (90/90)
		3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (36/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	100,0 % (36/36)		
	~3 × LoD	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (60/60)	1	100,0 % (36/36)	1	100,0 % (90/90)
		2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (36/36)	2	100,0 % (90/90)
		3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (36/36)		
						4	100,0 % (36/36)		
						5	100,0 % (36/36)		

Клиническая специфичность

Реактивность в популяции доноров крови

Образцы были взяты у доноров крови, подписавших информированное согласие, из четырех учреждений. Тестирование с помощью **cobas® MPX** проводили в соответствии с двумя алгоритмами: один для исследования индивидуальной донации, требующий одноступенчатого тестирования; и второй для исследования пулов из шести образцов, для которых требовалось одноступенчатое тестирование для первичных нереактивных пулов и двухступенчатое тестирование (тестирование первичных пулов и индивидуальных донаций первичных пулов, которые были реактивными) (Табл. 39). Специфичность пула составила 99,91 % (10 524/10 534; 99,83–99,95 %) (Табл. 40). В десяти реактивных пулах все донации имели отрицательный статус. Клиническая специфичность тестирования индивидуальных донаций составила 99,95 % (95 % ДИ: 99,88–99,98 %). Частота невалидных постановок теста **cobas® MPX** составила 3,5 % (18/509) для первичного тестирования донаций в пуле из шести образцов и 6,8 % (16/219) для тестирования индивидуальных донаций. Во время этого исследования были выявлены два случая ВГС-положительного результата анализа NAT.

Табл. 39 Клиническая специфичность **cobas® MPX** – общие данные

Размер пула	Частота (n/N)	Оценка в процентах (95 %-й доверительный интервал по методу Клоппера–Пирсона)
Индивидуальный образец (плазма)	5523/5528	99,91 % (99,79–99,986 %)
Индивидуальный образец (сыворотка)	5669/5670	99,98 % (99,90–100,00 %)
Индивидуальный образец (плазма/сыворотка)	11 192/11 198	99,95 % (99,88–99,98 %)
Пулы из 6 образцов (плазма)	62 982/62 982	100,00 % (99,99–100,00 %)

N = общее число донаций с отрицательным статусом; n = число нереактивных донаций, **cobas® MPX**

Табл. 40 Реактивность пула **cobas® MPX** у доноров крови

Категория	Число пулов	Процент проанализированных пулов
Проанализированные пулы	10 563	100
Нереактивные пулы	10 524	99,63
Реактивные пулы	39	0,37
Реактивные пулы с положительным статусом донора	29	0,27
Реактивные пулы с отрицательным статусом донора (ложноположительные) *	10	0,10

* Из 10 ложнореактивных пулов один пул был ложнореактивным по ВИЧ, четыре пула были ложнореактивными по ВГС и пять пулов были ложнореактивными по ВГВ.

Реактивность в популяции доноров плазмы

В общей сложности было проанализировано 108 306 донаций от 24 514 индивидуальных доноров в пулах по 96 образцов с использованием как cobas® MPX, так и зарегистрированного FDA мультиплексного теста NAT. Сто восемь тысяч двести девяносто семь проанализированных донаций были отрицательными по анти-ВИЧ, анти-ВГС и HBsAg (Табл. 41). Статус приписывался донации на основе согласования двух вирус-специфичных тестов (например, двух результатов NAT или NAT и серологии) или на основе результатов последующего тестирования. В целом, 1106 пулов были проанализированы с помощью cobas® MPX, из которых 1092 (98,7 %) были нереактивными и 14 (1,3 %) были реактивными. Из 1092 нереактивных пулов, в 1090 пулах все донации имели отрицательный статус, а два пула содержали, по меньшей мере, одну донацию с положительным статусом. Среди 1106 протестированных пулов были два нереактивных пула, содержащих хотя бы одну донацию с положительным статусом, и семь реактивных пулов, содержащих хотя бы одну донацию с положительным статусом (Табл. 42).

Табл. 41 Клиническая специфичность cobas® MPX – уровень донации

Параметр	Общее число донаций с отрицательным статусом	Результат cobas® MPX		Оценка в процентах (95 % точный ДИ)
		Реактивный	Нереактивный	
Клиническая специфичность	108 297	6	108 291	99,99 (99,99, 100,00)
Клиническая специфичность в отношении ВИЧ	108 297	3	108 294	100,00 (99,99, 100,00)
Клиническая специфичность в отношении ВГС	108 297	1	108 296	100,00 (100,00, 100,00)
Клиническая специфичность в отношении ВГВ	108 297	2	108 295	100,00 (99,99, 100,00)

Табл. 42 Реактивность пула донаций плазмы

Категория	Число пулов	Процент проанализированных пулов
Общее число проанализированных пулов из 96 образцов ^а :	1106	100
Нереактивные пулы ^б	1092	98,7
Нереактивные пулы, в которых все донации имели отрицательный статус	1090	98,6 (1090/1106)
Нереактивные пулы, в которых хотя бы одна донация имела положительный статус	2 ^в	0,2 (2/1106)
Реактивные пулы ^б	14	1,3
Реактивные пулы, в которых хотя бы одна донация имела положительный статус	7	0,6 (7/1106)
Реактивные пулы, содержащие отрицательные донации (ложнореактивные пулы)	7	0,6 (7/1106)

^а 479/1106 пулов содержали < 96 донаций.

^б Статус донации назначался на основе согласования в отношении статуса донации двух вирус-специфичных тестов (например, двух результатов NAT или NAT и серологии) или на основе результатов последующего тестирования.

^в Эти два нереактивных пула содержали донации от ВГВ-положительного донора. Донорский индекс донации был ВГВ-положительным при использовании теста cobas® MPX, но отрицательным при использовании теста cobas® TaqScreen MPX Test, ВГВ-положительный результат был подтвержден с помощью альтернативного высокочувствительного теста NAT. Этот донор сдал три последующих донации, которые были нереактивными в обоих скрининговых тестах NAT. Одна из этих донаций содержалась в ВГС-положительном пуле.

Одиннадцать индивидуальных доноров сдали 12 реактивных донаций (шесть ВГС, три ВИЧ и три ВГВ). Семь доноров участвовали в последующем тестировании: у трех из этих доноров не было признаков наличия инфекции при последующем наблюдении; у четырех доноров в ходе наблюдения инфекция была подтверждена, два из них продемонстрировали сероконверсию (ВГС) во время наблюдения (Табл. 43). Один из трех ВГВ-положительных доноров был определен как случай NAT ВГВ.

Табл. 43 Наблюдаемые картины реактивности из первоначального тестирования донаций

Результат cobas® MPX	Статус донации ^a	Число донаций
ВГС+	Положительный	5
ВГВ+	Отрицательный	2
ВГВ+	Положительный	4 ^b
ВГС+	Отрицательный	1
ВИЧ+	Отрицательный	3
Нереактивный	Отрицательный	108291
-	Всего	108306

^a Статус донации назначался на основе картины реактивности тестов (согласования в отношении статуса донации двух вирус-специфичных тестов [например, два результата NAT или NAT и серология] или на основе результатов последующего тестирования).

^b Все эти донации были от одного и того же донора, чей индекс донации был ВГВ+, а последующие три донации были классифицированы как положительные, хотя тест **cobas® MPX** был нереактивным в отношении ВГВ.

Примечание. В эту сводную таблицу включены только пригодные для тестирования донации; + = реактивный/положительный.

Клиническая специфичность **cobas® MPX** для пулов плазмы была определена посредством анализа 108 306 пригодных для тестирования донаций от 24 514 индивидуальных доноров. Пригодные для тестирования донации имели валидные результаты теста **cobas® MPX**, теста **cobas® TaqScreen MPX Test** и **CAS** при тестировании пулов и валидные результаты серологии (по всем анализам) при тестировании отдельных донаций. Из этих 108 306 донаций 108 297 получили отрицательный статус донации, из которых 108 291 были нереактивными в тесте **cobas® MPX** с клинической специфичностью 99,994 % (95 %-й доверительный интервал: 99,988–99,997 %). Разрешение семи ложнореактивных в **cobas® MPX** пулов по 96 образцов показало, что они содержали только донации с отрицательным статусом. Из 24 514 индивидуальных доноров от 24 509 были получены только отрицательные донации, из которых 24 503 были нереактивными в тесте **cobas® MPX**, а шесть имели ложнореактивные результаты, что привело к получению специфичности (на уровне донора) 99,976 % (95 %-й доверительный интервал: 99,947–99,989 %).

Исследования в группах высокого риска

Независимые организации собрали образцы у доноров с высоким риском заражения ВИЧ, ВГС или ВГВ. Факторы высокого риска включали, но не ограничивались этим, следующее: тюремное заключение; анамнез заболеваний, передающихся половым путем; беспорядочные половые связи; использование инъекционных наркотиков; диагноз или лечение ВИЧ; диагноз или лечение гепатита. Некоторые участники исследования имели более одного фактора риска. В общей сложности, 510 образцов из группы высокого риска были распределены примерно равномерно среди трех лабораторий и тестировались с помощью **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX**, включая **CAS**.

Все образцы были подготовлены в виде панелей. Разведенные образцы вручную разводили пулированной плазмой человека, отрицательной по ВИЧ-1/2, ВГС и ВГВ. В лабораториях образцы были проанализированы неразведенными с использованием **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen**, включая **CAS** (для разрешения мишени), в соответствии с процедурой стандартной обработки образцов, рекомендованной во вкладыше в упаковку теста **cobas® TaqScreen MPX Test**. Образцы также тестировали разведенными для имитации пулов из шести образцов с помощью **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen**. **CAS** разведенных образцов не выполняли.

Результаты 510 неразведенных образцов, полученные с помощью тестов **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX Test**, которые включали 179 реактивных образцов (по одной или нескольким мишеням) по **cobas® MPX** (35,1 %); и 181 образец, реактивный по **cobas® TaqScreen MPX Test** (35,5 %). 488 (95,7 %) образцов показали согласованные результаты между тестами **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX Test**, в то время как 22 (4,3 %) образца показали несогласованные результаты между тестами **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX Test**.

Для 510 неразведенных образцов из группы высокого риска **cobas® MPX** правильно идентифицировал наличие или отсутствие вирусной мишени в 97,0 % (495/510) случаев по сравнению с результатами CAS или альтернативного теста NAT (NGI, Национальный институт генетики). В отношении 3 % образцов, в которых **cobas® MPX** неправильно идентифицировал присутствие или отсутствие вирусной мишени, **cobas® MPX** неправильно обнаружил вирусную мишень в образцах, которые не содержали вирусную мишень, в 1,8 % (9/510) случаев (ложнореактивный результат) и не обнаружил вирусную мишень в образцах, которые содержали вирусную мишень, в 1,2 % (6/510) случаев (ложнонереактивный результат). Полученные результаты обобщены в Табл. 44.

Табл. 44 Правильная или неправильная идентификация вируса — неразведенные образцы

	Результат cobas® MPX ^a	%	Всего правильных
Истинно реактивные	170	97,0 %	495
Истинно нереактивные	325		
Ложнореактивные	9	1,8 %	15
Ложнонереактивные	6	1,2 %	
Всего	510	100,0 %	510

^a Конечный статус (по сравнению с результатами CAS или альтернативного теста NAT [NGI]).

Примечание. Правильная идентификация = истинно реактивные и истинно нереактивные (выделены жирным шрифтом).

Из 510 проанализированных разведенных образцов 153 образца были реактивными в тесте **cobas® MPX** (30,0 %), по сравнению со 151 образцом, которые были реактивными в тесте **cobas® TaqScreen MPX Test** (29,6 %). Из 510 разведенных образцов, 484 (94,9 %) образца продемонстрировали согласованные результаты между тестами **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX Test**; а 26 (5,1 %) образцов продемонстрировали несогласованные результаты между тестами **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX Test**.

Тест **cobas® MPX** правильно идентифицировал вирусную мишень в 96,7 % (492/509) случаев (509 разведенных образцов, за исключением одного образца, для которого не было получено никакого результата NGI). В отношении 3,4 % образцов, в которых **cobas® MPX** неправильно идентифицировал вирусную мишень, **cobas® MPX** неправильно обнаружил вирусную мишень в образцах, которые не содержали вирусную мишень, в 1,2 % (6/509) случаев (ложнореактивный результат) и не обнаружил вирусную мишень в образцах, которые содержали мишень, в 2,2 % (11/509) случаев (ложнонереактивный результат). Полученные результаты обобщены в Табл. 45.

Табл. 45 Правильная или неправильная идентификация вируса — разведенные образцы

	Результат cobas® MPX ^a	%	Всего правильных
Истинно реактивные	147	96,7	492
Истинно нереактивные	345		
Ложнореактивные	6	1,2	17
Ложнонереактивные	11	2,2	
Всего	509 ^b	100	509 ^b

^a Конечный статус (по сравнению с результатами CAS или альтернативного теста NAT [NGI]), который был получен при анализе неразведенных аликвот.

^b За исключением одного образца, для которого не были получены результаты NGI.

Примечание. Правильная идентификация = истинно реактивные и истинно нереактивные (выделены жирным шрифтом).

Клиническая чувствительность

Исследования в NAT-положительных популяциях

В общей сложности, 2569 NAT-положительных образцов по ВИЧ, ВГС и ВГВ были протестированы в четырех лабораториях с помощью тестов **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX Test**, включая CAS. Использовали четыре лота реагентов **cobas® MPX**. 2569 NAT-положительных образцов содержали 1015 ВИЧ-положительных образцов, 1016 ВГС-положительных образцов и 538 ВГВ-положительных образцов. Каждый из этих образцов тестировали как неразведенным, так и разведенным (1: 6) с помощью тестов **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX Test**. Только неразведенные образцы были протестированы с использованием зарегистрированного теста CAS в соответствии со стандартной процедурой обработки образцов, рекомендованной во вкладыше в упаковку теста **cobas® TaqScreen MPX Test**. В Табл. 46 приведены результаты сравнения чувствительности тестов **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen Test** для заведомо положительных образцов на ВИЧ, ВГС и ВГВ.

Общая клиническая чувствительность **cobas® MPX** составила 100,0 % (2549/2549) для неразведенных заведомо положительных образцов и 100,0 % (2555/2555) для разведенных (1:6) заведомо положительных образцов. Общая клиническая чувствительность **cobas® TaqScreen MPX Test** составила 99,9 % (2523/2524) для неразведенных заведомо положительных образцов и 99,8 % (2559/2563) для разведенных (1:6) заведомо положительных образцов. Общий процент согласованности положительных результатов (ПСР) по всем заведомо положительным образцам в этом исследовании между тестами **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX Test** составил 100,0 % как для неразведенных, так и для разведенных образцов (Табл. 46).

Табл. 46 Сравнение результатов чувствительности тестов **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen Test** в отношении образцов, заведомо положительных по ВИЧ, ВГС и ВГВ

		Чувствительность по заведомо положительным образцам ^a		Разница (cobas® MPX – cobas® TaqScreen MPX Test)	
Разведение	Целевой вирус	Результат cobas® MPX	cobas® TaqScreen MPX Test	Оценка	95 %-ый доверительный интервал
Неразведенные	Итого	100,00 % (2549/2549)	99,96 % (2523/2524)	0,04 %	(–0,04 %, 0,12 %)
	ВИЧ	100,00 % (1006/1006)	99,90 % (1007/1008)	0,10 %	(–0,10 %, 0,29 %)
	ВГС	100,00 % (1015/1015)	100,00 % (1014/1014)	0,00 %	Неприменимо
	ВГВ	100,00 % (528/528)	100,00 % (502/502)	0,00 %	Неприменимо
1:6	Итого	100,00 % (2555/2555)	99,84 % (2559/2563)	0,16 %	(0,00 %, 0,31 %)
	ВИЧ	100,00 % (1006/1006)	99,60 % (1005/1009)	0,40 %	(0,01 %, 0,78 %)
	ВГС	100,00 % (1016/1016)	100,00 % (1016/1016)	0,00 %	Неприменимо
	ВГВ	100,00 % (533/533)	100,00 % (538/538)	0,00 %	Неприменимо

^a В анализ чувствительности были включены только заведомо положительные образцы с валидными результатами тестирования.

NAT-положительная популяция в отношении ВИЧ

Для 1015 ВИЧ-положительных неразведенных образцов получили 1006 оцениваемых результатов теста при использовании **cobas® MPX** и 1008 оцениваемых результатов при использовании **cobas® TaqScreen MPX Test**, включая CAS. Для 1015 ВИЧ-положительных разведенных образцов получили 1006 оцениваемых результатов при использовании **cobas® MPX** и 1009 оцениваемых результатов при использовании **cobas® TaqScreen MPX Test** (CAS не использовали для разведенных образцов).

Тест **cobas® MPX** был реактивным в 1006 из 1006 случаев (100,0 %) ВИЧ-положительных неразведенных образцов и в 1006 из 1006 случаев (100,0 %) ВИЧ-положительных разведенных образцов. Тест **cobas® TaqScreen MPX Test**, включающий CAS, был реактивным в 1007 из 1008 случаев (99,90 %) ВИЧ-положительных неразведенных образцов. Тест **cobas® TaqScreen MPX Test** (без CAS) был реактивным в 1005 из 1009 случаев (99,60 %) ВИЧ-положительных разведенных образцов. ПСР между **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX Test**

в отношении неразведенных и разведенных ВИЧ-положительных образцов составил 100,0 % и 100,0 %, соответственно.

NAT-положительная популяция в отношении ВГС

Тест **cobas® MPX** был реактивным в 1015 из 1015 случаев (100,0 %) ВГС-положительных неразведенных образцов и в 1016 из 1016 случаев (100,0 %) ВГС-положительных разведенных образцов. Тест **cobas® TaqScreen MPX Test**, включающий CAS, также был реактивным в 1014 из 1014 случаев (100,0 %) ВГС-положительных неразведенных образцов. Тест **cobas® TaqScreen MPX Test** (без CAS) был реактивным в 1016 из 1016 случаев (100,0 %) ВГС-положительных разведенных образцов. ПСП между **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX Test** в отношении неразведенных и разведенных ВГС-положительных образцов составил 100,0 % и 100,0 %, соответственно.

NAT-положительная популяция в отношении ВГВ

Для 538 ВГВ-положительных неразведенных образцов получили 528 оцениваемых результатов теста при использовании **cobas® MPX** и 502 оцениваемых результатов при использовании **cobas® TaqScreen MPX Test**, включая CAS. Для 538 ВГВ-положительных разведенных образцов получили 533 оцениваемых результатов при использовании **cobas® MPX** и 538 оцениваемых результатов при использовании **cobas® TaqScreen MPX Test** (CAS не использовали для разведенных образцов).

Тест **cobas® MPX** был реактивным в 528 из 528 случаев (100,0 %) ВГВ-положительных неразведенных образцов и в 533 из 533 случаев (100,0 %) ВГВ-положительных разведенных образцов. Тест **cobas® TaqScreen MPX Test**, включающий CAS, был реактивным в 502 из 502 случаев (100,0 %) ВГВ-положительных неразведенных образцов. Тест **cobas® TaqScreen MPX Test** (без CAS) был реактивным в 538 из 538 случаев (100,0 %) ВГВ-положительных разведенных образцов. ПСП между **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX Test** в отношении неразведенных и разведенных ВГВ-положительных образцов составил 100,0 % и 100,0 %, соответственно.

Клиническая чувствительность в популяциях, сероположительных по ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2

Сероположительная популяция по ВИЧ-1 группы О

В общей сложности проанализировали 12 серопозитивных образцов ВИЧ-1 группы О после разведения 1:6 с использованием тестов **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX Test**. Образцы анализировали в разведении 1:6 из-за ограниченного объема. Все образцы ВИЧ-1 группы О были реактивными в отношении ВИЧ при тестировании с помощью **cobas® MPX** после разведения 1:6, как описано в Табл. 47, клиническая чувствительность составила 100,0 % относительно серологии.

Табл. 47 Сравнение общей реактивности для серопозитивных образцов ВИЧ-1 группы О (разведение 1:6)

cobas® TaqScreen MPX Test (разведение 1:6)	cobas® MPX (разведение 1:6)		Всего
	Реактивный	Нереактивный	
Реактивный	11	0	11
Нереактивный	1	0	1
Всего	12	0	12

Сероположительная по ВИЧ-2 популяция

В общей сложности проанализировали 319 серопозитивных образцов ВИЧ-2 с использованием тестов **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX Test**. Из 319 серопозитивных образцов 184 тестировали неразведенными и в разведении 1:6 при использовании тестов **cobas® MPX** и **cobas® TaqScreen MPX Test**, тогда как остальные 135 были проверены только после разведения 1:6 из-за ограниченного объема.

В общей сложности 137 из 184 проанализированных неразведенных образцов были реактивными, как показано в Табл. 48, с клинической чувствительностью 74,5 % относительно серологии при использовании **cobas® MPX**. Сравнительная чувствительность **cobas® MPX** по отношению к ВИЧ-2 была также продемонстрирована при разведении образцов 1:6 перед тестированием обоими методами. В общей сложности 198 из 319 разведенных 1:6 образцов были реактивными с **cobas® MPX**, как показано в Табл. 49.

Табл. 48 Сравнение общей реактивности для серопозитивных образцов ВИЧ-2 (неразведенные)

cobas® TaqScreen MPX Test (неразведенные образцы)	cobas® MPX (неразведенные образцы)		Всего
	Реактивный	Нереактивный	
Реактивный	118	7	125
Нереактивный	19	40	59
Всего	137	47	184

Табл. 49 Сравнение общей реактивности для серопозитивных образцов ВИЧ-2 (разведение 1:6)

cobas® TaqScreen MPX Test (разведение 1:6)	cobas® MPX (разведение 1:6)		Всего
	Реактивный	Нереактивный	
Реактивный	173	33	206
Нереактивный	25	88	113
Всего	198	121	319

Подтверждение результатов серологии

Данные из исследования заведомо положительных образцов включали 2555 заведомо положительных образцов, каждый с результатами NAT-подтвержденной инфекции ВИЧ, ВГС или ВГВ и тестирования серологии. Для 1771 (69,3 %) образца также были известны результаты дополнительного серологического тестирования. Правильный результат теста **cobas® MPX**, определяемый как реактивный для вирусной мишени, для которого образец был известен как положительный (например, ВИЧ, ВГС или ВГВ), сравнивали с результатами дополнительного серологического тестирования. Процент правильных результатов (оценка чувствительности) для **cobas® MPX** рассчитывали для каждого целевого вируса и в целом, с соответствующими 95%-ыми доверительными интервалами (CI). Тест **cobas® MPX** правильно идентифицировал 1771 из 1771 (100,0 %) образцов с реактивной серологией и результатами дополнительного серологического тестирования. В Табл. 50 показана реактивность **cobas® MPX** для каждого образца вирусной мишени по сравнению с известной серологией вирусной мишени и результатами дополнительного серологического тестирования, а также оценка чувствительности и 95 % ДИ, в целом и для каждой вирусной мишени.

Табл. 50 Чувствительность **cobas® MPX** в отношении неразведенных заведомо положительных образцов с подтвержденной серологией

Разведение	Тест	Целевой вирус	Общее число заведомо положительных образцов *	Количество реактивных результатов в тестировании	Оценка чувствительности	95 % ДИ
Неразведенные	MPX8800	Всего	1771	1771	100,00 %	(99,78 %, 100,00 %)
Неразведенные	MPX8800	ВИЧ	496	496	100,00 %	(99,23 %, 100,00 %)
Неразведенные	MPX8800	ВГС	747	747	100,00 %	(99,49 %, 100,00 %)
Неразведенные	MPX8800	ВГВ	528	528	100,00 %	(99,28 %, 100,00 %)

* В анализ чувствительности были включены только заведомо положительные образцы с валидными результатами теста **cobas® MPX** неразведенных образцов и результатами подтвержденной серологии.

Дополнительная информация

Основные характеристики теста

Тип образцов	Плазма и сыворотка
Минимальный необходимый объем образца от живого донора	1000 мкл
Обрабатываемый объем образца от живого донора	850 мкл
Минимальный необходимый объем образца от трупного донора	300 мкл
Обрабатываемый объем образца от трупного донора	150 мкл

Условные обозначения

Приведенные ниже символы применяются для маркировки продукции для ПЦР-диагностики компании Roche.

Табл. 51 Символы, применяемые для маркировки продукции для ПЦР-диагностики компании Roche

 Age/DOB Возраст или дата рождения	 Устройство не для исследования по месту лечения	 QS IU/PCR ME КС на ПЦР-реакцию; при подсчете результатов значения представляйте в виде Международных единиц (МЕ) КС на ПЦР-реакцию.
 SW Вспомогательное программное обеспечение	 Устройство не предназначено для самостоятельного тестирования	 SN Серийный номер
 Assigned Range [copies/mL] Заданный диапазон (копий/мл)	 Дистрибьютер (Примечание. Соответствующая страна/регион могут быть указаны под символом.)	 Site Лаборатория
 Assigned Range [IU/mL] Заданный диапазон (МЕ/мл)	 Не использовать повторно	 Procedure Standard Стандартная процедура
 EC REP Авторизованный представитель в Европейском сообществе	 Женский	 STERILE EO Стерилизовано этиленоксидом
 BARCODE Список штрихкодов	 Только для испытаний IVD	 Хранить в темноте
 LOT Номер лота	 GTIN Глобальный номер товара	 Температурный диапазон
 Биологическая опасность	 Импортёр	 TDF Файл с описанием теста
 REF Номер по каталогу	 IVD Медицинское устройство для диагностики <i>in vitro</i>	 Этай стороной вверх
 CE SE маркировка соответствия требованиям ЕС — это изделие соответствует применимым требованиям для выдачи сертификата в ЕС на медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>	 LLR Нижний предел заданного диапазона	 Procedure UltraSensitive Сверхчувствительная процедура
 Collect Date Дата сбора	 Мужской	 UDI Уникальный идентификатор устройства
 Обратитесь к инструкции	 Производитель	 ULR Верхний предел заданного диапазона
 Σ Рассчитано на <n> тестов	 CONTROL - Отрицательный контроль	 Urine Fill Line Линия заполнения мочой
 CONTENT Состав набора	 NON STERILE Нестерильно	 Rx Only Только для США. Федеральное законодательство ограничивает право продажи данного устройства терапевтом или по его рецепту.
 CONTROL Контроль	 Ф. И. О. пациента	 Использовать до
 Дата производства	 Номер пациента	
 Устройство для исследования по месту лечения	 Оторвите здесь	
 Устройство для самостоятельного тестирования	 CONTROL + Положительный контроль	
	 QS copies / PCR Копии количественного стандарта (КС) на ПЦР-реакцию; при подсчете результатов значения представляйте в виде копий КС на ПЦР-реакцию.	

Техническая поддержка

Для получения технической поддержки (помощи) обратитесь в местный филиал в вашем регионе:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Производитель и импортёр

Табл. 52 Производитель и импортёр



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

Сделано в США

Уполномоченный представитель
 в Республике Беларусь:
 ООО "Алмазмед"
 220062, г. Минск
 Пр-т Победителей, 141, помещение 9



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 68305 Mannheim, Germany

Товарные знаки и патенты

Этот продукт защищен одним или несколькими патентами США № 8962293, 9102924, 8609340, 9234250, 8097717, 8192958, 10059993 и 10358675, а также их эквивалентными зарубежными патентами.

COBAS, COBAS OMNI, COBAS P, AMPERASE, AMPLIPREP, TAQMAN и TAQSCREEN являются товарными знаками компании Roche.

Armored RNA® является товарным знаком компаний Asuragen, Inc. и Cenetron Diagnostics, Ltd.

Все остальные торговые наименования и товарные знаки являются собственностью соответствующих владельцев.

Технология защиты от перекрестной контаминации в составе фермента AmpErase охраняется патентом США 7,687,247, который принадлежит компании Life Technologies и передан компании Roche Molecular Systems, Inc. на основании лицензии.

Определенные компоненты в составе данного продукта охраняются одним или несколькими патентами США и эквивалентными зарубежными патентами, выданными компании Novartis Vaccines and Diagnostics, Inc. и переданными компаниям Roche Molecular Systems, Inc. и F. Hoffman-La Roche Ltd. на основании лицензии.

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

Авторское право

© Roche Molecular Systems, Inc., 2021.



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Str. 116
 68305 Mannheim
 Germany



Литература

1. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). UNAIDS Report on the Global AIDS Epidemic, 2012. Available at: https://www.unaids.org/en/resources/documents/2012/20121120_UNAIDS_Global_Report_2012. Accessed 08-MAR-2021.
2. Tebit DM, Arts EJ. Tracking a century of global expansion and evolution of HIV to drive understanding and to combat disease. *Lancet Infect Dis*. 2011;11:45-56. PMID: 21126914.
3. Papathanasopoulos MA, Hunt GM, Tiemessen CT. Evolution and diversity of HIV-1 in Africa--a review. *Virus Genes*. 2003;26:151-63. PMID: 12803467.
4. McCutchan FE. Global epidemiology of HIV. *J Med Virol*. 2006;78 Suppl 1:S7-s12. PMID: 16622870.
5. Barin F, M'Boup S, Denis F, et al. Serological evidence for virus related to simian T-lymphotropic retrovirus III in residents of west Africa. *Lancet*. 1985;2:1387-9. PMID: 2867393.
6. Clavel F, Guétard D, Brun-Vézinet F, et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science*. 1986;233:343-6. PMID: 2425430.
7. Dougan S, Patel B, Tosswill JH, Sinka K. Diagnoses of HIV-1 and HIV-2 in England, Wales, and Northern Ireland associated with west Africa. *Sex Transm Infect*. 2005;81:338-41. PMID: 16061543.
8. Matheron S, Mendoza-Sassi G, Simon F, et al. HIV-1 and HIV-2 AIDS in African patients living in Paris. *AIDS*. 1997;11:934-6. PMID: 9189224.
9. Valadas E, França L, Sousa S, Antunes F. 20 years of HIV-2 infection in Portugal: trends and changes in epidemiology. *Clin Infect Dis*. 2009;48:1166-7. PMID: 19292644.
10. Dietrich U, Maniar JK, Rübsamen-Waigmann H. The epidemiology of HIV in India. *Trends Microbiol*. 1995;3:17-21. PMID: 7719634.
11. Solomon S, Kumarasamy N, Ganesh AK, Amalraj RE. Prevalence and risk factors of HIV-1 and HIV-2 infection in urban and rural areas in Tamil Nadu, India. *Int J STD AIDS*. 1998;9:98-103. PMID: 9506375.
12. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 1989;244:359-62. PMID: 2523562.
13. Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. *Hepatology*. 2013;57:1333-42. PMID: 23172780.
14. Averhoff FM, Glass N, Holtzman D. Global burden of hepatitis C: considerations for healthcare providers in the United States. *Clin Infect Dis*. 2012;55 Suppl 1:S10-5. PMID: 22715208.
15. Trépo C, Pradat P. Hepatitis C virus infection in Western Europe. *J Hepatol*. 1999;31 Suppl 1:80-3. PMID: 10622565.
16. Lehman EM, Wilson ML. Epidemic hepatitis C virus infection in Egypt: estimates of past incidence and future morbidity and mortality. *J Viral Hepat*. 2009;16:650-8. PMID: 19413698.
17. Chisari FV, Ferrari C. Viral Hepatitis. In: Nathanson N, ed. *Viral Pathogenesis*. 1st ed. Philadelphia: Lippincott-Williams & Wilkins. 1997:745-778.
18. Hollinger FB, Liang TJ. Hepatitis B Virus. In: Knipe DM, et al, eds. *Fields' Virology*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott, 2001:2971-3036.

19. World Health Organization. Global prevalence of hepatitis B virus infection. 2013. Available at: www.who.int/csr/disease/hepatitis/whocdscsrlyo20022/en/index1.html. Accessed 08-APR-2021.
20. World Health Organization. WHO Campaigns. World Hepatitis Day: More Must be Done to Stop this Silent Killer. Available at: <https://www.who.int/campaigns/hepatitis-day/2013/en/>. Accessed 08-MAR-2021.
21. Perkins HA, Busch MP. Transfusion-associated infections: 50 years of relentless challenges and remarkable progress. *Transfusion*. 2010;50:2080-99. PMID: 20738828.
22. Dwyre DM, Fernando LP, Holland PV. Hepatitis B, hepatitis C and HIV transfusion-transmitted infections in the 21st century. *Vox Sang*. 2011;100:92-8. PMID: 21175659.
23. Kleinman SH, Lelie N, Busch MP. Infectivity of human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus and risk of transmission by transfusion. *Transfusion*. 2009;49:2454-89. PMID: 19682345.
24. Hourfar MK, Jork C, Schottstedt V, et al. Experience of German Red Cross blood donor services with nucleic acid testing: results of screening more than 30 million blood donations for human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus. *Transfusion*. 2008;48:1558-66. PMID: 18466173.
25. Roth WK, Busch MP, Schuller A, et al. International survey on NAT testing of blood donations: expanding implementation and yield from 1999 to 2009. *Vox Sang*. 2012;102:82-90. PMID: 21933190.
26. Zou S, Stramer SL, Notari EP, et al. Current incidence and residual risk of hepatitis B infection among blood donors in the United States. *Transfusion*. 2009;49:1609-20. PMID: 19413732.
27. Zou S, Dorsey KA, Notari EP, et al. Prevalence, incidence, and residual risk of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus infections among United States blood donors since the introduction of nucleic acid testing. *Transfusion*. 2010;50:1495-504. PMID: 20345570.
28. Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR, et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol*. 2008;49:652-7. PMID: 18715666.
29. Linauts S, Saldanha J, Strong DM. PRISM hepatitis B surface antigen detection of hepatitis B virus minipool nucleic acid testing yield samples. *Transfusion*. 2008;48:1376-82. PMID: 18422847.
30. Phikulsod S, Oota S, Tirawatnapong T, et al. One-year experience of nucleic acid technology testing for human immunodeficiency virus Type 1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus in Thai blood donations. *Transfusion*. 2009;49:1126-35. PMID: 19392770.
31. Stramer SL, Wend U, Candotti D, et al. Nucleic acid testing to detect HBV infection in blood donors. *N Engl J Med*. 2011;364:236-47. PMID: 21247314.
32. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8. PMID: 2227421.
33. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93. PMID: 7845459.
34. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78. PMID: 7697717.
35. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7. PMID: 1368485.
36. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. PMID: 8908518.

37. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
38. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. https://clsi.org/media/1459/m29a4_sample.pdf. Accessed 08-APR-2021.
39. National Institute for Biological Standards and Control. HIV-2 RNA International Standard (NIBSC code 08/150). Available at: https://www.nibsc.org/products/brm_product_catalogue/who_standards.aspx. Accessed 08-APR-2021.

Редакция документа

Сведения о редакции документа	
Doc Rev. 1.0 08/2021	Первая публикация.

cobas[®] DPX

Дуплексный тест для выявления нуклеиновых кислот ВГА и парвовируса В19

Для диагностики *in vitro*

cobas[®] DPX – 192	P/N: 09171126190
cobas[®] DPX Control Kit	P/N: 09040749190
cobas[®] Buffer Negative Control Kit	P/N: 09051953190
cobas omni MGP Reagent	P/N: 06997546190
cobas omni Specimen Diluent	P/N: 06997511190
cobas omni Lysis Reagent	P/N: 06997538190
cobas omni Wash Reagent	P/N: 06997503190

Содержание

Назначение	4
Описание теста	4
Реагенты и материалы	8
Реагенты и контроли cobas® DPX	8
Реагенты cobas omni для пробоподготовки	11
Хранение реагентов и правила работы с ними	12
Необходимые дополнительные материалы	13
Необходимое оборудование и программное обеспечение	13
Меры предосторожности и правила работы	14
Меры предосторожности	14
Обращение с реагентами	15
Надлежащая лабораторная практика	15
Сбор, транспортировка, хранение и пулирование образцов	15
Образцы от живых доноров	16
Инструкция по работе с набором	18
Автоматизированное раскапывание и пулирование образцов (опционально)	18
Установка отсекающей величины для парвовируса B19	18
Рекомендации по процедуре	18
Выполнение теста cobas® DPX	19
Результаты	20
Контроль качества и валидности результатов	20
Интерпретация результатов	21
Повторное тестирование индивидуальных образцов	22
Ограничения процедуры	22

Доклинические испытания теста 23

Основные характеристики набора. Образцы от живых доноров	23
Предел обнаружения (LoD).....	23
Линейный диапазон количественного определения парвовируса В19	24
Воспроизводимость	25
Прецизионность	25
Способность выявлять разные генотипы ВГА	26
Верификация генотипов парвовируса В19.....	26
Аналитическая специфичность	27
Аналитическая специфичность: интерферирующие вещества	29
Корреляция	30
Системные ошибки	31
Перекрестная контаминация	31

Клинические испытания теста 32

Воспроизводимость	32
-------------------------	----

Дополнительная информация 34

Основные характеристики теста	34
Условные обозначения	35
Техническая поддержка.....	36
Производитель и импортёр	36
Товарные знаки и патенты.....	36
Авторское право	36
Литература	37
Редакция документа	40

Назначение

Тест cobas® DPX является *in vitro* тестом для прямого количественного определения ДНК парвовируса В19 генотипов 1, 2 и 3 и прямого качественного выявления РНК вируса гепатита А (ВГА) генотипов I, II и III в плазме крови человека.

Тест предназначен для внутрипроизводственного количественного анализа ДНК парвовируса В19 либо для одновременного количественного анализа ДНК парвовируса В19 и детекции РНК ВГА в плазме, предназначенной для производства и полученной от доноров цельной крови, компонентов крови или плазмы. Донорская плазма и производственные пулы могут тестироваться индивидуально или в пулах, состоящих из аликвот индивидуальных образцов.

Данный тест не предназначен для тестирования образцов пуповинной крови.

Данный тест не предназначен для помощи при диагностике инфекций, вызываемых парвовирусом В19 или ВГА.

Описание теста

Введение: скрининг крови на гемотрансмиссивные инфекции

Парвовирус человека В19 — это небольшой безоболочечный вирус с геномом, представленным одноцепочечной ДНК, относящийся к роду *Erythrovirus* семейства *Parvoviridae*.¹ Эритровирусы человека разделяют на три генотипа: генотип 1 (штаммы В19), генотип 2 (штаммы А6) и генотип 3 (штаммы V9/D91/1).^{2,3} Подавляющее большинство вирусных изолятов относится к генотипу 1.¹ Генотип 2 спорадически выявляют в США, Европе и Южной Америке, преимущественно среди пациентов, рожденных до 1940 года.¹ Генотип 3 встречается преимущественно в Северной и Западной Африке, но также был выявлен во Франции.¹

Парвовирус В19 является широко и повсеместно распространенным патогеном. Частота выявления антител класса IgG к В19, указывающих на перенесенную инфекцию, увеличивается с возрастом и составляет около 20 % у детей в возрасте от 1 до 4 лет, более 60 % у взрослых, а у пожилых людей достигает 85 %.⁴⁻⁶ Несмотря на большую частоту выявления антител в общей популяции, виремия или присутствие вирусной ДНК выявляются редко.⁴ Клинические проявления инфекции и их тяжесть зависят от иммунологического и гематологического статуса инфицированного организма.^{1,7,8} У иммунокомпетентных лиц инфекция часто протекает бессимптомно или приводит к умеренному, самопрекращающемуся заболеванию, проявляющемуся в виде инфекционной эритемы («пятой болезни») у детей или артропатии у взрослых.^{1,7,9,10} Парвовирус В19, однако, может вызывать тяжелые заболевания, например преходящую апластическую анемию у пациентов с гематологическими нарушениями, водянку плода, конгенитальную анемию или выкидыш у беременных женщин.^{1,7,11-13} Частота выявления парвовируса В19 среди доноров крови и плазмы варьируется от 0,16 % до 0,9 %, преимущественно с очень низкой концентрацией вирусной ДНК.¹⁴⁻¹⁸ Данные от производителей плазмы указывают на еще более низкие показатели распространенности.¹⁹

Парвовирус В19 обычно передается респираторным путем, однако также может передаваться с продуктами плазмы крови или при переливании эритроцитов.^{1,20} В литературе описаны случаи выявления ДНК парвовируса В19 в продуктах плазмы, в том числе в концентрате фактора VIII и других факторах свертываемости, в подвергнутых сольвент-детергентной обработке пулах плазмы, а также у их реципиентов.²⁰⁻³⁰ Установлена связь между передачей вируса с продуктами плазмы и размерами пулов плазмы, случаями острой бессимптомной инфекции парвовируса В19, высокой концентрацией вирусной ДНК (до 10^{12} МЕ/мл) в вирус-содержащих донациях, а также резистентностью парвовируса В19 к большинству методов вирусной инактивации

и элиминации, таких как сольвент-детергентная (С/Д) обработка и пастеризация.^{20, 21, 27–30} Описано всего несколько случаев передачи парвовируса В19 при переливании эритроцитов.²⁰ Кроме того, крайне редко регистрируются случаи инфицирования реципиентов компонентов крови, в которых ДНК парвовируса В19 содержится в низкой или средней концентрации ($< 10^6$ МЕ/мл).²⁰

Вирус гепатита А (ВГА) — это небольшой безоболочечный РНК-содержащий вирус, принадлежащий к роду *Hepatovirus* семейства *Picornaviridae*.³¹ ВГА распространен повсеместно и передается фекально-орально, преимущественно при тесных бытовых контактах.^{32–34} Известны несколько генотипов и субтипов вируса.³⁴ Инфекция наиболее широко распространена в развивающихся странах с низкими санитарными стандартами. В этих странах инфекция обычно переносится в раннем возрасте, что приводит к появлению протективных антител к ВГА у значительной части населения.^{31–34} В развитых странах снижение интенсивности циркуляции ВГА и доступность вакцин привели к сдвигу заболеваемости в более старшие возрастные группы.^{31, 34} В Северной Европе, Японии, Канаде и США распространенность вируса в общей популяции крайне низка ($\sim 0,01$ %), а вспышки инфекции в основном случаются в группах риска, например среди путешественников в эндемичные регионы.^{32, 33}

Протекание инфекции ВГА может варьироваться от бессимптомной инфекции (преимущественно у детей) до фульминантного гепатита, приводящего в некоторых случаях к смерти.^{31, 32} ВГА вызывает острую инфекцию, которая никогда не переходит в хроническую форму, поэтому посттрансфузионная передача ВГА случается редко и центры крови не тестируют донации на наличие ВГА, полагаясь вместо этого на анамнез донора для исключения доноров с гепатитом в анамнезе.³⁵ Описано всего несколько случаев посттрансфузионной инфекции ВГА, приведшей к развитию умеренного заболевания печени у реципиента.^{36, 37} Несмотря на возможность присутствия инфекционного ВГА в крови в период серологического окна, риск посттрансфузионной передачи ВГА очень мал.^{35, 38} Также описаны случаи передачи ВГА от доноров с бессимптомной вирусемией.^{35–38} ВГА не имеет липидной оболочки и поэтому с трудом инактивируется при С/Д-обработке или пастеризации, например при производстве продуктов плазмы.³⁵ По этой причине описаны случаи передачи ВГА с продуктами плазмы, преимущественно с факторами свертывания крови.^{36, 39, 40}

Одна донация гипотетически может содержать одновременно и ДНК парвовируса В19, и РНК ВГА, однако распространенность коинфекции парвовируса В19/ВГА среди доноров недостаточно изучена и мало описана в литературе.^{41–43} Описаны редкие случаи коинфекции парвовируса В19/ВГА у детей, однако эта когорта не относится к донорской популяции.^{41–43} Риск коинфекции может быть рассчитан на основании данных о распространенности каждого вируса. Распространенность ВГА среди доноров полностью не установлена, однако известно, что в общей популяции частота его выявления составляет $\sim 0,01$ % и еще ниже среди доноров плазмы ($\sim 0,0004$ %).^{32, 33, 44, 45} Учитывая, что распространенность парвовируса В19 составляет $\sim 0,9$ %^{14–18}, рассчитанный риск коинфекции В19/ВГА составляет $\sim 0,0000036$ % ($0,0004$ % $\times$ $0,9$ %) или 1 на $\sim 28\,000\,000$ донаций.

Обоснование тестирования нуклеиновых кислот (НАТ)

Тестирование нуклеиновых кислот (НАТ) может применяться для выявления контаминации ВГА и парвовируса В19. В начале 2000-х годов некоторые производители плазмы инициировали НАТ-скрининг производственной плазмы на РНК ВГА и ДНК парвовируса В19 в ответ на сообщения о случаях передачи обоих вирусов с продуктами плазмы.⁴⁶ Целями НАТ-скрининга в ходе внутрипроизводственного тестирования были выбраковка всех ВГА-содержащих донаций и снижение нагрузки парвовируса В19 в пулах плазмы.⁴⁷ С 2004 г. согласно требованиям Европейской фармакопеи все производители должны гарантировать, что концентрация ДНК парвовируса В19 в пулах для производства анти-Д иммуноглобулина человека и в пулах плазмы человека, подвергшихся вирусной инактивации, не превышает 10^4 МЕ/мл.⁴⁸ Аналогично FDA с 2009 г. рекомендует всем

производителям проводить NAT-тест на парвовирус B19 для всех производимых из плазмы продуктов, чтобы гарантировать вирусную нагрузку ДНК парвовируса B19 в производственных пулах не выше 10^4 МЕ/мл.⁴⁷ В настоящее время регулирующие органы США и Европы не требуют проведения NAT-скрининга производственных пулов плазмы на ВГА, однако согласно европейским нормативным требованиям тесты NAT, используемые для выявления ВГА в ходе внутрипроизводственного тестирования пулов, при выявлении РНК ВГА контроля должны обладать чувствительностью не менее 100 МЕ/мл.⁴⁹

Принципы теста

Тест **cobas® DPX** является дуплексным тестом, выполняемым в системе **cobas® 6800** или **cobas® 8800**. Тест **cobas® DPX** позволяет одновременно проводить количественный анализ ДНК парвовируса B19 генотипов 1, 2 и 3 и качественное выявление РНК вируса гепатита А (ВГА) генотипов I, II и III в плазме человека.

Процедуры, лежащие в основе теста

Тест **cobas® DPX** основан на методе ПЦР в реальном времени с полностью автоматизированной пробо-подготовкой (выделением и очисткой нуклеиновых кислот) с последующей ПЦР-амплификацией и детекцией. Системы **cobas® 6800/8800** состоят из модуля подачи образцов, модуля переноса, модуля обработки и аналитического модуля. Автоматизированное управление данными осуществляется программой **cobas® 6800/8800**, которая определяет результаты количественного теста (в МЕ/мл) для парвовируса B19 относительно количественного стандарта (КС), калиброванного относительно Международного стандарта ВОЗ для B19.⁴⁷ Программа **cobas® 6800/8800** также выдает результаты для вируса гепатита А как нереактивные, реактивные или невалидные. Результаты можно просматривать непосредственно на экране системы и распечатывать в виде отчета.

Образцы можно тестировать индивидуально или в пулах, состоящих из нескольких образцов. Прибор **cobas p 680** или прибор **Hamilton Microlab® STAR/STARlet IVD** с программным обеспечением **cobas® Synergy** могут применяться на преаналитическом этапе для пулирования образцов.

Нуклеиновые кислоты донорского образца и вносимых в образец молекул защищенной РНК (Armored RNA) внутреннего контроля (IC), а также молекул ДНК количественного стандарта (DNA QS) (используемого для контроля процесса пробоподготовки и амплификации/детекции) выделяются одновременно. Вирусные нуклеиновые кислоты освобождаются в результате внесения в образец протеазы и лизирующего реагента. Освободившаяся нуклеиновая кислота связывается с кремниевой поверхностью внесенных в образец магнитных стеклочастиц. Несвязавшиеся вещества и примеси, например денатурировавшие белки, клеточный дебрис, потенциальные ингибиторы ПЦР (такие как гемоглобин), удаляются на последующих этапах отмывки, и очищенная нуклеиновая кислота элюируется со стеклочастиц буфером для элюции при повышенных температурах.

Избирательная амплификация нуклеиновых кислот-мишеней из донорского образца достигается благодаря использованию прямого и обратного праймеров, специфичных к вирусу, подобранных к высококонсервативным участкам вирусной нуклеиновой кислоты. Термостабильный фермент ДНК-полимераза используется для обратной транскрипции и амплификации. В состав мастермикса входит трифосфат дезоксиуридина (dUTP) вместо трифосфата дезокситимидина (dTTP), который встраивается во вновь синтезируемые цепи ДНК (ампликон).⁵⁰⁻⁵² Любые контаминирующие ампликоны из предыдущих постановок ПЦР разрушается ферментом **AmpErase** [урацил-N-гликозилаза], входящим в состав мастермикса для ПЦР, во время нагревания на первом этапе термоциклирования. Однако вновь синтезируемые ампликоны не разрушаются, поскольку фермент **AmpErase** инактивируется при нагревании выше 55 °C.

Мастермикс теста **cobas® DPX** содержит зонды для детекции, специфичные к последовательностям В19 и ВГА, а также ВК и КС. Каждый зонд для детекции, специфичный к В19, ВГА, ВК и КС, мечен одним из четырех флуоресцентных красителей, действующих как репортерный краситель. Каждый зонд также несет еще один (пятый) краситель, который является гасителем. Сигналы от четырех репортерных красителей измеряются при специфичной для каждого красителя длине волны, что обеспечивает одновременную детекцию и дифференциацию амплифицированных мишеней В19, ВГА, ВК и КС.^{53, 54} Флуоресцентный сигнал интактного зонда подавляется гасителем. Во время этапа амплификации ПЦР зонды гибридизуются со специфичными одноцепочечными молекулами ДНК и разрушаются вследствие 5'–3' нуклеазной активности ДНК-полимеразы. Это приводит к разделению репортерного и гасящего красителей и, как следствие, генерированию флуоресцентного сигнала. На каждом цикле ПЦР увеличивается количество разрушенных зондов и происходит кумулятивный рост сигнала от репортерного красителя. Одновременная детекция и дифференциация ампликонов мишеней В19, ВГА, а также ВК и КС возможны благодаря измерению флуоресцентного сигнала от четырех репортерных красителей при специфичной для каждого красителя длине волны.

Реагенты и материалы

Реагенты и контроли cobas® DPX

Все неоткрытые реагенты и контроли должны храниться как рекомендовано в Табл. 1 до Табл. 4.

Табл. 1 Тест cobas® DPX

Тест cobas® DPX

Хранить при температуре 2–8 °C

Кассета на 192 теста (P/N 09171126190)

Компоненты набора	Состав реагента	Количество в наборе
Раствор протеазы (PASE)	Трис буфер, < 0,05 % ЭДТА, хлорид кальция, ацетат кальция, 8 % протеиназа, глицерин EUN210: Паспорт безопасности предоставляется по запросу. EUN208: Содержит субтилизин, полученный из бактерий <i>Bacillus subtilis</i> . Может вызывать аллергическую реакцию.	22,3 мл
Внутренний контроль DPX и количественный стандарт (DPX IC/QS)	Трис буфер, < 0,05 % ЭДТА, < 0,01 % защищенная РНК (Armored RNA) внутреннего контроля (неинфекционная РНК, заключенная в бактериофаг MS2), < 0,01 % неинфекционная синтетическая ДНК КС В19 в оболочечном белке бактериофага Лямбда, < 0,002 % поли rA РНК (синтетическая), < 0,1 % азид натрия	21,2 мл
Буфер для элюции (EB)	Трис буфер, 0,2 % метил-4-гидроксibenзоат	21,2 мл
Мастермикс реагент 1 (MMX-R1)	Ацетат марганца, гидроксид калия, < 0,1 % азид натрия	7,5 мл
DPX мастермикс реагент 2 (DPX MMX-R2)	Трициновый буфер, ацетат калия, глицерин, 18 % диметилсульфоксид, Tween 20, ЭДТА, < 0,06 % dATP, dGTP, dCTP, < 0,14 % dUTP, < 0,01 % прямые и обратные праймеры для парвовируса В19, ВГА, внутреннего контроля и количественного стандарта, < 0,01 % меченые флуоресцентным красителем зонды для парвовируса В19 и ВГА, < 0,01 % меченые флуоресцентным красителем зонды для КС В19 и ВК ВГА, < 0,01 % олигонуклеотидный аптамер, < 0,01 % Z05D ДНК-полимераза, < 0,01 % фермент AmpErase (урацил-N-гликозилаза) (бактериальный), < 0,1 % азид натрия	9,7 мл

Табл. 2 Набор контролей cobas® DPX Control Kit

cobas® DPX Control Kit

Хранить при 2–8 °C

(P/N 09040749190)

Компоненты набора	Состав реагента	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения *
Двойной положительный контроль DPX (DPX D(+))C)	< 0,001 % синтетическая (защищенная) РНК ВГА в оболочечном белке бактериофага MS2, < 0,001 % синтетическая (плазмидная) ДНК парвовируса В19 в оболочечном белке бактериофага Лямбда, нормальная плазма человека, нереактивная в лицензированных тестах на антитела к В19, негативная по РНК ВГА при тестировании методом ПЦР, с концентрацией ДНК В19, не обнаруживаемой при тестировании методом ПЦР, либо не влияющей на функциональность контроля (≤ 5 МЕ/мл) 0,1 % консервант ProClin® 300 **	8 мл (8 × 1 мл)	  ВНИМАНИЕ H317: При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию. H412: Вредно для водной флоры и фауны с долгосрочными последствиями. P261: Избегать вдыхания тумана или паров. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Использовать защитные перчатки. P333 + P313: При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться за медицинской помощью. P362 + P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед использованием. P501: Утилизировать содержимое/контейнер в специализированном центре. 55965-84-9 Реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-2Н-изотиазол-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).
Высокотитражный положительный контроль DPX (DPX H(+))C)	< 0,001 % синтетическая (плазмидная) ДНК парвовируса В19 в оболочечном белке бактериофага Лямбда, нормальная плазма человека, нереактивная в лицензированных тестах на антитела к В19, негативная по РНК ВГА при тестировании методом ПЦР, с концентрацией ДНК В19, не обнаруживаемой при тестировании методом ПЦР, либо не влияющей на функциональность контроля (≤ 5 МЕ/мл) 0,1 % консервант ProClin® 300 **	8 мл (8 × 1 мл)	  ВНИМАНИЕ H317: При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию. H412: Вредно для водной флоры и фауны с долгосрочными последствиями. P261: Избегать вдыхания тумана или паров. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Использовать защитные перчатки. P333 + P313: При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться за медицинской помощью. P362 + P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед использованием. P501: Утилизировать содержимое/контейнер в специализированном центре. 55965-84-9 Реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-2Н-изотиазол-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).

* Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

** Опасное для здоровья вещество.

09306838001-01RU

Doc Rev.1.0

Табл. 3 Набор буферных отрицательных контролей **cobas®** Buffer Negative Control Kit**cobas® Buffer Negative Control Kit**

Хранить при 2–8 °C

(P/N 09051953190)

Компонент набора	Состав реагента	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения
Буферный отрицательный контроль (Buffer-NC)	Трис буфер, ЭДТА, 0,002 % поли гА РНК (синтетическая), < 0,1 % азид натрия	16 мл (16 × 1 мл)	Неприменимо

Реагенты cobas omni для пробоподготовки

Табл. 4 Реагенты cobas omni для пробоподготовки *

Реагенты	Состав реагента	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения **
Реагент cobas omni MGP Reagent (MGP) Хранить при 2–8 °C (P/N 06997546190)	Магнитные стеклочастицы, трис буфер, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат, < 0,1 % азид натрия	480 тестов	Неприменимо
Дилуэнт для образцов cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Хранить при 2–8 °C (P/N 06997511190)	Трис буфер, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат, < 0,1 % азид натрия	4 × 875 мл	Неприменимо
Лизирующий реагент cobas omni Lysis Reagent (LYS) Хранить при 2–8 °C (P/N 06997538190)	42,56 % (м/м) гуанидин тиоцианат **, 5 % (м/о) полидоканол **, 2 % (м/о) дитиотреитол **, дигидрат цитрата натрия	4 × 875 мл	 ОПАСНО H302: Вредно при проглатывании. H314: Вызывает серьезные ожоги кожи и повреждения глаз. H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями. EUN032: При контакте с кислотой выделяет особо токсичный газ. EUN071: Коррозионное воздействие на дыхательные пути. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Использовать перчатки, спецодежду и средства для защиты глаз/лица/органов слуха. P303 + P361 + P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой. P304 + P340 + P310: ПРИ ВДЫХАНИИ: вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту. P305 + P351 + P338 + P310: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту. P391: Ликвидировать просыпания/проливы/утечки. 593-84-0 Гуанидин тиоцианат 9002-92-0 Полидоканол 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-димеркаптобутан-2,3-диол
Промывочный реагент cobas omni Wash Reagent (WASH) Хранить при 15–30 °C (P/N 06997503190)	Дигидрат цитрата натрия, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат	4,2 л	Неприменимо

* Данные реагенты не входят в набор cobas® DPX. См. перечень необходимых дополнительных материалов (Табл. 7).

** Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

Хранение реагентов и правила работы с ними

Условия хранения реагентов и работы с ними приведены в Табл. 5 и Табл. 6.

Когда реагенты не загружены в системы **cobas® 6800/8800**, они должны храниться при температурах, указанных в Табл. 5.

Табл. 5 Хранение реагентов (когда реагенты не загружены в систему)

Реагент	Температура хранения
cobas® DPX – 192	2–8 °C
cobas® DPX Control Kit	2–8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2–8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2–8 °C
cobas omni MGP Reagent	2–8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2–8 °C
cobas omni Wash Reagent	15–30 °C

Когда реагенты загружены в системы **cobas® 6800/8800**, они хранятся при необходимых температурах и их сроки годности отслеживаются системой. Система допускает использование реагентов, только если они соответствуют всем условиям, приведенным в Табл. 6. Система автоматически блокирует использование реагентов с истекшим сроком годности. Табл. 6 содержит сведения об условиях использования реагентов в соответствии с требованиями систем **cobas® 6800/8800**.

Табл. 6 Требования систем **cobas® 6800/8800** к срокам хранения реагентов

Реагент	Срок годности набора	Стабильность открытого набора	Число постановок, для которых может использоваться набор	Стабильность после загрузки (общее время в системе, вне холодильника)
cobas® DPX – 192	Не истек	90 дней после первого использования	Максимум 40 постановок	Максимум 40 часов
cobas® DPX Control Kit	Не истек	Неприменимо	Неприменимо	Максимум 8 часов
cobas® Buffer Negative Control Kit	Не истек	Неприменимо	Неприменимо	Максимум 10 часов
cobas omni Lysis Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni MGP Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni Specimen Diluent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni Wash Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо

* Время определяется после первой загрузки реагента в системы **cobas® 6800/8800**.

Необходимые дополнительные материалы

Табл. 7 Реагенты и расходные материалы для работы с системами **cobas® 6800/8800**

Материал	P/N
Планшет для обработки образцов cobas omni	05534917001
Амплификационный планшет cobas omni	05534941001
Наконечники cobas omni	05534925001
Контейнер для жидких отходов cobas omni	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Пакет для твердых отходов или Пакет для твердых отходов с вставкой	07435967001 или 08030073001
Контейнер для твердых отходов	07094361001

Необходимое оборудование и программное обеспечение

Программа **cobas® 6800/8800** и аналитический пакет **cobas® DPX** должны быть установлены на приборе (приборах). Сервер Instrument Gateway (IG) поставляется вместе с системой.

Табл. 8 Приборы

Системы cobas® 6800/8800	P/N
Система cobas® 6800 (опция — подвижная)	05524245001 и 06379672001
Система cobas® 6800 (фиксированная)	05524245001 и 06379664001
Система cobas® 8800	05412722001
Модуль подачи образцов	06301037001
Для автоматизированного раскапывания и пулирования	P/N
Прибор cobas p 680	06570577001
Электронная лицензия на программное обеспечение cobas® Synergy	09311238001
Прибор Hamilton Microlab® STAR IVD	04640535001
Hamilton Microlab® STARlet IVD	04872649001

Дополнительные сведения о первичных и вторичных пробирках для образцов, подходящих приборам, приведены в поддержке пользователя систем **cobas® 6800/8800** и прибора **cobas p 680** или в поддержке пользователя программного обеспечения **cobas® Synergy**.

Примечание. Обратитесь в ваше региональное представительство Roche за подробным списком штативов для образцов, штативов для засоренных наконечников и лотков для штативов, подходящих приборам.

Меры предосторожности и правила работы

Меры предосторожности

Как и при выполнении любых тестов, соблюдение правил надлежащей лабораторной практики является условием качественного выполнения данного теста. Вследствие высокой аналитической чувствительности теста необходимо тщательно оберегать от контаминации реагенты и амплификационные смеси.

- Только для диагностики *in vitro*.
- Все образцы нужно рассматривать как потенциально инфекционные и соблюдать при работе с ними правила биологической безопасности, приведенные в документах Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories и CLSI Document M29-A4.^{55, 56} Только персонал, обученный работе с инфекционными материалами, а также работе с тестом **cobas® DPX**, системами **cobas® 6800/8800** и, опционально, прибором **cobas p 680** или прибором Hamilton Microlab® STAR/STARlet IVD с программным обеспечением **cobas® Synergy**, может выполнять данную процедуру.
- Все материалы человеческого происхождения должны рассматриваться как потенциально инфекционные, работать с ними нужно с соблюдением стандартных мер предосторожности. При разливе материалов немедленно проведите дезинфекцию свежеприготовленным 0,6%-м раствором гипохлорита натрия в дистиллированной или деионизованной воде или следуйте стандартным инструкциям, принятым в вашей лаборатории.
- Набор контролей **cobas® DPX Control Kit** содержит плазму, полученную из человеческой крови. Источник был протестирован в лицензированных тест-системах для выявления антител и оказался нереактивным по антителам к B19 IgG и IgM. Тестирование нормальной плазмы человека методом ПЦР подтвердило отсутствие РНК ВГА, а также что концентрация ДНК В19 либо не обнаруживается, либо не влияет на функциональность позитивных контролей DPX. Ни один из известных методов не может обеспечить полную гарантию отсутствия инфекционных агентов в продуктах крови человека.
- Не замораживайте цельную кровь.
- Рекомендуются использовать стерильные одноразовые дозаторы и свободные от нуклеаз наконечники. Для оптимального выполнения теста используйте только входящие в состав системы или рекомендованные для нее производителем расходные материалы.
- Паспорта безопасности материалов (SDS) доступны по запросу в вашем региональном представительстве компании Roche.
- Внимательно следуйте рекомендациям и инструкциям для корректного проведения теста. Любое отклонение от инструкции может повлиять на результаты теста.
- Нарушение границы раздела клеток и плазмы или диффузия материала после центрифугирования могут привести к более высокому уровню невалидных результатов.
- Ложноположительные результаты могут быть получены при отсутствии адекватного контроля перекрестных контаминаций образцов на этапах пробоподготовки.
- О любых серьезных инцидентах, имевших место при работе с данным тестом, сообщайте в местный уполномоченный орган.

Обращение с реагентами

- Работайте со всеми реагентами, контролями и образцами в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики для предотвращения перекрестной контаминации образцов и контролей.
- Перед началом работы осмотрите все кассеты реагентов, дилуент, лизирующий реагент и промывочный реагент и убедитесь в отсутствии протекания. При наличии протекания не используйте данный материал для постановки теста.
- Лизирующий реагент **cobas omni** Lysis Reagent содержит гуанидин тиоцианат — потенциально опасное вещество. Не допускайте попадания реагента на кожу, в глаза, на слизистые оболочки. В случае попадания немедленно смойте большим количеством воды; в противном случае может возникнуть ожог.
- Реагенты наборов **cobas® DPX**, реагент **cobas omni** MGP Reagent и дилуент для образцов **cobas omni** Specimen Diluent содержат в качестве консерванта азид натрия. Не допускайте попадания реагента на кожу, в глаза, на слизистые оболочки. В случае попадания немедленно смойте большим количеством воды; в противном случае может возникнуть ожог. При проливе этих реагентов промойте их водой и затем вытрите.
- Не допускайте контакта лизирующего реагента **cobas omni** Lysis Reagent, содержащего гуанидин тиоцианат, с раствором гипохлорита натрия (хлорки). Данная смесь может выделять высокотоксичный газ.
- Утилизируйте все материалы, контактировавшие с образцами и реагентами, в соответствии с государственными, федеральными и региональными правилами.

Надлежащая лабораторная практика

- Не пипетируйте ртом.
- Не ешьте, не пейте и не курите в рабочих лабораторных помещениях.
- Работайте со всеми реагентами и образцами в средствах для защиты глаз, лабораторном халате и одноразовых перчатках. Для предотвращения контаминаций меняйте перчатки после работы с образцами, прежде чем начать работу с реагентами наборов **cobas® DPX** и **cobas omni**. Не допускайте контаминации перчаток при работе с образцами и контролями.
- Тщательно мойте руки после работы с образцами и компонентами набора и после снятия перчаток.
- Тщательно очищайте и дезинфицируйте все рабочие поверхности в лаборатории свежеприготовленным 0,6%-м раствором гипохлорита натрия в дистиллированной или деионизованной воде, затем протирайте их 70%-м этанолом.
- При разливе реагентов или образцов в приборе **cobas® 6800/8800** проведите очистку и дезинфекцию поверхности приборов в соответствии с инструкциями в руководстве пользователя систем **cobas® 6800/8800**.

Сбор, транспортировка, хранение и пулирование образцов

Примечание. Работайте со всеми образцами и контролями как с потенциально инфекционными материалами.

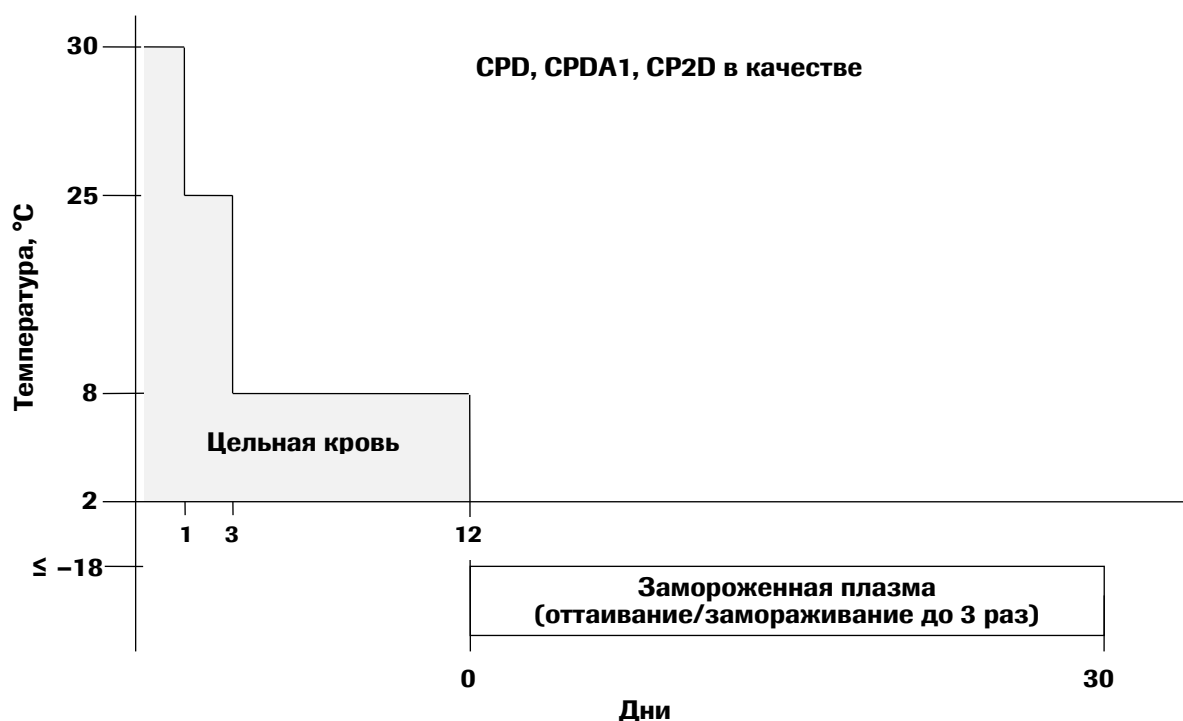
Храните все донорские образцы при указанной температуре.

Стабильность образцов снижается при повышенных температурах.

Образцы от живых доноров

- Для работы с тестом **cobas® DPX** можно использовать плазму, собранную с ЭДТА, CPD, CPDA1, CP2D или 4 % цитратом натрия в качестве антикоагулянта. Следуйте инструкциям производителя пробирок/мешков для сбора образцов по работе с образцами и их центрифугированию.
- Кровь, собранную с ЭДТА в качестве антикоагулянта, в пробирках для отделения плазмы Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) можно подвергнуть дополнительному центрифугированию при $600 \times g$ в течение 5 минут перед загрузкой, дополнительным пулированием или повторным тестированием.
- Кровь, собранная с CPD, CPDA1, CP2D в качестве антикоагулянта, а также кровь в пробирках для отделения плазмы Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) может храниться до 12 дней при следующих условиях:
 - образцы должны быть центрифугированы в течение 72 часов после забора крови;
 - при хранении при температуре выше 8°C образцы можно хранить не более 72 часов при температуре до 25°C и не более 24 часов (в пределах этих 72 часов) при температуре до 30°C .
 - Помимо описанных выше условий, образцы хранят при температуре $2-8^{\circ}\text{C}$. Кроме того, плазма, отделенная от клеток, может храниться до 30 дней при температуре $\leq -18^{\circ}\text{C}$ с тремя допустимыми циклами заморозки/оттаивания. См. Рис. 1.

Рис. 1 Условия хранения донорских образцов



- Кровь, собранная в пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта, может храниться до 12 дней при следующих условиях:
 - образцы должны быть центрифугированы в течение 72 часов после забора крови;
 - при хранении при температуре выше 8 °C образцы можно хранить не более 72 часов при температуре до 25 °C и не более 24 часов (в пределах этих 72 часов) при температуре до 30 °C.
 - Помимо описанных выше условий, образцы хранят при температуре 2–8 °C. Кроме того, плазма, отделенная от клеток, может храниться до 12 месяцев при температуре ≤ -18 °C с тремя допустимыми циклами заморозки/оттаивания. См. Рис. 2.

Рис. 2 Условия хранения донорских образцов



- Плазма, собранная с 4 % цитратом натрия в качестве антикоагулянта, может храниться до 30 дней при температуре 2–8 °C.
 - при хранении при температуре выше 8 °C образцы могут храниться в пределах 72 часов при температуре до 25 °C (в течение 72 часов) и при температуре до 30 °C (в течение 24 часов).
 - Помимо описанных выше условий, образцы хранят при температуре 2–8 °C. Кроме того, плазма, отделенная от клеток, может храниться до 12 месяцев при температуре ≤ -18 °C с тремя допустимыми циклами заморозки/оттаивания.
- Если необходимо транспортировать образцы, они должны быть упакованы и маркированы в соответствии с правилами транспортировки образцов и инфекционных агентов, действующими в вашей стране, и/или международными правилами.

Инструкция по работе с набором

Автоматизированное раскапывание и пулирование образцов (опционально)

Прибор **cobas p 680** или Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD с программным обеспечением **cobas® Synergy** можно использовать как дополнительные к системам **cobas® 6800/8800** компоненты для автоматизированного пипетирования и пулирования аликвот нескольких первичных образцов в один пулированный образец.

Более подробные сведения приведены в поддержке пользователя прибора **cobas p 680** и в поддержке пользователя ПО **cobas® Synergy**.

Установка отсекающей величины для парвовируса B19

Системы **cobas® 6800/8800**

Руководитель лаборатории задает отсекающую величину титра парвовируса B19, выбрав настройку отсекающей для пула из 1. Введенная здесь величина используется программой для назначения результата «B19V < отсекающая величина» или «B19V ≥ отсекающая величина» (Табл. 10). Программа автоматически рассчитывает результат на основании заданной отсекающей величины и размера пула.

Ввести отсекающую величину титра парвовируса B19 можно описанными ниже способами.

Отсекающую величину DPX-B19V можно найти в интерфейсе пользователя через Administration (Администрирование) --> Settings (Настройки) --> Processing settings (Настройки обработки) --> Roche tests (Тесты Roche). В разделе «Settings» (Настройки) тест-специфичного аналитического пакета для теста DPX-B19V ASAP отсекающую величину можно установить с помощью кнопки «Edit» (Редактировать).

ПО **cobas® Synergy**

Получение конечных результатов тестов B19 и DPX доступно только в ПО **cobas® Synergy**. При работе с системами **cobas® 6800/8800** они недоступны.

Чтобы ввести отсекающие величины титра парвовируса B19 (в МЕ/мл на объем пула), следуйте инструкциям в поддержке пользователя ПО **cobas® Synergy**. Для программного обеспечения **cobas® 6800/8800** рекомендуется устанавливать отсекающую величину равную 1.

Рекомендации по процедуре

- Не используйте реагенты набора **cobas® DPX**, набор контролей **cobas® DPX Control Kit**, набор отрицательных контролей **cobas® Buffer Negative Control Kit** и реагенты **cobas omni** после истечения их сроков годности.
- Не используйте повторно расходные материалы. Они предназначены только для однократного применения.
- Инструкции по эксплуатации и обслуживанию приборов приведены в руководстве пользователя систем **cobas® 6800/8800**.

Выполнение теста cobas® DPX

Подробное описание процедуры теста приведено в поддержке пользователя систем **cobas® 6800/8800**. Подробное описание дополнительных процедур пулирования см. в поддержке пользователя прибора **cobas p 680** или в поддержке пользователя программного обеспечения **cobas® Synergy**, соответственно.

Рис. 3 ниже отражает схему постановки теста.

Рис. 3 Процедура теста **cobas® DPX**

1	Пипетирование и пулирование
2	Создание задания
3	Пополнение реагентов и расходных материалов по запросу системы: • Повторно загрузить промывочный реагент, лизирующий реагент и дилюент • Повторно загрузить планшеты для обработки и амплификации • Повторно загрузить магнитные стеклочастицы • Повторно загрузить тест-специфичные реагенты • Повторно загрузить кассеты с контролями • Повторно загрузить штативы с наконечниками • Заменить штатив для засоренных наконечников
4	Запуск постановки теста: • Загрузить штативы с образцами • Выбрать кнопку «Старт» на интерфейсе
5	Просмотр и экспорт результатов
6	Выгрузка расходных материалов • Удалить амплификационные планшеты из аналитического модуля • Выгрузить пустые кассеты для контролей • Удалить твердые отходы • Удалить жидкие отходы

Результаты

Системы **cobas®** 6800/8800 автоматически определяют концентрацию ДНК парвовируса В19 в донорских образцах и контролях. Концентрация ДНК парвовируса В19 выражается в Международных единицах в миллилитре (МЕ/мл). Кроме того, системы **cobas®** 6800/8800 автоматически выявляют РНК ВГА в образцах и контролях.

Контроль качества и валидности результатов

- Один отрицательный [(-) С] и два положительных контроля [DPX D(+)С и DPX H(+)С] включаются в каждую постановку.
- В программе **cobas®** 6800/8800 или отчете проверьте наличие флагов и соответствующих им результатов для проверки валидности постановки.
- Постановка валидна, если ни для одного из трех контролей нет сигнальных сообщений.

Невалидность результатов определяется программой **cobas®** 6800/8800 автоматически на основании невалидных результатов для отрицательного и положительных контролей.

Сигнальные сообщения для контролей

Табл. 9 Флаги отрицательного и положительных контролей

Отрицательный контроль	Флаг	Результат	Интерпретация
(-) С	Q02	Invalid	Вся постановка признается невалидной, если невалиден результат для (-) С.
Положительный контроль	Флаг	Результат	Интерпретация
DPX D(+)С	Q02	Invalid	Невалидный результат, рассчитанный титр парвовируса В19 находится вне заданного диапазона, или нереактивный результат по ВГА. Только для В19: невалидный результат по соответствующему КС, или рассчитанный титр парвовируса В19 находится вне заданного диапазона. Только для ВГА: невалидный результат по соответствующему ВК, или нереактивный результат по ВГА.
DPX H(+)С	Q02	Invalid	Невалидный результат, или рассчитанный титр для высокотитражного положительного контроля находится вне заданного диапазона.

Если постановка невалидна, необходимо повторить всю процедуру постановки теста, включая образцы и контроли.

Интерпретация результатов

Для валидной постановки проверьте наличие флагов для каждого образца в программе **cobas® 6800/8800** или отчете. Интерпретация результатов должна быть следующей:

- валидная постановка может содержать как валидные, так и невалидные результаты для индивидуальных донорских образцов в зависимости от сигнальных сообщений, соответствующих образцам;
- результаты образцов валидны только в том случае, если соответствующие положительные и отрицательный контроли данной постановки валидны.

Для каждого образца одновременно измеряются четыре параметра: для парвовируса B19, для ВГА, для количественного стандарта и для внутреннего контроля. Конечные результаты теста **cobas® DPX** для каждого образца выдаются программой. Донорские образцы, вошедшие в невалидный пул, необходимо тестировать повторно. Помимо общего результата, программа **cobas® 6800/8800** выдает результаты по отдельным мишеням, которые необходимо интерпретировать указанным ниже образом.

Табл. 10 Интерпретация результатов по отдельным мишеням

Результат мишени	Интерпретация
HAV Non-Reactive	Сигнал мишени ВГА отсутствует, сигнал ВК обнаружен.
HAV Reactive	Сигнал мишени ВГА обнаружен, сигнал ВК может быть или отсутствовать.
B19 < отсекающая величина	Титр B19 ниже отсекающей величины, заданной пользователем; величина титра указывается. B19 Non-Reactive: сигнал мишени ДНК B19 не обнаружен, сигнал КС присутствует. B19 < Titer Min: B19 обнаружен, но рассчитанный титр ниже предела количественного определения теста (LLoQ). Примечание. cobas p 680: отсекающая величина для теста B19 отображается в программном обеспечении систем cobas® 6800/8800. cobas® Synergy: отсекающая величина для теста B19 отображается в ПО cobas® Synergy.
B19 ≥ отсекающая величина	Титр B19 превышает отсекающую величину, заданную пользователем; величина титра указывается. B19 > Titer Max: рассчитанный титр выше верхнего предела количественного определения теста (ULoQ) ^a. Примечание. cobas p 680: отсекающая величина для теста B19 отображается в программном обеспечении систем cobas® 6800/8800. cobas® Synergy: отсекающая величина для теста B19 отображается в ПО cobas® Synergy.
Invalid	Сигналы мишени ВГА и внутреннего контроля не обнаружены. Нереактивные по ВГА результаты будут выдаваться как невалидные, если титр B19 > 10⁶ МЕ/мл. Сигнал КС B19 не обнаружен, сигнал мишени B19 может быть или отсутствовать.

^a Если необходим количественный результат, исходный образец необходимо развести негативной по парвовирусу B19 плазмой с ЭДТА и повторить тест. Затем умножьте полученный результат на коэффициент разведения. При использовании программного обеспечения **cobas® Synergy** просматривать расчеты окончательного результата следует в программном обеспечении **cobas® Synergy**.

Повторное тестирование индивидуальных образцов

Пробирки с образцами, для которых по одной мишени получен результат «Невалидно», должны быть тестированы повторно независимо от валидности результатов по остальным мишеням. Повторный результат теста, который был невалидным для мишени ВГА вследствие высокого титра В19 ($> 10^6$ МЕ/мл), также будет невалидным. Дополнительное центрифугирование при $600 \times g$ в течение 5 минут может способствовать сокращению количества повторных невалидных результатов для образцов крови, собранных с ЭДТА в качестве антикоагулянта, в пробирках для отделения плазмы Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™).

Ограничения процедуры

- Тест **cobas® DPX** валидирован только для работы с набором контролей **cobas® DPX Control Kit**, набором отрицательных контролей **cobas® Buffer Negative Control Kit**, реагентом **cobas omni MGP Reagent**, лизирующим реагентом **cobas omni Lysis Reagent**, дилуентом для образцов **cobas omni Specimen Diluent** и промывочным реагентом **cobas omni Wash Reagent** в системах **cobas® 6800/8800**.
- Надежность результатов теста зависит от адекватности сбора, хранения и обработки образцов.
- Не используйте для данного теста гепаринизированную плазму, так как гепарин может ингибировать ПЦР.
- Детекция ДНК парвовируса В19 и РНК ВГА зависит от количества вирусных частиц, содержащихся в образце, методов сбора, хранения и анализа образцов, факторов пациента (например, возраст, наличие симптомов) и/или стадии инфекции, а также объема пула.
- Редкие мутации в высококонсервативных участках вирусных геномов, являющихся мишенями теста **cobas® DPX**, могут препятствовать посадке праймеров или зонда и приводить к занижению титра или получению ложноотрицательного результата теста.
- Вследствие естественных различий между технологиями пользователю рекомендуется, прежде чем заменить одну технологию на другую, провести корреляционные испытания для двух методов, чтобы оценить возможные различия между технологиями. Пользователи должны следовать политике и процедурам, принятым в их учреждении.

Доклинические испытания теста

Основные характеристики набора. Образцы от живых доноров

Предел обнаружения (LoD)

Международные стандарты ВОЗ

Предел обнаружения (LoD) теста cobas® DPX при детекции РНК ВГА и ДНК парвовируса В19 определяли с помощью Международных стандартов ВОЗ для ВГА (код NIBSC 00/560) и парвовируса В19 (код NIBSC 99/802).

Готовили три независимых серии разведений каждого вирусного стандарта в пулированной вирус-негативной человеческой плазме с ЭДТА в качестве антикоагулянта. Каждую серию разведений тестировали с тремя лотами наборов реагентов cobas® DPX в среднем в 21 повторе для лота, всего в среднем 189 повторов для каждой концентрации. Для расчета LoD и двустороннего 95%-го фидуциального доверительного интервала для каждого вируса применялся PROBIT-анализ объединенных данных, полученных для всех тестируемых повторов. Суммарные результаты измерения предела обнаружения приведены в Табл. 11 – Табл. 13.

Табл. 11 Результаты PROBIT-анализа LoD для данных, полученных по вирусным стандартам в плазме с ЭДТА

Аналит	Единицы измерения	LoD	Нижний предел доверительного интервала 95 %	Верхний предел доверительного интервала 95 %
ВГА	МЕ/мл	1,1	0,9	1,3
Парвовирус В19	МЕ/мл	13,9	11,7	17,4

Табл. 12 Частота выявления ВГА в плазме с ЭДТА

Концентрация РНК ВГА (МЕ/мл)	Число реактивных результатов	Число валидных повторов	% реактивных результатов	Нижний предел доверительного интервала 95 % (одностороннего)
6	189	189	100 %	98,4 %
3	189	189	100 %	98,4 %
1,5	186	189	98,4 %	95,9 %
0,75	165	189	87,3 %	82,6 %
0,375	119	189	63,0 %	56,8 %

Табл. 13 Частота выявления парвовируса В19 в плазме с ЭДТА

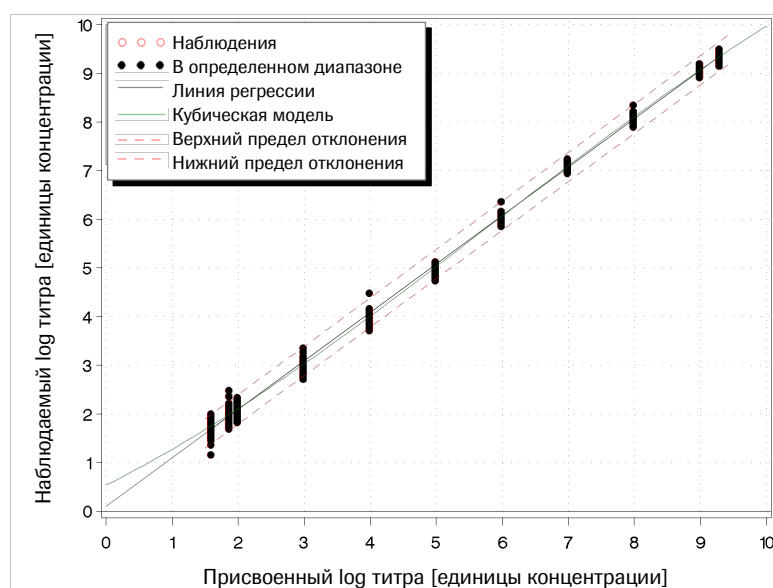
Концентрация ДНК парвовируса В19 (МЕ/мл)	Число реактивных результатов	Число валидных повторов	% реактивных результатов	Нижний предел доверительного интервала 95 % (одностороннего)
40	187	189	98,9 %	96,7 %
20	184	189	97,4 %	94,5 %
10	175	189	92,6 %	88,7 %
5	145	189	76,7 %	71,1 %
2,5	91	189	48,1 %	42,0 %

Линейный диапазон количественного определения парвовируса B19

Линейность количественного определения парвовируса B19 в тесте **cobas® DPX** определяли методом тестирования серии разведений, которая включала 12 образцов панели, перекрывающих предполагаемый линейный диапазон для преобладающего генотипа 1 парвовируса B19. Исследования проводили в соответствии с рекомендациями Руководства CLSI Guideline EP6-A. Тестирование проводили с тремя лотами набора реагентов в трех системах **cobas® 6800/8800** с участием трех операторов, всего 16 повторов для каждой концентрации и каждого лота набора на протяжении 12 дней.

Исследование проводили с тремя лотами набора реагентов. Линейный диапазон составил от 40 МЕ/мл до $1,00 \times 10^9$ МЕ/мл ($38,5 - 1,93 \times 10^9$ МЕ/мл) при абсолютном отклонении от оптимальной нелинейной регрессии менее $\pm 0,3 \log_{10}$ в человеческой плазме с ЭДТА (см. Рис. 4).

Рис. 4 Определение линейного диапазона для парвовируса B19 в плазме с ЭДТА



Воспроизводимость

Воспроизводимость теста **cobas® DPX** определяли между тремя лотами набора реагентов в течение трех дней между четырьмя сочетаниями системы/оператора и между постановками. Результаты для лотов набора реагентов приведены в Табл. 14.

Табл. 14 Воспроизводимость между лотами набора реагентов

Аналит	Концентрация	Лот набора реагентов	% реактивных (реактивные/валидные повторы)	Нижний предел доверительного интервала 95 %	Верхний предел доверительного интервала 95 %
ВГА	2 × LoD	1	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
	1 × LoD	1	98,4 % (62/63)	91,5 %	100,0 %
		2	96,8 % (61/63)	89,0 %	99,6 %
		3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
	0,5 × LoD	1	79,4 % (50/63)	67,3 %	88,5 %
		2	90,5 % (57/63)	80,4 %	96,4 %
		3	92,1 % (58/63)	82,4 %	97,4 %

Прецизионность

Точность теста **cobas® DPX** определяли для парвовируса В19 методом анализа серий разведений образца, содержащего парвовирус В19, в негативной плазме с ЭДТА. Восемь разведений тестировали в 48 повторах для каждой концентрации с тремя лотами набора реагентов **cobas® DPX** с участием трех приборов и трех операторов в течение 12 дней. Каждый образец проходил полную постановку теста **cobas® DPX** в полностью автоматизированных системах **cobas® 6800/8800**. Таким образом, данные по воспроизводимости отражают все аспекты тестирования. Полученные результаты приведены в Табл. 15.

Тест **cobas® DPX** продемонстрировал высокую точность выявления парвовируса В19 для трех лотов набора реагентов в диапазоне концентраций от 1,00E+03 МЕ/мл до 2,0E+09 МЕ/мл.

Табл. 15 Внутрिलाбораторная точность теста **cobas® DPX** *

Номинальная концентрация (МЕ/мл)	Определенная концентрация (МЕ/мл)	Тип материала	Плазма с ЭДТА			
			Лот 1	Лот 2	Лот 3	Все лоты
			СО	СО	СО	Общее СО
2,00E+09	1,93E+09	Клинический образец	0,08	0,05	0,04	0,06
1,00E+09	9,63E+08	Клинический образец	0,05	0,06	0,04	0,05
1,00E+08	9,63E+07	Клинический образец	0,04	0,07	0,04	0,05
1,00E+07	9,63E+06	Клинический образец	0,04	0,04	0,03	0,04
1,00E+06	9,63E+05	Клинический образец	0,12	0,04	0,04	0,08
1,00E+05	9,63E+04	Клинический образец	0,06	0,05	0,02	0,05
1,00E+04	9,63E+03	Клинический образец	0,06	0,12	0,04	0,08
1,00E+03	9,63E+02	Клинический образец	0,05	0,09	0,04	0,06

* Значения концентраций рассматривали как имеющие log-нормальное распределение и анализировали выраженными в log₁₀. Столбцы со значениями стандартного отклонения (СО) представляют значения концентрации в логарифмической шкале для каждого из трех лотов набора реагентов.

Способность выявлять разные генотипы ВГА

Способность теста **cobas® DPX** выявлять три генотипа ВГА определяли методом тестирования 12 индивидуальных клинических образцов, стандарта ВОЗ для ВГА (код NIBSC 00/560) и восьми культуральных изолятов ВГА с известным генотипом. Все образцы были количественно охарактеризованы в тесте **cobas® DPX** относительно калибратора. Все клинические образцы тестировали неразведенными и после разведения нормальной вирус-негативной (по ВГА) человеческой плазмой с ЭДТА до $3,6 \times \text{LoD}$ теста **cobas® DPX**. Все восемь культуральных изолятов и стандарт ВОЗ для ВГА тестировали после разведения нормальной вирус-негативной (по ВГА) человеческой плазмой с ЭДТА до $3,6 \times \text{LoD}$ теста **cobas® DPX**. Все клинические образцы и культуральные изоляты дали положительный результат при тестировании неразведенных образцов и/или в разведении до $3,6 \times \text{LoD}$ (Табл. 16).

Табл. 16 Клинические образцы и культуральные изоляты ВГА

Генотип	Клинические образцы		Культуральные изоляты
	% реактивных (реактивные/тестируемые образцы) без разведения	% реактивных (реактивные/тестируемые образцы) разведение до $3,6 \times \text{LoD}$	% реактивных (реактивные/тестируемые образцы) разведение до $3,6 \times \text{LoD}$
I A	100,0 % (11/11)	100,0 % (12/12) **	Не исследовался *
I B	100,0 % (1/1)	100,0 % (1/1)	100,0 % (1/1)
II A	Не исследовался *	Не исследовался *	100,0 % (1/1)
II B	Не исследовался *	Не исследовался *	100,0 % (1/1)
III A	Не исследовался *	Не исследовался *	100,0 % (3/3)
III B	Не исследовался *	Не исследовался *	100,0 % (2/2)

* Недостаточный объем для тестирования в неразведенном/разведенном виде.

** Включая международный стандарт ВОЗ для ВГА (код NIBSC 00/560).

Верификация генотипов парвовируса В19

Способность теста **cobas® DPX** выявлять парвовирус В19 разных генотипов определяли на основании:

- верификации предела обнаружения генотипов 1, 2 и 3;
- верификации линейности для генотипов 2 и 3.

Верификация предела обнаружения генотипов с 1 по 3

Клинические образцы, содержащие ДНК парвовируса В19 трех разных генотипов (1, 2, 3a), разводили до одной концентрации в плазме с ЭДТА. Плазмид для генотипа 3b парвовируса В19 разводили до одной концентрации в плазме с ЭДТА. Частоту реактивности определяли в 21 повторе. Тестирование проводили с одним лотом набора реагентов **cobas® DPX**. Результаты, полученные для образцов плазмы с ЭДТА, приведены в Табл. 17. Полученные результаты свидетельствуют, что тест **cobas® DPX** выявил ДНК парвовируса В19 трех разных генотипов в диапазоне концентрации 10,3–17,4 МЕ/мл с частотой реактивности 100 %.

Табл. 17 Выявление генотипов парвовируса B19

Генотип	Концентрация	% реактивных (реактивные/валидные повторы)	Нижний предел доверительного интервала 95 %	Верхний предел доверительного интервала 95 %
1	17,4 МЕ/мл	100 % (21/21)	83,9 %	100,0 %
2	10,3 МЕ/мл	100 % (21/21)	83,9 %	100,0 %
3a	10,3 МЕ/мл	100 % (21/21)	83,9 %	100,0 %
3b	17,4 МЕ/мл	100 % (20/20)	83,2 %	100,0 %

Верификация линейного диапазона для генотипов 2 и 3a

Серия разведений, использовавшаяся для верификации линейности при детекции разных генотипов в тесте **cobas® DPX**, состояла из семи образцов панели, перекрывающих предполагаемый линейный диапазон. Высокотитражные образцы панели готовили из стоковой концентрации плазмидной ДНК, тогда как низкотитражные образцы панели готовили из Первой международной референсной панели ВОЗ для генотипов парвовируса B19 (1st WHO International Reference Panel for parvovirus B19 Genotypes) (код NIBSC 09/110). Линейная панель была подготовлена таким образом, чтобы давать перекрывание величиной примерно $2 \log_{10}$ между образцами двух разных типов. Линейный диапазон теста **cobas® DPX** составлял от LLoQ (40 МЕ/мл) до ULoQ ($1,00 \times 10^9$ МЕ/мл) и содержал одно клинически важное значение. Тестирование проводили с одним лотом набора реагентов **cobas® DPX**; каждое разведение в плазме с ЭДТА тестировали в 11 повторах. Линейный диапазон теста **cobas® DPX** был верифицирован для обоих генотипов (2 и 3a). Максимальное отклонение между линейной регрессией и оптимальной нелинейной регрессией не превышало $0,3 \log_{10}$.

Аналитическая специфичность

Аналитическую специфичность теста **cobas® DPX** оценивали методом оценки перекрестной реактивности при тестировании 27 микроорганизмов в концентрации 10^6 частиц, МЕ, копий или КОЕ/мл, приведенных в Табл. 18. Микроорганизмы вводили в нормальную вирус-негативную пулированную человеческую плазму и тестировали в отсутствие и в присутствии ВГА и парвовируса B19, внесенных в концентрации примерно $3 \times \text{LoD}$ для ВГА и $5 \times \text{LLoQ}$ для парвовируса B19 теста **cobas® DPX**. Нерезультативные результаты были получены в тесте **cobas® DPX** для всех содержащих микроорганизмы образцов, в которые не вносили ВГА или парвовирус B19; реактивные результаты были получены для всех содержащих микроорганизмы образцов, в которые вносили ВГА или парвовирус B19. Кроме того, средний $\log_{10}$ титра каждого образца, содержащего парвовирус B19 и потенциально кросс-реактивные микроорганизмы, не отличался более чем на $\pm 0,5 \log_{10}$ от среднего $\log_{10}$ титра соответствующего контроля. Тестируемые микроорганизмы не вызывали перекрестную реактивность при проведении теста **cobas® DPX**.

Тестируемые микроорганизмы не оказывали интерферирующего влияния при проведении теста **cobas® DPX**.

Табл. 18 Микроорганизмы, тестируемые для определения аналитической специфичности

Вирусы	Флавивирус	Бактерии	Дрожжи
Аденовирус типа 5	Вирус Западного Нила (ВЗН)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Вирус чикунгунья	Вирус Денге типа 1	<i>Propionibacterium acnes</i>	-
Цитомегаловирус (ЦМВ)	Вирус Усуту	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Вирус Эпштейна — Барр (ВЭБ)	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Вирус гепатита В (ВГВ)	-	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-
Вирус гепатита С (ВГС)	-	<i>Streptococcus viridans</i>	-
Вирус гепатита Е (ВГЕ)	-	-	-
Вирус гепатита G (ВГГ)	-	-	-
Вирус простого герпеса типа 1 (ВПГ-1)	-	-	-
Вирус простого герпеса типа 2 (ВПГ-2)	-	-	-
Вирус герпеса человека, тип 6А (ВГЧ-6)	-	-	-
Вирус иммунодефицита человека (субтипы ВИЧ-1 группы М и ВИЧ-2)	-	-	-
Т-клеточный лимфотропный вирус человека, тип I (ТЛВЧ-I)	-	-	-
Т-клеточный лимфотропный вирус человека, тип II (ТЛВЧ-II)	-	-	-
Вирус гриппа А	-	-	-
Вирус варицелла зостер (ВВЗ)	-	-	-

Образцы плазмы, полученные от пациентов с инфекциями, приведенными в Табл. 19, тестировали в отсутствие или в присутствии ВГА и парвовируса В19, внесенных в концентрации примерно $3 \times \text{LoD}$ для ВГА и $5 \times \text{LLOQ}$ для парвовируса В19 теста **cobas® DPX**. Нерезактивные результаты были получены в тесте **cobas® DPX** для всех образцов, в которые не вносили ВГА или парвовирус В19. Реактивные результаты были получены в тесте **cobas® DPX** для всех образцов, в которые вносили ВГА или парвовирус В19. Кроме того, средний $\log_{10}$ титра каждого образца, содержащего парвовирус В19 и потенциально кросс-реактивные микроорганизмы, не отличался более чем на $\pm 0,5 \log_{10}$ от среднего $\log_{10}$ титра соответствующего контроля. Данные заболевания не вызывали интерференции в тесте **cobas® DPX**.

Табл. 19 Образцы от пациентов с клинически подтвержденным заболеванием, тестируемые для определения аналитической специфичности

Заболевание		
Аденовирус типа 5	Вирус гепатита С	Т-клеточный лимфотропный вирус человека, тип I
Цитомегаловирус	Вирус гепатита Е	Т-клеточный лимфотропный вирус человека, тип II
Вирус Денге	Вирус простого герпеса типа 1	Вирус Западного Нила
Вирус Эпштейна – Барр	Вирус простого герпеса типа 2	-
Вирус гепатита В	Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-1 группы М)	-

Аналитическая специфичность: интерферирующие вещества

Эндогенные интерферирующие вещества

Образцы плазмы с аномально повышенными уровнями триглицеридов (до 33 г/л), гемоглобина (до 2 г/л), непрямого билирубина (до 0,2 г/л), прямого билирубина (до 0,2 г/л), альбумина (до 60 г/л) или человеческой ДНК (до 1,8 мг/л) тестировали в отсутствие и в присутствии ВГА или парвовируса В19, внесенных в концентрации примерно $3 \times \text{LoD}$ для ВГА и $5 \times \text{LLOQ}$ для парвовируса В19 теста **cobas® DPX**. Было показано, что тестируемые эндогенные вещества не оказывали интерферирующего влияния на чувствительность, показатели количественного анализа и специфичность теста **cobas® DPX**.

Экзогенные интерферирующие вещества

Образцы нормальной вирус-негативной человеческой плазмы с ЭДТА, содержащие аномально повышенные концентрации лекарственных препаратов (Табл. 20), тестировали в отсутствие и в присутствии ВГА и парвовируса В19, внесенных в концентрации $3 \times \text{LoD}$ для ВГА и $5 \times \text{LLOQ}$ для парвовируса В19 теста **cobas® DPX**. Данные экзогенные вещества не оказывали интерферирующего влияния на чувствительность, показатели количественного анализа и специфичность теста **cobas® DPX**.

Табл. 20 Клинические образцы, тестируемые с лекарственными препаратами

Название исследуемого лекарственного препарата	Концентрация
Ацетаминофен	1324 мкмоль/л
Ацетилсалициловая кислота	3620 мкмоль/л
Аскорбиновая кислота	342 мкмоль/л
Аторвастатин	600 мкг-экв/л
Флуоксетин	11,2 мкмоль/л
Ибупрофен	2425 мкмоль/л
Лоратадин	0,78 мкмоль/л
Надолол	3,88 мкмоль/л
Напроксен	2170 мкмоль/л
Пароксетин	3,04 мкмоль/л
Фенилэфрин HCL	491 мкмоль/л
Сертралин	1,96 мкмоль/л

Корреляция

Сравнительные испытания теста cobas® DPX и теста cobas® TaqScreen DPX

Сравнительные испытания тестов cobas® DPX и cobas® TaqScreen DPX проводили методом параллельного тестирования 84 образцов плазмы, позитивных в NAT по ВГА, 100 образцов, позитивных в NAT по парвовирусу В19, и 100 образцов, негативных по ВГА и парвовирусу В19.

При тестировании негативных образцов специфичность составила 100 %, в обоих тестах были получены 100 нереактивных результатов для 100 образцов.

При тестировании ВГА-положительных образцов тесты cobas® DPX и cobas® TaqScreen DPX дали согласованные результаты в 84 из 84 образцов (Табл. 21). Полученные результаты свидетельствуют о 100%-ной согласованности положительных результатов тестов.

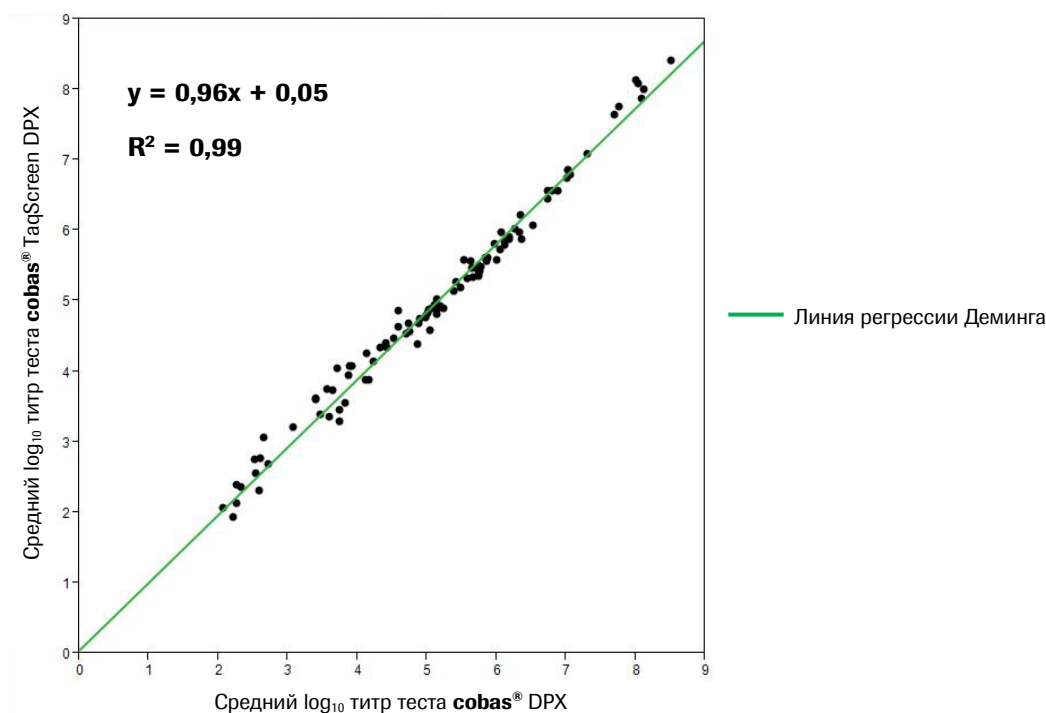
Табл. 21 Корреляция при тестировании ВГА-положительных/негативных образцов

Методы		Результаты выявления ВГА	
cobas® TaqScreen DPX	cobas® DPX	Положительные образцы	Негативные образцы
Нереактивный	Нереактивный	0	100
Реактивный	Нереактивный	0	0
Нереактивный	Реактивный	0	0
Реактивный	Реактивный	84	0
Всего		84	100
Тест Мак-Немара, значение p (двусторонний, $\alpha = 0,05$)		1,00	1,00

Содержащие парвовирус В19 образцы тестировали параллельно в тесте cobas® DPX и в тесте cobas® TaqScreen DPX. Для полученных результатов был проведен регрессионный анализ методом Деминга. Среднее отклонение значений концентраций для тестируемых образцов в двух тестах составило 0,15 log₁₀. Кроме того, в диапазоне концентраций 1,0E+03–1,0E+06 МЕ/мл среднее отклонение титра в двух тестах составило 0,14 log₁₀.

Результаты анализа методом регрессии Деминга приведены на Рис. 5.

Рис. 5 Регрессионный анализ результатов тестов **cobas® DPX** и **cobas® TaqScreen DPX** для 100 образцов, содержащих парвовирус B19



Системные ошибки

Частоту системной ошибки для теста **cobas® DPX** определяли при тестировании в 100 повторах образцов плазмы с ЭДТА, в которую вносили ВГА и парвовирус B19. Данные образцы тестировали при концентрации мишени, равной примерно $3 \times \text{LoD}$ в пулах по одному образцу (неразведенными). Тестирование проводили в системе **cobas® 8800** с прибором **cobas p 680** (раскапывание и пулирование).

Полученные результаты показали, что все повторы дали реактивный по парвовирусу B19 результат, то есть частота системной ошибки составила 0 %. Нижняя граница двустороннего 95 %-го доверительного интервала была равна 0 %, верхняя — 3,62 % [0 %: 3,62 %].

Полученные результаты показали, что 99 из 100 повторов дали реактивный по ВГА результат, то есть частота системной ошибки составила 1 %. Нижняя граница двустороннего 95 %-го доверительного интервала была равна 0 %, верхняя — 5,45 % [0 %: 5,45 %].

Перекрестная контаминация

Частоту перекрестной контаминации в тесте **cobas® DPX** определяли путем тестирования 239 повторов буферного отрицательного контроля и 223 повторов высокотитражного образца, содержащего парвовирус B19 в концентрации $1,00\text{E}+08$ МЕ/мл. Исследование проводили в системе **cobas® 8800**. Всего было проведено пять постановок, в которых положительные и отрицательные образцы были расставлены в шахматном порядке.

Все 239 повторов буферного отрицательного контроля дали нереактивный результат, то есть частота перекрестной контаминации составила 0 %. Нижняя граница двустороннего 95 %-го доверительного интервала была равна 0 %, верхняя — 1,53 % [0 %: 1,53 %].

Клинические испытания теста

Воспроизводимость

Воспроизводимость теста **cobas® DPX** определяли путем тестирования панели из 16 образцов. Панель содержала два образца плазмы, негативной по ВГА и с концентрацией парвовируса В19 меньше нижнего предела количественного определения (LLOQ), а также 14 положительных образцов плазмы: по два образца, положительных по ВГА в каждой из 3-х концентраций (приблизительно $0,5 \times$, $1,0 \times$ и $3,0 \times$ LoD теста **cobas® DPX** для детекции ВГА), и по два образца с парвовирусом В19 в 4-х различных концентрациях (от 10^3 до 10^6 МЕ/мл).

В каждом из трех центров исследования теста **cobas® DPX** операторы выполняли тестирование в течение пяти дней с использованием 3-х лотов набора реагентов **cobas® DPX**, чтобы получить по две валидные постановки за каждый день. Каждую концентрацию тестировали в двух повторах для того, чтобы получить результаты до 180 тестов для каждого вируса, содержащегося в образцах панели: в каждой из трех концентраций ВГА и в каждой из четырех концентраций парвовируса В19.

В отношении ВГА все валидные постановки и результаты тестов анализировались путем расчета процента реактивных результатов теста для каждого образца панели и процента нереактивных результатов теста для отрицательного контроля панели (Табл. 22). Результаты исследования продемонстрировали, что результаты теста **cobas® DPX** воспроизводимы для всех оцениваемых переменных (лот, исследовательский центр/прибор, день, постановка, результаты внутри постановки) при тестировании каждой из трех различных концентраций ВГА.

Табл. 22 Результаты тестов на ВГА, обобщенные по категориям: исследовательский центр/прибор, лот, день и постановка (положительные образцы панели)

				Количество реактивных тестов / общее количество валидных результатов											
Концентрация ВГА	Средний Ct	CO Ct	KB% Ct	Лот			Лаборатория/прибор			День			Постановка		
				ИД	Реактивные/валидные	%	ИД	Реактивные/валидные	%	ИД	Реактивные/валидные	%	ИД	Реактивные/валидные	%
0,5 × LoD	37,50	0,799	2,1	1	53/60	88,3	1	48/60	80,0	1	30/36	83,3	1	76/90	84,4
				2	48/60	80,0	2	51/60	85,0	2	33/36	91,7	2	77/90	85,6
				3	52/60	86,7	3	54/60	90,0	3	31/36	86,1			
										4	26/36	72,2			
										5	33/36	91,7			
1,0 × LoD	37,04	0,763	2,1	1	57/59	96,6	1	55/60	91,7	1	34/36	94,4	1	88/89	98,9
				2	58/60	96,7	2	59/59	100,0	2	35/35	100,0	2	85/90	94,4
				3	58/60	96,7	3	59/60	98,3	3	36/36	100,0			
										4	34/36	94,4			
										5	34/36	94,4			
3,0 × LoD	35,95	0,725	2,0	1	60/60	100,0	1	60/60	100,0	1	36/36	100,0	1	90/90	100,0
				2	60/60	100,0	2	60/60	100,0	2	36/36	100,0	2	90/90	100,0
				3	60/60	100,0	3	60/60	100,0	3	36/36	100,0			
										4	36/36	100,0			
										5	36/36	100,0			

Примечание. Ct = пороговый цикл.

В отношении парвовируса В19 все валидные постановки и результаты тестов анализировались путем расчета стандартного отклонения для каждой переменной (лот, исследовательский центр/прибор, день, постановка, результаты внутри постановки) и общего стандартного отклонения показателя воспроизводимости для каждой концентрации В19 (Табл. 23). Результаты исследования продемонстрировали, что результаты теста cobas® DPX воспроизводимы для всех оцениваемых переменных (лот, исследовательский центр/прибор, день, постановка, результаты внутри постановки) при тестировании каждой из четырех различных концентраций парвовируса В19.

Табл. 23 Результаты тестов на парвовирус В19, обобщенные по категориям: исследовательский центр/прибор, лот, день и постановка (положительные образцы панели)

Ожидаемая концентрация ДНК В19 (log ₁₀ МЕ/мл)	Ожидаемая концентрация ДНК В19 (МЕ/мл)	Среднее концентрации ДНК В19 (log ₁₀ МЕ/мл)	Лог-нормальное среднее концентрации ДНК В19 (МЕ/мл) ^a	Кол-во тестов ^b	Лот	Центр/прибор	День	Постановка	Внутри постановки	Общее стандартное отклонение log ₁₀ концентрации ДНК В19
3,000	1000	3,09	1252	176	0,0444	0,0092	0,0000	0,0000	0,0559	0,072
4,000	10 000	4,04	11 008	178	0,0348	0,0141	0,0248	0,0135	0,0543	0,072
5,000	100 000	5,04	111 745	179	0,0305	0,0221	0,0000	0,0265	0,0663	0,081
6,000	1 000 000	6,08	1 216 471	179	0,0248	0,0181	0,0166	0,0141	0,0718	0,081

^a Логнормальное среднее = $10^{\hat{\mu} + \hat{\sigma}^2 \cdot 1.151}$, где среднее значение и стандартное отклонение прогнозируются по модели со случайными эффектами.

^b Количество тестов с детектируемой вирусной нагрузкой. Было запланировано получение данных по крайней мере для 180 тестов/образцов панели. Тесты с невалидными результатами не выполнялись повторно.

Дополнительная информация

Основные характеристики теста

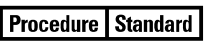
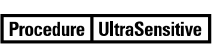
Тип образцов	Плазма *
Необходимый объем образца	1000 мкл
Обрабатываемый объем образца	850 мкл

* У пробирок, используемых для тестирования, может быть иной мертвый объем, и требуемый минимальный объем может быть больше или меньше. Обратитесь к местному представителю сервисной службы Roche за дополнительной информацией.

Условные обозначения

Приведенные ниже символы применяются для маркировки продукции для ПЦР-диагностики компании Roche.

Табл. 24 Символы, применяемые для маркировки продукции для ПЦР-диагностики компании Roche

 Age/DOB	Возраст или дата рождения		Устройство не для исследования по месту лечения		ME КС на ПЦР-реакцию; при подсчете результатов значения представляйте в виде Международных единиц (МЕ) КС на ПЦР-реакцию.
	Вспомогательное программное обеспечение		Устройство не предназначено для самостоятельного тестирования		Серийный номер
	Заданный диапазон (копий/мл)		Дистрибьютер (Примечание. Соответствующая страна/регион могут быть указаны под символом.)		Лаборатория
	Заданный диапазон (МЕ/мл)		Не использовать повторно		Стандартная процедура
	Авторизованный представитель в Европейском сообществе		Женский		Стерилизовано этиленоксидом
	Список штрихкодов		Только для испытаний IVD		Хранить в темноте
	Номер лота		Глобальный номер товара		Температурный диапазон
	Биологическая опасность		Импортер		Файл с описанием теста
	Номер по каталогу		Медицинское устройство для диагностики <i>in vitro</i>		Этой стороной вверх
	СЕ маркировка соответствия требованиям ЕС — это изделие соответствует применимым требованиям для выдачи сертификата в ЕС на медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Нижний предел заданного диапазона		Сверхчувствительная процедура
	Дата сбора		Мужской		Уникальный идентификатор устройства
	Обратитесь к инструкции		Производитель		Верхний предел заданного диапазона
	Рассчитано на <n> тестов		Отрицательный контроль		Линия заполнения мочой
	Состав набора		Нестерильно		Только для США. Федеральное законодательство ограничивает право продажи данного устройства терапевтом или по его рецепту.
	Контроль		Ф. И. О. пациента		Использовать до
	Дата производства		Номер пациента		
	Устройство для исследования по месту лечения		Оторвите здесь		
	Устройство для самостоятельного тестирования		Положительный контроль		
			Копии количественного стандарта (КС) на ПЦР-реакцию; при подсчете результатов значения представляйте в виде копий КС на ПЦР-реакцию.		

Техническая поддержка

Для получения технической поддержки (помощи) обратитесь в местный филиал в вашем регионе:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Производитель и импортёр

Табл. 25 Производитель и импортёр



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

Сделано в США



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 68305 Mannheim, Germany

Товарные знаки и патенты

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

Авторское право

© Roche Molecular Systems, Inc., 2023.



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Str. 116
 68305 Mannheim
 Germany



Литература

1. Blümel J, Burger R, Drosten C, et al. Parvovirus B19-Revised. *Transfus Med Hemother*. 2010;37:339-50.
2. Molenaar-de Backer MW, Lukashov VV, van Binnendijk RS, Boot HJ, Zaaijer HL. Global co-existence of two evolutionary lineages of parvovirus B19 1a, different in genome-wide synonymous positions. *PloS One*. 2012;7:e43206.
3. Servant A, Laperche S, Lallemand F, et al. Genetic diversity within human erythroviruses: identification of three genotypes. *J Virol*. 2002;76:9124-34.
4. Heegaard ED, Brown KE. Human parvovirus B19. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:485-505.
5. Vyse AJ, Andrews NJ, Hesketh LM, Pebody R. The burden of parvovirus B19 infection in women of childbearing age in England and Wales. *Epidemiol Infect*. 2007;135:1354-62.
6. Röhrer C, Gärtner B, Sauerbrei A, et al. Seroprevalence of parvovirus B19 in the German population. *Epidemiol Infect*. 2008;136:1564-75.
7. Valentin MN, Cohen PJ. Pediatric parvovirus B19: spectrum of clinical manifestations. *Cutis*. 2013;92:179-84.
8. Young NS, Brown KE. Parvovirus B19. *N Engl J Med*. 2004;350:586-97.
9. Oiwa H, Shimada T, Hashimoto M, et al. Clinical findings in parvovirus B19 infection in 30 adult patients in Kyoto. *Mod Rheumatol*. 2011;21:24-31.
10. Waza K, Inoue K, Matsumura S. Symptoms associated with parvovirus B19 infection in adults: a pilot study. *Intern Med*. 2007;46:1975-8.
11. Lassen J, Jensen AK, Bager P, et al. Parvovirus B19 infection in the first trimester of pregnancy and risk of fetal loss: a population-based case-control study. *Am J Epidemiol*. 2012;176:803-7.
12. Lamont RF, Sobel JD, Vaisbuch E, et al. Parvovirus B19 infection in human pregnancy. *BJOG*. 2011;118:175-86.
13. Sarfraz AA, Samuelsen SO, Bruu AL, Jenum PA, Eskild A. Maternal human parvovirus B19 infection and the risk of fetal death and low birthweight: a case-control study within 35 940 pregnant women. *BJOG*. 2009;116:1492-8.
14. Kleinman SH, Glynn SA, Lee TH, et al. Prevalence and quantitation of parvovirus B19 DNA levels in blood donors with a sensitive polymerase chain reaction screening assay. *Transfusion*. 2007;47:1756-64.
15. Thomas I, Di Giambattista M, Gérard C, et al. Prevalence of human erythrovirus B19 DNA in healthy Belgian blood donors and correlation with specific antibodies against structural and non-structural viral proteins. *Vox Sang*. 2003;84:300-7.
16. Candotti D, Etiz N, Parsyan A, Allain JP. Identification and characterization of persistent human erythrovirus infection in blood donor samples. *J Virol*. 2004;78:12169-78.
17. Plentz A, Hahn J, Knöll A, et al. Exposure of hematologic patients to parvovirus B19 as a contaminant of blood cell preparations and blood products. *Transfusion*. 2005;45:1811-5.
18. Lee TH, Kleinman SH, Wen L, et al. Distribution of parvovirus B19 DNA in blood compartments and persistence of virus in blood donors. *Transfusion*. 2011;51:1896-908.
19. Koppelman MH, Cuypers HT, Emrich T, Zaaijer HL. Quantitative real-time detection of parvovirus B19 DNA in plasma. *Transfusion*. 2004;44:97-103.
20. Kleinman SH, Glynn SA, Lee TH, et al. A linked donor-recipient study to evaluate parvovirus B19 transmission by blood component transfusion. *Blood*. 2009;114:3677-83.

21. Wu C-G, Mason B, Jong J, et al. Parvovirus B19 transmission by a high-purity factor VIII concentrate. *Transfusion*. 2005;45:1003-10.
22. Saldanha J, Minor P. Detection of human parvovirus B19 DNA in plasma pools and blood products derived from these pools: implications for efficiency and consistency of removal of B19 DNA during manufacture. *Br J Haematol*. 1996;93:714-9.
23. Eis-Hübinger AM, Sasowski U, Brackmann HH, et al. Parvovirus B19 DNA is frequently present in recombinant coagulation factor VIII products. *Thromb Haemost*. 1996;76:1120.
24. Schmidt I, Blümel J, Seitz H, Willkommen H, Löwer J. Parvovirus B19 DNA in plasma pools and plasma derivatives. *Vox Sang*. 2001;81:228-35.
25. Mortimer PP, Luban NL, Kelleher JF, Cohen BJ. Transmission of serum parvovirus-like virus by clotting-factor concentrates. *Lancet*. 1983;2:482-4.
26. Azzi A, Ciappi S, Zakvrzewska K, et al. Human parvovirus B19 infection in hemophiliacs first infused with two high-purity, virally attenuated factor VIII concentrates. *Am J Hematol*. 1992;39:228-30.
27. Blümel J, Schmidt I, Effenberger W, et al. Parvovirus B19 transmission by heat-treated clotting factor concentrates. *Transfusion*. 2002;42:1473-81.
28. Koenigbauer UF, Eastlund T, Day JW. Clinical illness due to parvovirus B19 infection after infusion of solvent/detergent-treated pooled plasma. *Transfusion*. 2000;40:1203-6.
29. Santagostino E, Mannucci PM, Gringeri A, et al. Transmission of parvovirus B19 by coagulation factor concentrates exposed to 100 degrees C heat after lyophilization. *Transfusion*. 1997;37:517-22.
30. Geng Y, Wu CG, Bhattacharyya SP, et al. Parvovirus B19 DNA in Factor VIII concentrates: effects of manufacturing procedures and B19 screening by nucleic acid testing. *Transfusion*. 2007;47:883-9.
31. Martin A, Lemon SM. Hepatitis A virus: from discovery to vaccines. *Hepatology*. 2006;43:S164-72.
32. Matheny SC, Kingery JE. Hepatitis A. *Am Fam Physician*. 2012;86:1027-34.
33. Keffe EB. Hepatitis A and B superimposed on chronic liver disease: vaccine-preventable diseases. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2006;117:227-37.
34. Vaughan G, Goncalves Rossi LM, Forbi JC, et al. Hepatitis A virus: host interactions, molecular epidemiology and evolution. *Infect Genet Evol*. 2014;21:227-43.
35. Perkins HA, Busch MP. Transfusion-associated infections: 50 years of relentless challenges and remarkable progress. *Transfusion*. 2010;50:2080-99.
36. Gowland P, Fontana S, Niederhauser C, Taleghani BM. Molecular and serologic tracing of a transfusion-transmitted hepatitis A virus. *Transfusion*. 2004;44:1555-61.
37. Diwan AH, Stubbs JR, Carnahan GE. Transmission of hepatitis A via WBC-reduced RBCs and FFP from a single donation. *Transfusion*. 2003;43:536-40.
38. Normann A, Jung C, Vallbracht A, Flehmig B. Time course of hepatitis A viremia and viral load in the blood of human hepatitis A patients. *J Med Virol*. 2004;72:10-6.
39. Soucie JM, Robertson BH, Bell BP, McCaustland KA, Evatt BL. Hepatitis A virus infections associated with clotting factor concentrate in the United States. *Transfusion*. 1998;38:573-9.
40. Chudy M, Budek I, Keller-Stanislawski B, et al. A new cluster of hepatitis A infection in hemophiliacs traced to a contaminated plasma pool. *J Med Virol*. 1999;57:91-9.

41. Kishore J, Sen M. Parvovirus B19-induced thrombocytopenia and anemia in a child with fatal fulminant hepatic failure coinfecting with hepatitis A and E viruses. *J Trop Pediatr*. 2009;55:335-7.
42. Ozçay F, Bikmaz YE, Canan O, Ozbek N. Hepatitis A and parvovirus B19 infections in an infant with fulminant hepatic failure. *Turk J Gastroenterol*. 2006;17:148-50.
43. Dwivedi M, Manocha H, Tiwari S, Tripathi G, Dhole TN. Coinfection of parvovirus b19 with other hepatitis viruses leading to fulminant hepatitis of unfavorable outcome in children. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:649-50.
44. Hughes JA, Fontaine MJ, Gonzalez CL, et al. Case report of a transfusion-associated hepatitis A infection. *Transfusion*. 2014;54:2202-6.
45. Jones S, Leighton K, Chapa J, et al. Prevalence of hepatitis A virus (HAV) and high-titer parvovirus B19 in recovered and source plasma donations. Poster SP395 presented at: ABB Annual Meeting and CTTXPO; 2013 October 12-15; Denver, CO. *Transfusion*. 2013;53(Suppl 2):211A.
46. Müller MM, Fraile MI, Hourfar MK, et al. Evaluation of two, commercial, multi-dye, nucleic acid amplification technology tests, for HBV/HCV/HIV-1/HIV-2 and B19V/HAV, for screening blood and plasma for further manufacture. *Vox Sang*. 2013;104:19-29.
47. U.S. Food and Drug Administration. Guidance for industry: nucleic acid testing (NAT) to reduce the possible risk of human parvovirus B19 transmission by plasma-derived products. Updated July 2009; Accessed: 09 September 2022. <https://www.fda.gov/files/vaccines%2C%20blood%20%26%20biologics/published/Guidance-for-Industry---Nucleic-Acid-Testing--to-Reduce-the-Possible-Risk-of-Parvovirus-B19-Transmission-by-Plasma-Derived-Products.pdf>.
48. Council of Europe. Human anti-D immunoglobulin (monograph 0557) (since 1/1/2004); Human anti-D immunoglobulin for intravenous administration (monograph 1527) (since 1/1/2004); Human plasma pooled and treated for virus inactivation (monograph 1646) (since 1/7/2004). In: *European Pharmacopoeia*. 6th Edition. Strasbourg, France: Council of Europe; 2011.
49. Council of Europe. Human plasma pooled and treated for virus inactivation (monograph 1646) (since 1/2011). In: *European Pharmacopoeia*. 6th Edition. Supplement 6.3. Strasbourg, France: Council of Europe; 2011.
50. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8.
51. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93.
52. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78.
53. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7.
54. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
55. Chosewood LC, Wilson DE, eds. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. US Department of Health and Human Services; 2009.
56. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*. 4th ed. M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2014.

Редакция документа

Сведения о редакции документа	
Doc Rev. 1.0 01/2023	Первая публикация.

С кратким отчетом по безопасности и эффективности можно ознакомиться по следующей ссылке:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Уполномоченный представитель
в Республике Беларусь:
ООО "Алмазмед"
220062, г.Минск, пр-т
Победителей, 141,
пом.9

cobas[®] HEV

Для диагностики *in vitro*

cobas[®] HEV – 192	P/N: 09040986190
cobas[®] HEV Control Kit	P/N: 09040889190
cobas[®] NHP Negative Control Kit	P/N: 09051554190
cobas omni MGP Reagent	P/N: 06997546190
cobas omni Specimen Diluent	P/N: 06997511190
cobas omni Lysis Reagent	P/N: 06997538190
cobas omni Wash Reagent	P/N: 06997503190

Содержание

Назначение	4
Описание теста.....	4
Реагенты и материалы	7
Реагенты и контроли теста cobas® HEV	7
Реагенты cobas omni для пробоподготовки	10
Хранение реагентов и правила работы с ними	11
Необходимые дополнительные материалы	12
Необходимое оборудование и программное обеспечение	12
Меры предосторожности и правила работы	13
Меры предосторожности	13
Обращение с реагентами	13
Надлежащая лабораторная практика	14
Сбор, транспортировка, хранение и пулирование образцов.....	14
Образцы от живых доноров	14
Инструкция по работе с набором	18
Автоматизированное раскапывание и пулирование образцов (опционально).....	18
Рекомендации по процедуре	18
Выполнение теста cobas® HEV	18
Результаты	19
Контроль качества и валидности результатов	19
Интерпретация результатов	19
Повторное тестирование индивидуальных образцов	20
Ограничения процедуры.....	20

Доклинические испытания теста 21

Основные характеристики набора — образцы от живых доноров.....	21
Предел обнаружения (LoD).....	21
Воспроизводимость	22
Верификация генотипов	23
Аналитическая специфичность.....	24
Аналитическая специфичность: интерферирующие вещества	25
Корреляция	26
Системные ошибки	26

Дополнительная информация 27

Основные характеристики теста	27
Условные обозначения	28
Техническая поддержка.....	29
Производитель и импортёр	29
Товарные знаки и патенты.....	29
Авторское право.....	29
Литература	30
Редакция документа.....	33

Назначение

Тест cobas® HEV для систем cobas® 6800 и cobas® 8800 является качественным *in vitro* тестом, основанным на амплификации нуклеиновых кислот, для прямого обнаружения РНК вируса гепатита Е (ВГЕ) (генотипы 1–4) в образцах человеческой плазмы.

Данный тест предназначен для скрининга РНК ВГЕ в образцах плазмы, полученных от индивидуальных доноров, включая доноров цельной крови, компонентов крови (эритроцитов, тромбоцитов, плазмы), а также других живых доноров. Скрининг образцов плазмы от всех доноров можно проводить на индивидуальных образцах. Для донаций цельной крови и компонентов крови образцы плазмы можно тестировать индивидуально или в пулах, составленных из аликвот индивидуальных образцов.

Данный тест не предназначен для тестирования образцов пуповинной крови.

Данный тест не предназначен для помощи при диагностике ВГЕ-инфекции.

Описание теста

Введение: скрининг крови на гемотрансмиссивные инфекции

Вирус гепатита Е (ВГЕ) — это небольшой безоболочечный РНК-содержащий вирус, принадлежащий к роду *Hepevirus* (семейство *Hepeviridae*) и являющийся широко распространенным патогеном человека.¹ Вирусная частица имеет икосаэдрическую форму и содержит внутри одноцепочечную геномную РНК положительной полярности длиной 7,2 кб.² Четыре основных генотипа ВГЕ, относящихся к одному серотипу, были выявлены у людей, а также у таких животных, как домашние свиньи, дикие кабаны, олени и грызуны.^{1, 3, 4}

Посредством молекулярной характеристики штаммов ВГЕ, циркулирующих среди людей и животных, были выделены четыре основных генотипа вируса.¹ Генотип 1, распространенный преимущественно в Азии, и генотип 2, встречающийся в Африке и Мексике, инфицируют только человека и передаются через контаминированную воду в развивающихся странах.^{1, 5} Генотипы 3 и 4 инфицируют человека, свиней и другие виды млекопитающих и вызывают спорадические случаи автохтонной ВГЕ-инфекции как в развивающихся, так и в развитых странах.⁶ Генотип 3 является единственным генотипом, вызывающим автохтонную инфекцию в США⁷, с ним же связано и большинство случаев инфицирования в Европе, Новой Зеландии и Северной Америке.^{1, 8–12} Генотипы 3 и 4 встречаются в Японии.¹ В Китае распространены генотипы ВГЕ 1, 3 и 4.¹ В Китае, Франции, Великобритании и Японии острый гепатит Е регистрируется чаще, чем гепатит А.¹

Основным механизмом передачи ВГЕ является фекально-оральный через контаминированную питьевую воду¹, хотя зафиксирована передача вируса при употреблении в пищу сырой или недостаточно термически обработанной свинины, трюхи, моллюсков, а также в результате контакта с инфицированными свиньями и другими дикими и домашними животными.^{7, 13–16} Полный спектр резервуаров ВГЕ в настоящее время не установлен.¹

Инфицирование ВГЕ обычно приводит к умеренному или клинически невыраженному самопрекращающемуся заболеванию длительностью от 4 до 6 недель.^{1, 8–11, 17, 18} Симптомы схожи с наблюдающимися при других вирусных гепатитах, особенно при гепатите А, и включают слабость, желтуху, подъем температуры, недомогание, тошноту, рвоту, анорексию и абдоминальные боли.¹ У пациентов часто наблюдаются повышение уровня аланиновой трансаминазы (~1500 МЕ/л) и желтуха.¹ В некоторых случаях ВГЕ-инфекция может протекать более тяжело и приводить к фульминантной печеночной недостаточности. Особенно это относится к беременным женщинам, среди которых смертность может составлять от 10 до 25 %, к новорожденным и детям до 2 лет, а также к пациентам с сопутствующими заболеваниями печени (например, циррозом) и к иммунокомпрометированным

лицам.^{1,19–23} Ежегодно в мире регистрируется более 3 миллионов случаев острого гепатита Е и около 70 000 случаев ассоциированной с ним гибели.²⁴ Средние показатели смертности варьируются от 0,2 % до 4,0 %.¹ Большинство смертей, ассоциированных с инфицированием ВГЕ генотипа 3 (ВГЕ 3), зафиксировано в результате острого или подострого поражения печени у пациентов с предшествующим заболеванием печени, например алкогольной природы.^{1, 22, 25, 26}

ВГЕ 3 способен вызывать хроническую инфекцию, в том числе у иммунокомпрометированных лиц. В этой группе пациентов до 60 % случаев заражения приводят к хронизации инфекции, в 10 % случаев из которых развивается цирроз.¹ Хроническая инфекция определяется как персистенция РНК ВГЕ в сыворотке или стуле более 6 месяцев.¹ Чаще всего хроническая инфекция наблюдается у реципиентов трансплантации солидных органов, но описаны случаи у пациентов с гематологическими нарушениями, получающих гемотрансфузии и проходящих химиотерапию, а также у лиц с ВИЧ-инфекцией.^{27–33} Для генотипов ВГЕ 1 и ВГЕ 2 хроническая инфекция не описана.¹

ВГЕ-инфекция может быть также ассоциирована с неврологическими проявлениями, включая синдром Гийена — Барре, паралич Белла, острый поперечный миелит, острый менингоэнцефалит, атаксию и энцефалит; неврологические симптомы обычно исчезают после элиминации вируса.¹ Мембранопролиферативный и мембранный гломерулонефрит, острый панкреатит и тяжелая тромбоцитопения также описаны при острой ВГЕ-инфекции, хотя патогенез и этиологическая связь с инфекцией не установлены.¹ Показано, что рибавирин эффективен для терапии тяжелой острой инфекции ВГЕ 3, и реципиентам трансплантации с хронической ВГЕ-инфекцией обычно назначают снижение иммуносупрессии (особенно препараты, подавляющие Т-клетки), интерферон-α и рибавирин.¹

Обоснование тестирования нуклеиновых кислот (NAT)

Как и другие вызывающие гепатит вирусы, ВГЕ может передаваться при переливании крови или ее продуктов. Случаи посттрансфузионного гепатита Е описаны во многих странах.^{1, 33–38} Частота серопозитивности по ВГЕ среди доноров крови в мире варьируется в пределах 0,4–20,6 %.^{39–47} Бессимптомное течение ВГЕ-инфекции случается часто, и вследствие широкой распространенности вируса многие доноры крови могут быть инфицированы и передать вирус реципиентам. Например, недавно проведенное исследование среди британских доноров крови показало, что 11 % донорских образцов сыворотки крови были реактивными по анти-ВГЕ IgG, что указывает на перенесенную инфекцию, а 0,7 % образцов были реактивными по анти-ВГЕ IgM, что свидетельствует об острой инфекции.⁴⁵ Кроме того, 0,7 % минипулов плазмы английских доноров содержали РНК ВГЕ.⁴⁶ Исследование, проведенное среди китайских доноров крови, показало схожие результаты: 32,6 % образцов сыворотки крови доноров были реактивными по IgG, 0,94 % образцов были реактивными по IgM и 0,07 % донаций содержали ВГЕ.⁴⁷ Глобальный анализ пулов плазмы для фракционирования показал, что 10 % пулов оказались положительными по РНК ВГЕ.^{47, 48}

Принципы теста

Тест cobas® HEV является качественным ПЦР-тестом для детекции РНК ВГЕ, выполняемым в системе cobas® 6800 или cobas® 8800. Тест cobas® HEV позволяет одновременно выявлять РНК ВГЕ и осуществлять внутренний контроль в одной постановке в инфицированной индивидуальной донации или пуле образцов плазмы из индивидуальных донаций.

Процедуры, лежащие в основе теста

Тест **cobas® HEV** основан на методе ПЦР в реальном времени с полностью автоматизированной пробоподготовкой (выделением и очисткой нуклеиновых кислот) с последующей ПЦР-амплификацией и детекцией. Системы **cobas® 6800/8800** состоят из модуля подачи образцов, модуля переноса, модуля обработки и аналитического модуля. Автоматизированное управление данными осуществляется в программе **cobas® 6800/8800**, которая определяет результаты всех тестов как нереактивные, реактивные или невалидные. Результаты можно просматривать непосредственно на экране системы, распечатать в виде отчета либо отправить в лабораторную информационную систему (ЛИС) или другую систему управления результатами.

Образцы можно тестировать индивидуально или в пулах, состоящих из нескольких образцов. Прибор **cobas p 680 instrument** или прибор **Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD** с программным обеспечением **cobas® Synergy** могут применяться на преаналитическом этапе для пулирования образцов.

Нуклеиновые кислоты образца и вносимых в образец молекул защищенной РНК (Armored RNA) внутреннего контроля (ВК) (используемого для контроля процесса пробоподготовки и амплификации/детекции) выделяются одновременно. Также в тесте используются два контроля: положительный и отрицательный. Вирусные нуклеиновые кислоты освобождаются в результате внесения в образец протеазы и лизирующего реагента. Освободившаяся нуклеиновая кислота связывается с кремниевой поверхностью внесенных в образец магнитных стеклочастиц. Несвязавшиеся вещества и примеси, например денатурировавшие белки, клеточный дебрис, потенциальные ингибиторы ПЦР (такие как гемоглобин), удаляются на последующих этапах отмывки, а очищенная нуклеиновая кислота элюируется со стеклочастиц буфером для элюции при повышенных температурах.

Избирательная амплификация нуклеиновых кислот-мишеней из донорского образца достигается благодаря использованию прямого и обратного праймеров, специфичных к вирусу, подобранных к высококонсервативным участкам вирусной нуклеиновой кислоты. Термостабильный фермент ДНК-полимераза используется для обратной транскрипции и амплификации. В состав мастермикса входит трифосфат дезоксиуридина (dUTP) вместо трифосфата дезокситимидина (dTTP), который встраивается во вновь синтезируемые цепи ДНК (ампликон).^{49–51} Любой контаминирующий ампликон из предыдущей постановки ПЦР разрушается ферментом AmpErase [урацил-N-гликозилаза], входящим в состав мастермикса для ПЦР, во время нагревания на первом этапе термоциклирования. Однако вновь синтезируемые ампликоны не разрушаются, поскольку фермент AmpErase инактивируется при нагревании выше 55 °С.

Мастермикс теста **cobas® HEV** содержит зонды для детекции, специфичные к последовательностям ВГЕ и ВК. Каждый зонд, специфичный для ВГЕ и ВК, мечен одним из двух флуоресцентных красителей, действующих как репортерный краситель. Каждый зонд также несет второй краситель, который является гасителем. Сигналы от двух репортерных красителей измеряются при специфичной для каждого красителя длине волны, что обеспечивает одновременную детекцию и дифференциацию амплифицированных мишеней ВГЕ и ВК.^{52, 53} Флуоресцентный сигнал интактного зонда подавляется гасителем. Во время этапа амплификации ПЦР зонды гибридизуются со специфичными одноцепочечными молекулами ДНК и разрушаются вследствие 5'-3' нуклеазной активности ДНК-полимеразы. Это приводит к разделению репортерного и гасящего красителей и, как следствие, генерированию флуоресцентного сигнала. На каждом цикле ПЦР увеличивается количество разрушенных зондов и происходит кумулятивный рост сигнала от репортерного красителя. Поскольку сигналы от двух специфичных репортерных красителей измеряются при разных длинах волн, происходит одновременная детекция и дифференциация амплифицированных мишеней ВГЕ и ВК.

Реагенты и материалы

Реагенты и контроли теста cobas® HEV

Все неоткрытые реагенты и контроли должны храниться как рекомендовано в Табл. 1 до Табл. 4.

Табл. 1 Тест cobas® HEV

(HEV)

Хранить при температуре 2–8 °C

Кассета на 192 теста (P/N 09040986190)

Компоненты набора	Состав реагента	Количество в наборе 192 тестов
Раствор протеазы (PASE)	Трис буфер, < 0,05 % ЭДТА, хлорид кальция, ацетат кальция, 8 % (м/о) протеаза, глицерин EUN210: Паспорт безопасности предоставляется по запросу. EUN208: Содержит субтилизин, полученный из бактерий <i>Bacillus subtilis</i> . Может вызывать аллергическую реакцию.	22,3 мл
Внутренний контроль (IC)	Трис буфер, < 0,05 % ЭДТА, < 0,001 % защищенная РНК (Armored RNA) внутреннего контроля (неинфекционная РНК, заключенная в бактериофаг MS2), < 0,002 % поли гА РНК (синтетическая), < 0,1 % азид натрия	21,2 мл
Буфер для элюции (EB)	Трис буфер, 0,2 % метил-4-гидроксibenзоат	21,2 мл
Мастермикс реагент 1 (MMX-R1)	Ацетат марганца, гидроксид калия, < 0,1 % азид натрия	7,5 мл
HEV мастермикс реагент 2 (HEV MMX-R2)	Трициновый буфер, ацетат калия, глицерин, 18 % диметилсульфоксид, Tween 20, ЭДТА, < 0,06 % dATP, dGTP, dCTP, < 0,14 % dUTP, < 0,01 % прямые и обратные праймеры для ВГЕ и внутреннего контроля, < 0,01 % меченые флуоресцентным красителем зонды для ВГЕ, < 0,01 % меченый флуоресцентным красителем зонд для внутреннего контроля, < 0,01 % олигонуклеотидный аптамер, < 0,01 % Z05D ДНК-полимераза, < 0,01 % фермент AmpErase (урацил-N-гликозилаза) (бактериальный), < 0,1 % азид натрия	9,7 мл

Табл. 2 Набор контролей cobas® HEV Control Kit**(HEV (+) C)**

Хранить при 2–8 °C

(P/N 09040889190)

Компоненты набора	Состав реагента	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения *
Положительный контроль HEV (HEV (+) C)	< 0,001 % синтетическая (защищенная) РНК ВГЕ в оболочечном белке бактериофага MS2, нормальная человеческая плазма, негативная по РНК ВГЕ при тестировании методом ПЦР 0,1 % консервант ProClin® 300 **	16 мл (16 × 1 мл)	  ВНИМАНИЕ H317: При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию. H412: Вредно для водной флоры и фауны с долгосрочными последствиями. P261: Избегать вдыхания тумана или паров. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Использовать защитные перчатки. P333 + P313: При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться за медицинской помощью. P362 + P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед использованием. P501: Утилизировать содержимое/контейнер в специализированном центре. 55965-84-9 Реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-2Н-изотиазол-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).

* Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

** Опасное для здоровья вещество.

Табл. 3 Набор отрицательных контролей cobas® NHP Negative Control Kit**(NHP-NC)**

Хранить при 2–8 °C

(P/N 09051554190)

Компоненты набора	Состав реагента	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения *
Нормальная плазма человека — отрицательный контроль (NHP-NC)	Нормальная человеческая плазма, негативная по РНК ВГЕ при тестировании методом ПЦР < 0,1 % консервант ProClin® 300 **	16 мл (16 × 1 мл)	  ВНИМАНИЕ H317: При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию. P261: Избегать вдыхания тумана или паров. P272: Не выносить загрязненную одежду с рабочего места. P280: Использовать защитные перчатки. P333 + P313: При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться за медицинской помощью. P362 + P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед использованием. P501: Утилизировать содержимое/контейнер в специализированном центре. 55965-84-9 Реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-2Н-изотиазол-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).

* Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

** Опасное для здоровья вещество.

Реагенты cobas omni для пробоподготовки

Табл. 4 Реагенты cobas omni для пробоподготовки *

Реагенты	Состав реагента	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения **
Реагент cobas omni MGP Reagent (MGP) Хранить при 2–8 °C (P/N 06997546190)	Магнитные стеклочастицы, трис буфер, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат, < 0,1 % азид натрия	480 тестов	Неприменимо
Дилуент для образцов cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Хранить при 2–8 °C (P/N 06997511190)	Трис буфер, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат, < 0,1 % азид натрия	4 × 875 мл	Неприменимо
Лизирующий реагент cobas omni Lysis Reagent (LYS) Хранить при 2–8 °C (P/N 06997538190)	42,56 % (м/м) гуанидин тиоцианат ***, 5 % (м/о) полидоканол ***, 2 % (м/о) дитиотреитол, дигидрат цитрата натрия	4 × 875 мл	 ОПАСНО H302: Вредно при проглатывании. H314: Вызывает серьезные ожоги кожи и повреждения глаз. H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями. EUN032: При контакте с кислотой выделяет особо токсичный газ. EUN071: Коррозионное воздействие на дыхательные пути. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Использовать перчатки, спецодежду и средства для защиты глаз/лица/органов слуха. P303 + P361 + P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой. P304 + P340 + P310: ПРИ ВДЫХАНИИ: вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту. P305 + P351 + P338 + P310: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту. P391: Ликвидировать просыпания/проливы/утечки. 593-84-0 Гуанидин тиоцианат 9002-92-0 Полидоканол 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-димеркаптобутан-2,3-диол
Промывочный реагент cobas omni Wash Reagent (WASH) Хранить при 15–30 °C (P/N 06997503190)	Дигидрат цитрата натрия, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат	4,2 л	Неприменимо

* Данные реагенты не входят в набор cobas® HEV. См. перечень необходимых дополнительных материалов (Табл. 7).

** Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

*** Опасное для здоровья вещество.

Хранение реагентов и правила работы с ними

Условия хранения реагентов и работы с ними приведены в Табл. 5 и Табл. 6.

Когда реагенты не загружены в системы **cobas® 6800/8800**, они должны храниться при температурах, указанных в Табл. 5.

Табл. 5 Хранение реагентов (когда реагенты не загружены в систему)

Реагент	Температура хранения
cobas® HEV – 192	2–8 °C
cobas® HEV Control Kit	2–8 °C
cobas® NHP Negative Control Kit	2–8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2–8 °C
cobas omni MGP Reagent	2–8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2–8 °C
cobas omni Wash Reagent	15–30 °C

Когда реагенты загружены в системы **cobas® 6800/8800**, они хранятся при необходимых температурах и их сроки годности отслеживаются системой. Система допускает использование реагентов, только если они соответствуют всем условиям, приведенным в Табл. 6. Система автоматически блокирует использование реагентов с истекшим сроком годности. Табл. 6 содержит сведения об условиях использования реагентов в соответствии с требованиями систем **cobas® 6800/8800**.

Табл. 6 Требования систем **cobas® 6800/8800** к срокам хранения реагентов

Реагент	Срок годности набора	Стабильность открытого набора	Число постановок, для которых может использоваться набор	Стабильность после загрузки (общее время в системе, вне холодильника)
cobas® HEV – 192	Не истек	90 дней после первого использования	Максимум 40 постановок	Максимум 40 часов
cobas® HEV Control Kit	Не истек	Неприменимо	Неприменимо	Максимум 10 часов
cobas® NHP Negative Control Kit	Не истек	Неприменимо	Неприменимо	Максимум 10 часов
cobas omni Lysis Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni MGP Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni Specimen Diluent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni Wash Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо

* Время определяется после первой загрузки реагента в системы **cobas® 6800/8800**.

Необходимые дополнительные материалы

Табл. 7 Реагенты и расходные материалы для работы с системами **cobas® 6800/8800**

Материал	P/N
Планшет для обработки образцов cobas omni	05534917001
Амплификационный планшет cobas omni	05534941001
Наконечники cobas omni	05534925001
Контейнер для жидких отходов cobas omni	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Пакет для твердых отходов	07435967001
Контейнер для твердых отходов или Пакет для твердых отходов с вставкой	07094361001 или 08030073001

Необходимое оборудование и программное обеспечение

Программа **cobas® 6800/8800** и аналитический пакет **cobas® HEV** должны быть установлены на прибор(ы). Сервер Instrument Gateway (IG) поставляется вместе с системой. По необходимости должно быть установлено ПО **cobas® Synergy**.

Табл. 8 Приборы

Системы cobas® 6800/8800	P/N
Система cobas® 6800 (опция — подвижная)	05524245001 и 06379672001
Система cobas® 6800 (фиксированная)	05524245001 и 06379664001
Система cobas® 8800	05412722001
Модуль подачи образцов	06301037001
Для автоматизированного раскапывания и пулирования	P/N
Прибор cobas p 680	06570577001
Электронная лицензия на программное обеспечение cobas® Synergy (только для систем cobas® 6800/8800) (опционально)	07788339001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001
Hamilton MICROLAB® STAR/let IVD	04872649001

Дополнительные сведения о первичных и вторичных пробирках для образцов, подходящих приборам, приведены в поддержке пользователя систем **cobas® 6800/8800** и прибора **cobas p 680** или в поддержке пользователя программного обеспечения **cobas® Synergy**.

Примечание. Обратитесь в ваше региональное представительство Roche за подробным списком штативов для образцов, штативов для засоренных наконечников и лотков для штативов, подходящих приборам.

Меры предосторожности и правила работы

Меры предосторожности

Как и при выполнении любых тестов, соблюдение правил надлежащей лабораторной практики является условием качественного выполнения данного теста. Вследствие высокой аналитической чувствительности теста необходимо тщательно оберегать от контаминации реагенты и амплификационные смеси.

- Только для диагностики *in vitro*.
- Все образцы нужно рассматривать как потенциально инфекционные и соблюдать при работе с ними правила биологической безопасности, приведенные в документах Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories и CLSI Document M29-A4.^{54, 55} Только персонал, обученный работе с инфекционными материалами, а также работе с тестом **cobas® HEV**, системами **cobas® 6800/8800** и, опционально, прибором **cobas p 680** или прибором Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD с программным обеспечением **cobas® Synergy**, может выполнять данную процедуру.
- Все материалы человеческого происхождения должны рассматриваться как потенциально инфекционные, работать с ними нужно с соблюдением стандартных мер предосторожности. При разливе материалов немедленно проведите дезинфекцию свежеприготовленным 0,6%-м раствором гипохлорита натрия в дистиллированной или деионизованной воде или следуйте стандартным инструкциям, принятым в вашей лаборатории.
- Набор контролей **cobas® HEV Control Kit** и набор отрицательных контролей **cobas® NHP Negative Control Kit** содержат плазму, полученную из человеческой крови. Тестирование нормальной человеческой плазмы методом ПЦР подтвердило отсутствие РНК ВГЕ. Ни один из известных методов не может обеспечить полную гарантию отсутствия инфекционных агентов в продуктах крови человека.
- Не замораживайте цельную кровь.
- Рекомендуется использовать стерильные одноразовые дозаторы и свободные от нуклеаз наконечники. Для оптимального выполнения теста используйте только входящие в состав системы или рекомендованные для нее производителем расходные материалы.
- Внимательно следуйте рекомендациям и инструкциям для корректного проведения теста. Любое отклонение от инструкции может повлиять на результаты теста.
- Нарушение границы раздела клеток и плазмы или диффузия материала после центрифугирования могут привести к более высокому уровню невалидных результатов.
- Ложноположительные результаты могут быть получены при отсутствии адекватного контроля перекрестных контаминаций образцов на этапах пробоподготовки.
- О любых серьезных инцидентах, имевших место при работе с данным тестом, сообщайте в местный уполномоченный орган.

Обращение с реагентами

- Работайте со всеми реагентами, контролями и образцами в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики для предотвращения перекрестной контаминации образцов и контролей.
- Перед началом работы осмотрите все кассеты реагентов, дилуэнт, лизирующий реагент и промывочный реагент и убедитесь в отсутствии протекания. При наличии протекания не используйте данный материал для постановки теста.

- Лизирующий реагент **cobas omni** Lysis Reagent содержит гуанидин тиоцианат — потенциально опасное вещество. Не допускайте попадания реагента на кожу, в глаза, на слизистые оболочки. В случае попадания немедленно смойте большим количеством воды; в противном случае может возникнуть ожог.
- Реагенты наборов **cobas® HEV**, реагент **cobas omni** MGP Reagent и дилуэнт для образцов **cobas omni** Specimen Diluent содержат в качестве консерванта азид натрия. Не допускайте попадания реагента на кожу, в глаза, на слизистые оболочки. В случае попадания немедленно смойте большим количеством воды; в противном случае может возникнуть ожог. При проливе этих реагентов промойте их водой и затем вытрите.
- Не допускайте контакта лизирующего реагента **cobas omni** Lysis Reagent, содержащего гуанидин тиоцианат, с раствором гипохлорита натрия (хлорки). Данная смесь может выделять высокотоксичный газ.
- Паспорта безопасности материалов (SDS) доступны по запросу в вашем региональном представительстве компании Roche.
- Утилизируйте все материалы, контактировавшие с образцами и реагентами, в соответствии с государственными, федеральными и региональными правилами.

Надлежащая лабораторная практика

- Не пипетируйте ртом.
- Не ешьте, не пейте и не курите в рабочих лабораторных помещениях.
- Работайте со всеми реагентами и образцами в средствах для защиты глаз, лабораторном халате и одноразовых перчатках. Для предотвращения контаминации меняйте перчатки после работы с образцами, прежде чем начать работу с реагентами наборов **cobas® HEV** и **cobas omni**. Не допускайте контаминации перчаток при работе с образцами и контролями.
- Тщательно мойте руки после работы с образцами и компонентами набора и после снятия перчаток.
- Тщательно очищайте и дезинфицируйте все рабочие поверхности в лаборатории свежеприготовленным 0,6%-м раствором гипохлорита натрия в дистиллированной или деионизованной воде, затем протирайте их 70%-м этанолом.
- При разлитии реагентов или образцов в приборе **cobas® 6800/8800** проведите очистку и дезинфекцию поверхности приборов в соответствии с инструкциями в руководстве пользователя систем **cobas® 6800/8800**.

Сбор, транспортировка, хранение и пулирование образцов

Примечание. Работайте со всеми образцами и контролями как с потенциально инфекционными материалами.

Храните все донорские образцы при указанной температуре.

Стабильность образцов снижается при повышенных температурах.

Образцы от живых доноров

- Для работы с тестом **cobas® HEV** можно использовать плазму, собранную с ЭДТА, CPD, CPDA1, CP2D или 4 % цитратом натрия в качестве антикоагулянта. Следуйте инструкциям производителя пробирок/мешков для сбора образцов по работе с образцами и их центрифугированию.

- Кровь, собранную с ЭДТА в качестве антикоагулянта, в пробирках для отделения плазмы Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) или пробирках с K2 ЭДТА и гелем для получения плазмы Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tubes можно подвергнуть дополнительному центрифугированию при $600 \times g$ в течение 5 минут перед загрузкой, дополнительным пулированием или повторным тестированием.
- Кровь, собранная в пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта, может храниться до 12 дней при следующих условиях:
 - образцы должны быть центрифугированы в течение 72 часов после забора крови;
 - при хранении при температуре выше 8°C образцы могут храниться в пределах 72 часов при температуре до 25°C (в течение 72 часов) и при температуре до 30°C (в течение 24 часов).

Помимо описанных выше условий, образцы хранят при температуре $2-8^\circ\text{C}$. Кроме того, плазма, отделенная от клеток, может храниться до 12 месяцев при температуре $\leq -18^\circ\text{C}$ с тремя допустимыми циклами заморозки/оттаивания. См. Рис. 1.

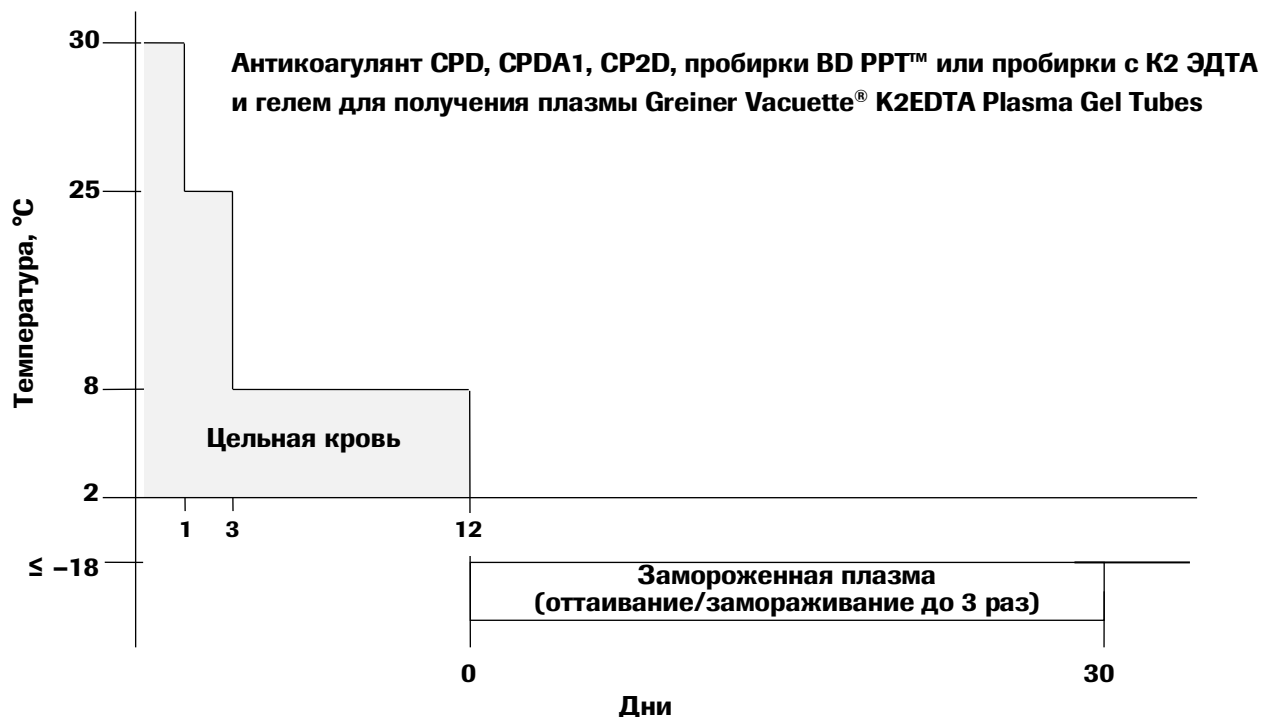
Рис. 1 Условия хранения образцов с антикоагулянтом ЭДТА



- Кровь, собранная с CPD, CPDA1, CP2D в качестве антикоагулянта, а также кровь в пробирках для отделения плазмы Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) или пробирках с K2 ЭДТА и гелем для получения плазмы Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tubes может храниться до 12 дней при следующих условиях:
 - образцы должны быть центрифугированы в течение 72 часов после забора крови;
 - при хранении при температуре выше 8°C образцы могут храниться в пределах 72 часов при температуре до 25°C (в течение 72 часов) и при температуре до 30°C (в течение 24 часов).

Помимо описанных выше условий, образцы хранят при температуре 2–8 °С. Кроме того, плазма, отделенная от клеток, может храниться до 30 дней при температуре ≤ -18 °С с тремя допустимыми циклами заморозки/оттаивания. См. Рис. 2.

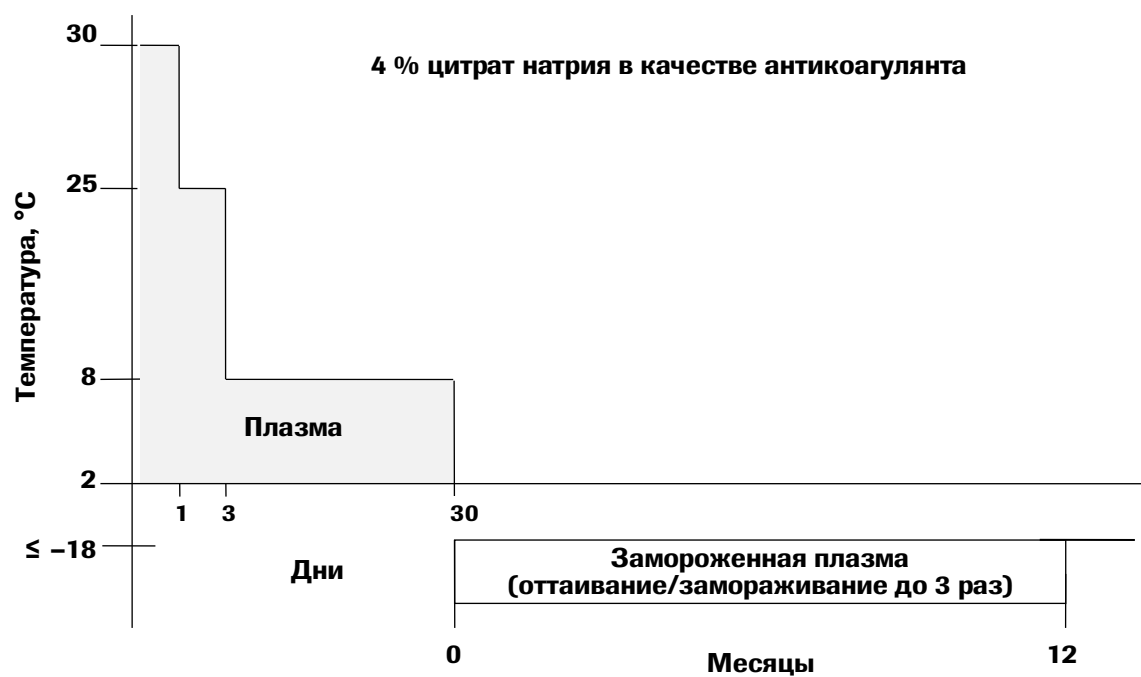
Рис. 2 Условия хранения образцов



- Плазма, собранная с 4 % цитратом натрия в качестве антикоагулянта, может храниться до 30 дней при температуре 2–8 °С.
 - при хранении при температуре выше 8 °С образцы могут храниться в пределах 72 часов при температуре до 25 °С (в течение 72 часов) и при температуре до 30 °С (в течение 24 часов).

Помимо описанных выше условий, образцы хранят при температуре 2–8 °С. Кроме того, плазма, отделенная от клеток, может храниться до 12 месяцев при температуре ≤ -18 °С с тремя допустимыми циклами заморозки/оттаивания. См. Рис. 3

Рис. 3 Условия хранения образцов с 4 % цитратом натрия в качестве антикоагулянта



- Если необходимо транспортировать образцы, они должны быть упакованы и маркированы в соответствии с правилами транспортировки образцов и инфекционных агентов, действующими в вашей стране, и/или международными правилами.

Инструкция по работе с набором

Автоматизированное раскапывание и пулирование образцов (опционально)

Прибор **cobas p 680** или Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet с программным обеспечением **cobas® Synergy** можно использовать как дополнительные к системам **cobas® 6800/8800** приборы для автоматизированного пипетирования и пулирования аликвот нескольких первичных образцов в один пулированный образец.

Более подробные сведения приведены в поддержке пользователя прибора **cobas p 680** и в поддержке пользователя ПО **cobas® Synergy**.

Рекомендации по процедуре

- Не используйте реагенты набора **cobas® HEV**, набор контролей **cobas® HEV Control Kit**, набор отрицательных контролей **cobas® NHP Negative Control Kit** и реагенты **cobas omni** после истечения их сроков годности.
- Не используйте повторно расходные материалы. Они предназначены только для однократного применения.
- Инструкции по эксплуатации и обслуживанию приборов приведены в руководстве пользователя систем **cobas® 6800/8800**.

Выполнение теста cobas® HEV

Подробное описание процедуры теста приведено в поддержке пользователя систем **cobas® 6800/8800**. Подробное описание дополнительных процедур пулирования см. в поддержке пользователя прибора **cobas p 680** или в поддержке пользователя программного обеспечения **cobas® Synergy**, соответственно. Рис. 4 ниже отражает схему постановки теста.

Рис. 4 Процедура теста **cobas® HEV**

1	Пипетирование и пулирование
2	Создание задания
3	Пополнение реагентов и расходных материалов по запросу системы: • Повторно загрузить промывочный реагент, лизирующий реагент и дилюент • Повторно загрузить планшеты для обработки и амплификации • Повторно загрузить магнитные стеклочастицы • Повторно загрузить тест-специфичные реагенты • Повторно загрузить кассеты с контролями • Повторно загрузить штативы с наконечниками • Заменить штатив для засоренных наконечников
4	Запуск постановки теста: • Загрузить штативы с образцами • Выбрать кнопку «Старт» на интерфейсе
5	Просмотр и экспорт результатов
6	Выгрузка расходных материалов • Удалить амплификационные планшеты из аналитического модуля • Выгрузить пустые кассеты для контролей • Удалить твердые отходы • Удалить жидкие отходы

Результаты

Системы **cobas®** 6800/8800 автоматически выявляют РНК ВГЕ в образцах и контролях.

Контроль качества и валидности результатов

- Один отрицательный контроль [(-) C] и один положительный контроль [HEV (+) C] присутствуют в каждой постановке.
- В программе **cobas®** 6800/8800 или отчете проверьте наличие флагов и соответствующих им результатов для проверки валидности постановки.
- Постановка валидна, если ни для одного из контролей нет сигнальных сообщений.

Невалидность результатов определяется программой **cobas®** 6800/8800 автоматически на основании невалидных результатов для отрицательного и положительных контролей.

Сигнальные сообщения для контролей

Табл. 9 Флаги отрицательного и положительных контролей

Отрицательный контроль	Флаг	Результат	Интерпретация
(-) C	Q02	Невалидно	Вся постановка признается невалидной, если невалиден результат для (-) C.
Положительный контроль	Флаг	Результат	Интерпретация
HEV (+) C	Q02	Невалидно	Вся постановка признается невалидной, если невалиден результат для HEV (+) C.

Если постановка невалидна, необходимо повторить всю процедуру постановки теста, включая образцы и контроли.

Интерпретация результатов

Для валидной постановки проверьте наличие флагов для каждого образца в программе **cobas®** 6800/8800 или отчете. Интерпретация результатов должна быть следующей:

- валидная постановка может содержать как валидные, так и невалидные результаты для индивидуальных донорских образцов в зависимости от сигнальных сообщений, соответствующих образцам;
- результаты образцов валидны только в том случае, если соответствующие положительный и отрицательный контроли данной постановки валидны.

Для каждого образца одновременно измеряются два параметра: ВГЕ и внутренний контроль. Конечные результаты теста **cobas®** HEV для каждого образца выдаются программой. Помимо общего результата, программа **cobas®** 6800/8800 выдает результаты по отдельным мишеням, которые необходимо интерпретировать указанным ниже образом.

Табл. 10 Интерпретация результатов по отдельным мишеням

Результат мишени	Интерпретация
HEV Non-Reactive	Сигнал мишени ВГЕ отсутствует, сигнал ВК обнаружен.
HEV Reactive	Сигнал мишени ВГЕ обнаружен, сигнал ВК может быть или отсутствовать.
Невалидно	Сигнал мишени и внутреннего контроля не обнаружен.

При использовании программного обеспечения **cobas® Synergy** просматривать расчеты окончательного результата следует в программном обеспечении **cobas® Synergy**.

Повторное тестирование индивидуальных образцов

Для пробирок с образцами, в которых получен результат Invalid, требуется повторное тестирование.

Дополнительное центрифугирование при 600 × g в течение 5 минут может способствовать сокращению количества повторных невалидных результатов для образцов крови, собранных с ЭДТА в качестве антикоагулянта, в пробирках для отделения плазмы Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) или пробирках с K2 ЭДТА и гелем для получения плазмы Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tubes.

Ограничения процедуры

- Тест **cobas® HEV** валидирован только для работы с набором контролей **cobas® HEV Control Kit**, набором отрицательных контролей **cobas® NHP Negative Control Kit**, реагентом **cobas omni MGP Reagent**, лизирующим реагентом **cobas omni Lysis Reagent**, дилуентом для образцов **cobas omni Specimen Diluent** и промывочным реагентом **cobas omni Wash Reagent** в системах **cobas® 6800/8800**.
- Надежность результатов теста зависит от адекватности сбора, хранения и обработки образцов.
- Не используйте для данного теста гепаринизированную плазму, так как гепарин может ингибировать ПЦР.
- Детекция РНК ВГЕ зависит от количества вирусных частиц, содержащихся в образце, методов сбора, хранения и анализа образцов, факторов пациента (например, возраст, наличие симптомов) и/или стадии инфекции, а также объема пула.
- Редкие мутации в высококонсервативных участках вирусных геномов, являющихся мишенями теста **cobas® HEV**, могут препятствовать посадке праймеров и/или зондов и приводить к неспособности обнаружить наличие вируса.
- Вследствие естественных различий между технологиями пользователю рекомендуется, прежде чем заменить одну технологию на другую, провести корреляционные испытания для двух методов, чтобы оценить возможные различия между технологиями. Пользователи должны следовать политике и процедурам, принятым в их учреждении.

Доклинические испытания теста

Основные характеристики набора — образцы от живых доноров

Предел обнаружения (LoD)

Международный стандарт ВОЗ

Предел обнаружения (LoD) теста cobas® HEV при детекции РНК ВГЕ определяли с помощью Международного стандарта ВОЗ для ВГЕ (код PEI 6329/10).

Для международного стандарта ВОЗ готовили 3 независимых серии разведений вирусного стандарта в нормальной вирус-негативной (по ВГЕ) человеческой плазме с ЭДТА. Каждую серию разведений тестировали с 3 разными лотами реагентов cobas® HEV примерно в 63 повторях для лота, всего около 189 повторов для каждой концентрации. LoD для вируса ВГЕ определяли методом 95 % (Табл. 11) и 50 % (Табл. 12) PROBIT анализа данных, объединенных для серий разведений и лотов реагентов, а также определяли нижний и верхний пределы 95%-го доверительного интервала. Показатели частоты реактивности при определении LoD для ВГЕ приведены в Табл. 13.

Табл. 11 Результаты 95 % PROBIT анализа LoD для данных, полученных с вирусным стандартом в плазме с ЭДТА

Аналит	Единицы измерения	LoD	Нижний предел доверительного интервала 95 %	Верхний предел доверительного интервала 95 %
ВГЕ	МЕ/мл	18,6	15,9	22,6

Табл. 12 Результаты 50 % PROBIT анализа LoD для данных, полученных с вирусным стандартом в плазме с ЭДТА

Аналит	Единицы измерения	LoD	Нижний предел доверительного интервала 95 %	Верхний предел доверительного интервала 95 %
ВГЕ	МЕ/мл	3,9	3,4	4,3

Табл. 13 Частота выявления ВГЕ в плазме с ЭДТА

Концентрация РНК ВГЕ (МЕ/мл)	Количество реактивных результатов	Число валидных повторов	% реактивных результатов	Нижний предел доверительного интервала 95 % (одностороннего)
40	187	187	100,0 %	98,4 %
20	179	188	95,2 %	91,8 %
10	165	189	87,3 %	82,6 %
6	113	187	60,4 %	54,2 %
2	52	189	27,5 %	22,2 %

Воспроизводимость

Воспроизводимость теста **cobas® HEV** в системах **cobas® 6800/8800** определяли с помощью Международного стандарта ВОЗ для ВГЕ (код PEI 6329/10). В данном исследовании тестировали 3 панели ВГЕ в концентрациях, равных примерно $0,5 \times$, $1 \times$ и $2 \times$ LoD теста **cobas® HEV**. Тестирование выполняли при следующих переменных факторах:

- вариабельность между днями на протяжении 3 дней;
- вариабельность между лотами для 3 разных лотов набора реагентов теста **cobas® HEV**;
- вариабельность между приборами для 3 разных систем **cobas® 8800**.

Примерно 21 повтор был протестирован для каждой из 3 панелей, всего 63 повтора для каждого лота набора реагентов. Воспроизводимость для всех валидных данных оценивали методом расчета процента реактивных результатов теста для каждой концентрации для всех переменных факторов.

Пределы двустороннего 95%-го доверительного интервала рассчитывали для каждой частоты обнаружения каждой из трех концентраций ВГЕ, тестируемых на протяжении 3 дней с 3 лотами набора реагентов на 3 системах **cobas® 8800**. Было продемонстрировано, что результаты теста **cobas® HEV** воспроизводимы в течение нескольких дней с несколькими лотами набора реагентов на нескольких приборах. Результаты вариабельности между лотами набора реагентов приведены в Табл. 14.

Табл. 14 Воспроизводимость между лотами набора реагентов **cobas® HEV**

Аналит	Концентрация	Лот набора реагентов	% реактивных (реактивные/валидные повторы)	Нижний предел доверительного интервала 95 %	Верхний предел доверительного интервала 95 %
HEV	$2 \times$ LoD	1	100,0 % (61/61)	94,1 %	100,0 %
HEV	$2 \times$ LoD	2	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
HEV	$2 \times$ LoD	3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
HEV	$1 \times$ LoD	1	88,9 % (56/63)	78,4 %	95,4 %
HEV	$1 \times$ LoD	2	96,8 % (60/62)	88,8 %	99,6 %
HEV	$1 \times$ LoD	3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
HEV	$0,5 \times$ LoD	1	82,5 % (52/63)	70,9 %	90,9 %
HEV	$0,5 \times$ LoD	2	95,2 % (60/63)	86,7 %	99,0 %
HEV	$0,5 \times$ LoD	3	84,1 % (53/63)	72,7 %	92,1 %

Верификация генотипов

Способность теста cobas® HEV выявлять 4 генотипа ВГЕ определяли методом тестирования 16 индивидуальных клинических образцов и 7 культуральных изолятов ВГЕ с известным генотипом. Все образцы были количественно охарактеризованы относительно стандарта ВОЗ ВГЕ. Все 16 клинических образцов тестировали после разведения нормальной вирус-негативной (по ВГЕ) человеческой плазмой с ЭДТА до концентрации $5 \times \text{LoD}$ в тесте cobas® HEV, из них 10 образцов также тестировали неразведенными. Все 7 культуральных изолятов тестировали после разведения нормальной вирус-негативной (по ВГЕ) человеческой плазмой с ЭДТА до концентрации $5 \times \text{LoD}$ в тесте cobas® HEV. Все клинические образцы и культуральные изоляты дали положительный результат при тестировании неразведенных образцов и/или в разведении до $5 \times \text{LoD}$ (Табл. 15).

Табл. 15 Клинические образцы и культуральные изоляты ВГЕ

Генотип	Клинические образцы	Клинические образцы	Культуральные изоляты
	% реактивных (реактивные/тестируемые образцы) без разведения	% реактивных (реактивные/тестируемые образцы) разведение до $5 \times \text{LoD}$	% реактивных (реактивные/тестируемые образцы) разведение до $5 \times \text{LoD}$
1	Не исследовался *	Не исследовался *	100,0 % (3/3)
2	Не исследовался *	Не исследовался *	100,0 % (1/1)
3	100,0 % (10/10)	100,0 % (10/10)	Не исследовался *
4	Не исследовался *	100,0 % (6/6)	100,0 % (3/3)

* Недостаточный объем для тестирования в неразведенном/разведенном виде

Аналитическая специфичность

Аналитическую специфичность теста **cobas® HEV** определяли методом оценки перекрестной реактивности при тестировании 28 микроорганизмов в концентрации 10^6 частиц, копий или БОЕ/мл, включая 21 вирусный изолят, 6 бактериальных штаммов и 1 изолят дрожжей (Табл. 16). Микроорганизмы вводили в нормальную вирус-негативную человеческую плазму с ЭДТА и тестировали в отсутствие и в присутствии ВГЕ, внесенного в концентрации примерно $3 \times \text{LoD}$ теста **cobas® HEV**. Тестировавшиеся микроорганизмы не вызывали перекрестную реактивность и не оказывали интерферирующего влияния при проведении теста **cobas® HEV**.

Табл. 16 Микроорганизмы, тестиовавшиеся для определения аналитической специфичности

Вирусы	Флавивирус	Бактерии	Дрожжи
Аденовирус типа 5	Вирус Западного Нила	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Цитомегаловирус	Вирус Денге типа 1	<i>Propionibacterium acnes</i>	-
Вирус Эпштейна – Барр	Вирус Усугу	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Вирус простого герпеса типа 1	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Вирус простого герпеса типа 2	-	<i>Streptococcus viridans</i>	-
Вирус гепатита А	-	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-
Вирус гепатита В Вирус гепатита С	-	-	-
Вирус гепатита G Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-1 группы М) Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-2)	-	-	-
Т-клеточный лимфотропный вирус человека, тип I	-	-	-
Т-клеточный лимфотропный вирус человека, тип II	-	-	-
Вирус герпеса человека 6	-	-	-
Вирус гриппа А	-	-	-
Парвовирус В19	-	-	-
Вирус чикунгунья	-	-	-
Вирус варицелла зостер	-	-	-

Образцы плазмы, полученные от пациентов с клинически подтвержденными заболеваниями (Табл. 17), тестировали в отсутствие или в присутствии ВГЕ, внесенного в концентрации примерно $3 \times \text{LoD}$ теста **cobas® HEV**. Данные заболевания не вызывали перекрестную реактивность и не оказывали интерферирующего влияния при проведении теста **cobas® HEV**.

Табл. 17 Образцы от пациентов с клинически подтвержденным заболеванием, тестируемые для определения аналитической специфичности

Заболевание	Заболевание	Заболевание
Аденовирус типа 5	Вирус гепатита В	Т-клеточный лимфотропный вирус человека, тип I
Цитомегаловирус	Вирус гепатита С	Т-клеточный лимфотропный вирус человека, тип II
Вирус Денге	Вирус простого герпеса типа 1	Парвовирус В19
Вирус Эпштейна – Барр	Вирус простого герпеса типа 2	Вирус Западного Нила
Вирус гепатита А	Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-1)	-

Аналитическая специфичность: интерферирующие вещества

Эндогенные интерферирующие вещества

Образцы плазмы с аномально повышенными уровнями триглицеридов (до 33,2 г/л), гемоглобина (до 4,7 г/л), непрямого билирубина (до 0,28 г/л), альбумина (до 60 г/л) и человеческой ДНК (до 0,004 г/л) тестировали в отсутствие и в присутствии ВГЕ, внесенного в концентрации примерно $3 \times \text{LoD}$ теста **cobas® HEV**. Образцы, содержащие данные эндогенные вещества, не оказывали интерферирующего влияния при определении чувствительности или специфичности теста **cobas® HEV**.

Экзогенные интерферирующие вещества

Образцы нормальной вирус-негативной (по ВГЕ) человеческой плазмы с ЭДТА, содержащие лекарственные препараты в повышенных концентрациях (Табл. 18), тестировали в отсутствие и в присутствии ВГЕ, внесенного в концентрации $3 \times \text{LoD}$ теста **cobas® HEV**. Данные экзогенные вещества не оказывали интерферирующего влияния при определении чувствительности или специфичности теста **cobas® HEV**.

Табл. 18 Клинические образцы, тестируемые с лекарственными препаратами

Название исследуемого лекарственного препарата	Концентрация
Ацетаминофен	1324 мкмоль/л
Ацетилсалициловая кислота	3620 мкмоль/л
Аскорбиновая кислота	342 мкмоль/л
Аторвастатин	600 мкг-экв./л
Флуоксетин	11,2 мкмоль/л
Ибупрофен	2425 мкмоль/л
Лоратадин	0,78 мкмоль/л
Надолол	3,88 мкмоль/л
Напроксен	2170 мкмоль/л
Пароксетин	3,04 мкмоль/л
Фенилэфрин HCL	491 мкмоль/л
Сертралин	1,96 мкмоль/л

Корреляция

Сравнительные испытания теста cobas® HEV и теста Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0

Сравнительные испытания тестов cobas® HEV и Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0 (Altona Diagnostics) проводили методом тестирования 100 индивидуальных образцов плазмы, положительных по ВГЕ при NAT-тестировании. 100 положительных образцов тестировали неразведенными, 67 положительных образцов тестировали в разведении 1:6. Также в обоих тестах анализировали 100 негативных по ВГЕ образцов плазмы.

При тестировании серонегативных образцов специфичность составила 100 %, в обоих тестах были получены 100 нереактивных результата для 100 образцов.

При тестировании положительных образцов оба метода продемонстрировали согласованность результатов, подтвержденную тестом Мак-Немара. Таким образом, тесты cobas® HEV и Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0 являются эквивалентными (Табл. 19).

Табл. 19 Корреляция при тестировании положительных образцов (неразведенных)

Методы	Методы	Результат выявления ВГЕ	Результат выявления ВГЕ
Тест Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0	cobas® HEV	Неразведенные	В разведении 1:6
Нереактивный	Нереактивный	0	3
Реактивный	Нереактивный	0	3
Нереактивный	Реактивный	1	9
Реактивный	Реактивный	99	52
Всего	Всего	100	67
Тест Мак-Немара, значение р (двусторонний, $\alpha = 0,05$)	Тест Мак-Немара, значение р (двусторонний, $\alpha = 0,05$)	1,00	0,09

Системные ошибки

Частоту системной ошибки для теста cobas® HEV определяли при тестировании в 100 повторях образцов плазмы с ЭДТА, в которую вносили ВГЕ. Данные образцы тестировали при концентрации мишени, равной примерно $3 \times \text{LoD}$ в пулах по одному образцу (неразведенными). Тестирование проводили в системе cobas® 8800 с прибором cobas p 680 (раскапывание и пулирование).

Полученные результаты показали, что все повторы дали положительный результат по ВГЕ, при этом частота системной ошибки составила 0 %. Нижняя граница двустороннего 95 %-го доверительного интервала была равна 0 %, верхняя — 3,62 % [0 %: 3,62 %].

Дополнительная информация

Основные характеристики теста

Тип образцов	Плазма
Необходимый объем образца	1000 мкл*
Обрабатываемый объем образца	850 мкл*

* У пробирок, используемых для тестирования, может быть иной мертвый объем, и требуемый минимальный объем может быть больше или меньше. Обратитесь к местному представителю сервисной службы Roche за дополнительной информацией.

Условные обозначения

Приведенные ниже символы применяются для маркировки продукции для ПЦР-диагностики компании Roche.

Табл. 20 Символы, применяемые для маркировки продукции для ПЦР-диагностики компании Roche

	Возраст или дата рождения		Устройство не для исследования по месту лечения		МЕ КС на ПЦР-реакцию; при подсчете результатов значения представляйте в виде Международных единиц (МЕ) КС на ПЦР-реакцию.
	Вспомогательное программное обеспечение		Устройство не предназначено для самостоятельного тестирования		Серийный номер
	Заданный диапазон (копий/мл)		Дистрибьютер (Примечание. Соответствующая страна/регион могут быть указаны под символом.)		Лаборатория
	Заданный диапазон (МЕ/мл)		Не использовать повторно		Стандартная процедура
	Авторизованный представитель в Европейском сообществе		Женский		Стерилизовано этиленоксидом
	Список штрихкодов		Только для испытаний IVD		Хранить в темноте
	Номер лота		Глобальный номер товара		Температурный диапазон
	Биологическая опасность		Импортёр		Файл с описанием теста
	Номер по каталогу		Медицинское устройство для диагностики <i>in vitro</i>		Этой стороной вверх
	СЕ маркировка соответствия требованиям ЕС — это изделие соответствует применимым требованиям для выдачи сертификата в ЕС на медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Нижний предел заданного диапазона		Сверхчувствительная процедура
	Дата сбора		Мужской		Уникальный идентификатор устройства
	Обратитесь к инструкции		Производитель		Верхний предел заданного диапазона
	Рассчитано на <n> тестов		Отрицательный контроль		Линия заполнения мочой
	Состав набора		Нестерильно		Только для США. Федеральное законодательство ограничивает право продажи данного устройства терапевтом или по его рецепту.
	Контроль		Ф. И. О. пациента		Использовать до
	Дата производства		Номер пациента		
	Устройство для исследования по месту лечения		Оторвите здесь		
	Устройство для самостоятельного тестирования		Положительный контроль		
			Копии количественного стандарта (КС) на ПЦР-реакцию; при подсчете результатов значения представляйте в виде копий КС на ПЦР-реакцию.		

Техническая поддержка

Для получения технической поддержки (помощи) обратитесь в местный филиал в вашем регионе:

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

Производитель и импортёр

Табл. 21 Производитель и импортёр



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

Сделано в США



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Товарные знаки и патенты

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

Авторское право

© Roche Molecular Systems, Inc., 2022.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Литература

1. Kamar N, Bendall R, Legrand-Abravanel F, et al. Hepatitis E. *Lancet*. 2012;379:2477-88.
2. Ahmad I, Holla RP, Jameel S. Molecular virology of hepatitis E virus. *Virus Res*. 2011;161:47-58.
3. Meng XJ, Purcell RH, Halbur PG, et al. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proc Natl Acad Sci US A*. 1997;94:9860-5.
4. Yugo DM, Meng XJ. Hepatitis E virus: foodborne, waterborne and zoonotic transmission. *Int J Environ Res Public Health*. 2013;10:4507-33.
5. Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, et al. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. *Intervirology*. 1983;20:23-31.
6. Dalton HR, Bendall R, Ijaz S, Banks M. Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *Lancet Infect Dis*. 2008;8:698-709.
7. Meng XJ. Hepatitis E as a zoonotic disease in the United States. Oral presentation at: National Institutes of Health Research Workshop: Hepatitis E in the United States; 7-8 March 2012; Bethesda, Maryland.
8. Mansuy JM, Peron JM, Abravanel F, et al. Hepatitis E in the south west of France in individuals who have never visited an endemic area. *J Med Virol*. 2004;74:419-24.
9. Dalton HR, Stableforth W, Thuraiajah P, et al. Autochthonous hepatitis E in Southwest England: natural history, complications and seasonal variation, and hepatitis E virus IgG seroprevalence in blood donors, the elderly and patients with chronic liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2008;20:784-90.
10. Wichmann O, Schimanski S, Koch J, et al. Phylogenetic and case-control study on hepatitis E virus infection in Germany. *J Infect Dis*. 2008;198:1732-41.
11. Dalton HR, Fellows HJ, Gane EJ, et al. Hepatitis E in New Zealand. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007;22:1236-40.
12. Tsang TH, Denison EK, Williams HV, et al. Acute hepatitis E infection acquired in California. *Clin Infect Dis*. 2000;30:618-9.
13. Teo CG. Much meat, much malady: changing perceptions of the epidemiology of hepatitis E. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16:24-32.
14. Colson P, Borentain P, Queyriaux B, et al. Pig liver sausage as a source of hepatitis E virus transmission to humans. *J Infect Dis*. 2010;202:825-34.
15. Matsuda H, Okada K, Takahashi K, Mishiro S. Severe hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from a wild boar. *J Infect Dis*. 2003;188:944.
16. Tei S, Kitajima N, Takahashi K, Mishiro S. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet*. 2003;362:371-3.
17. Gotanda Y, Iwata A, Ohnuma H, et al. Ongoing subclinical infection of hepatitis E virus among blood donors with an elevated alanine aminotransferase level in Japan. *J Med Virol*. 2007;79:734-42.
18. Mitsui T, Tsukamoto Y, Suzuki S, et al. Serological and molecular studies on subclinical hepatitis E virus infection using periodic serum samples obtained from healthy individuals. *J Med Virol*. 2005;76:526-33.
19. Nelson KE, Kmush B, Labrique AB. The epidemiology of hepatitis E virus infections in developed countries and among immunocompromised patients. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2011;9:1133-48.

20. Navaneethan U, Al Mohajer M, Shata MT. Hepatitis E and pregnancy: understanding the pathogenesis. *Liver Int.* 2008;28:1190-9.
21. Jilani N, Das BC, Husain SA, et al. Hepatitis E virus infection and fulminant hepatic failure during pregnancy. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007;22:676-82.
22. Peron JM, Bureau C, Poirson H, et al. Fulminant liver failure from acute autochthonous hepatitis E in France: description of seven patients with acute hepatitis E and encephalopathy. *J Viral Hepat.* 2007;14:298-303.
23. Ramachandran J, Eapen CE, Kang G, et al. Hepatitis E superinfection produces severe decompensation in patients with chronic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2004;19:134-8.
24. Rein DB, Stevens GA, Theaker J, Wittenborn JS, Wiersma ST. The global burden of hepatitis E virus genotypes 1 and 2 in 2005. *Hepatology.* 2012;55:988-97.
25. Dalton HR, Bendall RP, Rashid M, et al. Host risk factors and autochthonous hepatitis E infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2011;23:1200-5.
26. Dalton HR, Hazeldine S, Banks M, Ijaz S, Bendall R. Locally acquired hepatitis E in chronic liver disease. *Lancet.* 2007;369:1260.
27. Kamar N, Selves J, Mansuy JM, et al. Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *N Engl J Med.* 2008;358:811-7.
28. Gerolami R, Moal V, Colson P. Chronic hepatitis E with cirrhosis in a kidney-transplant recipient. *N Engl J Med.* 2008;358:859-60.
29. Haagsma EB, van den Berg AP, Porte RJ, et al. Chronic hepatitis E virus infection in liver transplant recipients. *Liver Transpl.* 2008;14:547-53.
30. Kamar N, Garrouste C, Haagsma EB, et al. Factors associated with chronic hepatitis in patients with hepatitis E virus infection who have received solid organ transplants. *Gastroenterology.* 2011;140:1481-9.
31. Colson P, Kaba M, Moreau J, Brouqui P. Hepatitis E in an HIV-infected patient. *J Clin Virol.* 2009;45:269-71.
32. Peron JM, Mansuy JM, Recher C, et al. Prolonged hepatitis E in an immunocompromised patient. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006;21:1223-4.
33. Tamura A, Shimizu YK, Tanaka T, et al. Persistent infection of hepatitis E virus transmitted by blood transfusion in a patient with T-cell lymphoma. *Hepatol Res.* 2007;37:113-20.
34. Matsubayashi K, Nagaoka Y, Sakata H, et al. Transfusion-transmitted hepatitis E caused by apparently indigenous hepatitis E virus strain in Hokkaido, Japan. *Transfusion.* 2004;44:934-40.
35. Mitsui T, Tsukamoto Y, Yamazaki C, et al. Prevalence of hepatitis E virus infection among hemodialysis patients in Japan: evidence for infection with a genotype 3 HEV by blood transfusion. *J Med Virol.* 2004;74:563-72.
36. Boxall E, Herborn A, Kochethu G, et al. Transfusion-transmitted hepatitis E in a 'nonhyperendemic' country. *Transfus Med.* 2006;16:79-83.
37. Colson P, Coze C, Gallian P, et al. Transfusion-associated hepatitis E, France. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:648-9.
38. Khuroo MS, Kamili S, Yattoo GN. Hepatitis E virus infection may be transmitted through blood transfusions in an endemic area. *J Gastroenterol Hepatol.* 2004;19:778-84.
39. Zaaijer HL, Kok M, Lelie PN, et al. Hepatitis E in the Netherlands: imported and endemic. *Lancet.* 1993;341:826.

40. Christensen PB, Engle RE, Hjort C, et al. Time trend of the prevalence of hepatitis E antibodies among farmers and blood donors: a potential zoonosis in Denmark. *Clin Infect Dis*. 2008;47:1026-31.
41. Boutrouille A, Bakkali-Kassimi L, Cruciere C, Pavio N. Prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in French blood donors. *J Clin Microbiol*. 2007;45:2009-10.
42. Kaufmann A, Kenfak-Foguena A, Andre C, et al. Hepatitis E virus seroprevalence among blood donors in southwest Switzerland. *PLoS One*. 2011;6:e21150.
43. Vollmer T, Diekmann J, Johne R, et al. Novel approach for detection of hepatitis E virus infection in German blood donors. *J Clin Microbiol*. 2012;50:2708-13.
44. Takeda H, Matsubayashi K, Sakata H, et al. A nationwide survey for prevalence of hepatitis E virus antibody in qualified blood donors in Japan. *Vox Sang*. 2010;99:307-13.
45. Beale MA, Tettmar K, Szypulska R, Tedder RS, Ijaz S. Is there evidence of recent hepatitis E virus infection in English and North Welsh blood donors? *Vox Sang*. 2011;100:340-2.
46. Ijaz S, Szypulska R, Tettmar KI, Kitchen A, Tedder RS. Detection of hepatitis E virus RNA in plasma mini-pools from blood donors in England. *Vox Sang*. 2012;102:272.
47. Guo QS, Yan Q, Xiong JH, et al. Prevalence of hepatitis E virus in Chinese blood donors. *J Clin Microbiol*. 2010;48:317-8.
48. Baylis SA, Hanschmann KM, Blumel J, Nubling CM, HEV Collaborative Study Group. Standardization of hepatitis E virus (HEV) nucleic acid amplification technique-based assays: an initial study to evaluate a panel of HEV strains and investigate laboratory performance. *J Clin Microbiol*. 2011;49:1234-9.
49. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8.
50. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93.
51. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78.
52. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7.
53. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
54. Chosewood LC, Wilson DE, eds. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. US Department of Health and Human Services; 2009.
55. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*. 4th ed. M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2014.

Редакция документа

Сведения о редакции документа	
Doc Rev. 1.0 08/2022	Первая публикация.

С кратким отчетом по безопасности и эффективности можно ознакомиться по следующей ссылке:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

Уполномоченный представитель
в Республике Беларусь:
ООО "Алмазмед"
220062, г.Минск, пр-т
Победителей, 141,
пом.9