

ВЕРЖДЕНА

иказом Росздравнадзора

200 г. №

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ЗАО «Рош-Москва»

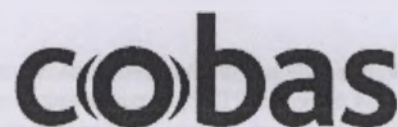
М. Петрович



ИНСТРУКЦИЯ

о применению изделия медицинского назначения: Набор реагентов и расходный материал для
ста Cobas TaqScreen MPX

т cobas TaqScreen MPX
и использования с системой cobas s 201



диагностики *IN VITRO*.

т cobas TaqScreen MPX
бор контролей cobas TaqScreen MPX
омывочный реагент cobas TaqScreen MPX

MPX	96 тестов
MPX CTL	6 наборов
TS WR	

P/N: 04584244 190
P/N: 04626290 190
P/N: 04404220 190

значение

т cobas TaqScreen MPX, предназначенный для использования с системой cobas s 201, является качественным *in vitro* том для прямого выявления РНК вируса иммунодефицита человека 1 типа (ВИЧ-1) группы М, РНК вируса мунодефицита человека 1 типа группы О, РНК вируса иммунодефицита человека 2 типа (ВИЧ-2), РНК вируса гепатита ВГС) и ДНК вируса гепатита В (ВГВ) в человеческой плазме.

нный тест предназначен для скрининга доноров на ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ в аздах плазмы доноров, в том числе доноров цельной крови и компонентов крови, и прочих живых доноров. Данный т также предназначен для скрининга доноров органов и тканей, получаемых в случае, если сердце донора еще кращается.

азма от любых доноров может исследоваться как индивидуальный образец. При донорстве цельной крови и ее мпонентов образцы плазмы могут тестироваться в индивидуальном порядке или в пулах, состоящих из равных аликвот дельных образцов, параллельно с серологическими тестами на ВИЧ, ВГС и ВГВ.

инный тест не предназначен для клинической диагностики.

ведение и описание теста

сновной проблемой при переливании крови и ее компонентов является риск передачи вирусных инфекций, в первую ередь вируса иммунодефицита человека 1 и 2 типов (ВИЧ-1 и ВИЧ-2), вируса гепатита С (ВГС) и вируса гепатита В (ВГВ). Эти инфекционные агенты передаются с контаминированной кровью или продуктами крови и плазмы, некоторыми жретами организма или тканями, при половом контакте и от инфицированной матери плоду.

ИЧ-1 встречается во всем мире, его распространенность в среднем составляет 1.1% (0.56% в Сев. Америке и 0.25% в .Европе). У инфицированных ВИЧ-1 лиц в течение 3-6 недель после инфицирования может развиваться епродолжительное острое гриппо-подобное заболевание, сопровождающееся высокими уровнями виремии в ериферической крови HIV-1¹. В настоящее время известны две генетических группы ВИЧ-1: группа М (основная) и руппа О (более редкая). Группа М широко распространена и делится на 10 субтипов, встречающихся повсеместно². В тличие от широко распространенной инфекции ВИЧ-1, инфекция ВИЧ-2 встречается преимущественно в Западной ффрике и у лиц, побывавших в этом регионе². ВИЧ-2 реже передается при половом контакте, чем ВИЧ-1. Вероятно, это звязано с более низкими уровнями виремии при первичной и хронической инфекции. Поздняя стадия заболевания (период ысокой вирусной нагрузки) при инфекции ВИЧ-2 также развивается позднее, чем при инфекции ВИЧ-1. В некоторой епени все это может быть объяснять ограниченное распространение ВИЧ-2 по сравнению с ВИЧ-1³. ВГС является этиологическим агентом, вызывающим 90%-95% случаев посттрансфузионного гепатита ни-А ни-В^{4,5}. ВГС распространен повсеместно, однако его распространенность не достаточно изучена, поскольку инфекция обычно бессимптомна. По данным исследований, распространенность ВГС колеблется от 0.5 – 2.0% в З. Европе до 20% в Египте. ВГВ является одним из основных этиологических агентов острого и хронического гепатита, цирроза печени и гепатоклеточной карциномы^{6,7,8}. Около 350 миллионов человек по всему миру, чаще в эндемичных регионах, являются хроническими носителями вируса⁹. Распространенность ВГВ колеблется от < 2% в З. Европе и США до > 8% в странах Азии и Африки¹⁰.

Серологические скрининговые тесты значительно снизили, но не свели к нулю риск передачи вирусных инфекций при переливании крови и ее продуктов. Тестирование доноров цельной крови и плазмы на ВГВ было начато в начале 1970-х с помощью тестов для выявления HBsAg. Кроме ВГВ, рутинное тестирование донорской крови и плазмы проводится на ВИЧ-1, ВИЧ-2 и анти-ВГС в ИФА.

Необходимость повышения стандартов скрининга инфекционных агентов в переливаемых продуктах крови привела к появлению методов тестирования нуклеиновых кислот (ТНК).

Исследования показали, что тестирование вирусных нуклеиновых кислот (РНК ВИЧ-1¹¹⁻¹³, РНК ВГС^{4,12-15} и ДНК ВГВ¹⁶⁻¹⁹) позволяет еще больше снизить риск инфицирования этими агентами через донорскую кровь, полученную от доноров, находящихся в периоде сероконверсионного окна. Длительность данного периода составляет в среднем 22 дня, но может достигать 6 месяцев для ВИЧ-1²⁰. После внедрения ТНК ВИЧ-1 в мини-пулах период окна значительно сократился, и в настоящее время риск инфицирования ВИЧ-1 составляет 1 на 2 миллиона переливаний¹²⁻¹⁴. Внедрение ТНК для выявления РНК ВГС также позволило сократить период серонегативного окна примерно на 60 дней¹²⁻¹⁵, в настоящее время инфицирования ВИЧ-1 составляет 1-2 на 1 миллион переливаний. Рутинный скрининг ТНК для ДНК ВГВ не проводится, однако способен снизить риск посттрансфузионной ВГВ-инфекции^{14,18,19,21}.

Для повышения эффективности тестирования нескольких агентов разработана мультиплексная (MPX) полимеразная цепная реакция (ПЦР), позволяющая одновременно выявлять несколько вирусов. В MPX ПЦР происходит амплификация и детекция нескольких последовательностей-мишеней с использованием нескольких пар праймеров и зондов в одной реакционной пробирке.

Тест cobas TaqScreen MPX является качественным мультиплексным тестом для скрининга и одновременного выявления РНК ВИЧ-1 групп М и О, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ в пулированных и индивидуальных донорских образцах. Для теста cobas TaqScreen MPX используется стандартная схема пробоподготовки в приборе COBAS AmpliPrep. Амплификация и детекция РНК ВИЧ-1 групп М и О, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ проводятся автоматизировано в ПЦР в реальном времени в анализаторе COBAS TaqMan. В постановку включен внутренний контроль для мониторинга качества постановки в каждом отдельном тесте, а также фермент AmpErase для предотвращения контаминации продуктами предыдущих амплификаций (ампликонами). Тест cobas TaqScreen MPX не позволяет определить, какой именно вирус был выявлен в образце. Для дифференцированного определения ВИЧ-1 группы М, ВГС и ВГВ используются тесты COBAS AmpliScreen HBV Test, COBAS AmpliScreen HCV Test, v2.0 и COBAS AmpliScreen HIV-1 Test, v1.5. Roche не производит тестов для дифференцированного определения ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2.

Принцип постановки

Тест cobas TaqScreen MPX, используемый для системы cobas s 201, состоит из 4 основных процедур:

1. Автоматизированное пулирование образцов и внесение контролей с помощью дозатора HAMILTON Microlab® STAR IVD
2. Автоматизированная обработка образцов в приборе COBAS AmpliPrep
3. Автоматизированная амплификация нуклеиновых кислот и детекция продуктов ПЦР в реальном времени в анализаторе COBAS TaqMan
4. Автоматизированный анализ результатов с помощью программы PDM (Pooling and Data Management)

Автоматизированное пулирование образцов с помощью дозатора HAMILTON Microlab STAR IVD

Дозатор HAMILTON Microlab STAR автоматически раскапывает пули и индивидуальные образцы, переносит аликвоты в архивные плашки и вносит контроли теста. Система cobas s 201 используется для выделения индивидуальных составляющих образцов в реактивном пуле. Система cobas s 201 создана для работы с сериями образцов. Серия – это набор образцов и контролей, которые раскапываются, выделяются и тестируются вместе. После завершения раскапывания серии в дозаторе HAMILTON STAR, полный штатив образцов переносится в прибор COBAS AmpliPrep для следующего этапа постановки.

Автоматизированная обработка образцов в приборе COBAS AmpliPrep

Нуклеиновые кислоты мишеней и молекулы защищенной РНК внутреннего контроля (ВК) (служащие контролем обработки образца и амплификации/детекции) выделяются одновременно. В состав набора cobas TaqScreen MPX входят реагенты для 5 последовательных этапов выделения в приборе COBAS AmpliPrep. Раствор протеазы расщепляет белки, в результате происходит лизис, инактивация нуклеаз и высвобождение РНК и ДНК из вирусных. Внесение лизирующего реагента в образец приводит к лизису вирусных частиц и инактивации нуклеаз за счет денатурации белков. РНК и ДНК высвобождаются и остаются защищенными от действия нуклеаз. Высвободившиеся нуклеиновые кислоты связываются с кремниевой поверхностью добавленных в образец магнитных стеклянных частиц. Связывание происходит благодаря позитивному заряду стеклянной поверхности частицы и отрицательному заряду нуклеиновых кислот в условиях хаотропной концентрации солей и ионной силы лизирующего реагента. Промывочный реагент удаляет несвязавшиеся молекулы – денатурированные белки, клеточный осадок и потенциальные ингибиторы ПЦР (например, гемоглобин) и снижает концентрацию солей. Очищенные нуклеиновые кислоты освобождаются из магнитных стеклянных частиц в буфере для элюции при нагревании.

Автоматизированная амплификация нуклеиновых кислот в анализаторе COBAS TaqMan

После выделения нуклеиновых кислот из плазмы при автоматизированной обработке образцов, мастермикс (MMX) cobas TaqScreen MPX используется для амплификации и детекции РНК ВИЧ-1 (групп М и О), ВИЧ-2 и ВГС, ДНК ВГВ и РНК ВК. После активации при внесении ацетата марганца, мастермикс cobas TaqScreen MPX обеспечивает проведение обратной транскрипции (для РНК-мишеней) и последующей ПЦР-амплификации высококонсервативных участков РНК ВИЧ-1 (групп М и О), ВИЧ-2 и ВГС, ДНК ВГВ и РНК ВК с использованием специфичных праймеров. Конкурентная детекция амплифицированных нуклеиновых кислот осуществляется благодаря флуоресцентным сигналам, возникающим при 5'-нуклеазной деградации присутствующих в мастермиксе зондов, специфичных для ВИЧ-1 (групп М и О), ВИЧ-2, ВГС, ВГВ и ВК. Используются два флуоресцентных красителя: одним мечены зонды для ВК, другим – все зонды для мишеней, что позволяет одновременно выявлять несколько вирусных мишеней и независимо выявлять ВК.

Обратная транскрипция и ПЦР-амплификация

Реакции обратной транскрипции и амплификации осуществляются с помощью термостабильного рекомбинантного фермента, ДНК-полимеразы Z05. В присутствии ионов марганца (Mn^{2+}) ДНК-полимераза Z05 обладает активностью обратной транскриптазы и ДНК-полимеразы. Это позволяет проводить обратную транскрипцию и ПЦР в одной реакционной смеси.

Амплификация в ПЦР осуществляется ДНК-полимеразой Z05, удлиняющей севшие на мишень праймеры комплементарно матрице мишени, в результате этого образуется двуцепочечная ДНК (ампликон). Этот процесс

повторяется много циклов, в каждом цикле реакции происходит удваивание числа ампликонов. Амплифицируется только участок генома мишени, ограниченный праймерами; весь геном не амплифицируется.

Избирательная амплификация

Избирательная амплификация нуклеиновой кислоты мишени из выделенного образца в тесте **cobas TaqScreen MPX** обеспечивается использованием фермента **AmpErase** (урацил-N-гликозилазы) и дезоксиуридин трифосфата (**dUTP**). Фермент **AmpErase** распознает и катализирует разрушение цепей ДНК, содержащих дезоксиуридин²², но не ДНК, содержащей дезокситимидин, и РНК, содержащей рибоуридин^{23,24}. Дезоксиуридин отсутствует в природной ДНК, но всегда содержится в ампликонах, поскольку дезоксиуридин трифосфат используется вместо тимидин трифосфата как один из **dNTPs** мастермикса; поэтому дезоксиуридин содержится только в ампликонах. Дезоксиуридин делает ампликоны восприимчивыми к деградации ферментом **AmpErase** до начала амплификации ДНК-мишени. Фермент **AmpErase** также разрушает все неспецифичные продукты, образовавшиеся после активирования мастермикса при внесении марганца. Фермент **AmpErase**, содержащийся в мастермиксе, катализирует расщепление содержащей дезоксиуридин ДНК по дезоксиуридиновым основаниям, открывая дезоксирибозную цепь в **C1**-позиции. После нагревания на первом этапе цикла, цепь ДНК ампликона разрывается в месте расположения дезоксиуридина, в результате ДНК не может амплифицироваться. Фермент **AmpErase** остается неактивным в течение долгого времени после нагревания до температуры выше **55°C**, и поэтому не разрушает ампликоны мишени, полученные в ПЦР.

Автоматизированная детекция продуктов ПЦР в реальном времени в анализаторе COBAS TaqMan

Во время амплификации в ПЦР при периодическом нагревании происходит денатурация ампликонов мишени и ВК, в результате образуются одноцепочечные ДНК. Специфичные детекционные олигонуклеотидные зонды гибридизуются с одноцепочечными молекулами ДНК ампликонов. Амплификация, гибридизация и детекция происходят одновременно.

Детекция продуктов ПЦР^{25,26}

Мастермикс **cobas TaqScreen MPX** содержит детекционные зонды, специфичные для ВИЧ-1 (групп М и О), ВИЧ-2, ВГС, ВГВ и ВК. Каждый детекционный зонд мечен 1) одним из двух флуоресцентных красителей, действующим как репортер и 2) другим красителем, действующим как гаситель. Одним специфичным репортерным красителем мечены все зонды, специфичные для вирусных мишеней, его сигнал измеряется при определенной длине волны. Вторым репортерным красителем мечены зонды, специфичные для ВК, его сигнал измеряется при другой длине волны. В качестве гасителя во всех зондах используется один и тот же краситель. Такая система позволяет выявлять все амплифицированные вирусные мишени при одной длине волны и одновременно выявлять амплифицированный ВК при другой длине волны.

До начала амплификации в ПЦР зонды интактны и флуоресценция репортерного красителя подавляется гасящим красителем вследствие эффекта переноса энергии Форстера. Во время ПЦР зонды гибридизуются со специфичными одноцепочечными ДНК и разрушаются во время амплификации благодаря 5' —нуклеазной активности ДНК-полимеразы **Z05**. В результате разрушения зонда репортерный и гасящий красители разделяются, и флуоресцентная активность репортерного красителя более не подавляется. С каждым циклом ПЦР образуется все большее число разрушенных зондов, и накапливающийся сигнал репортерного красителя постоянно возрастает.

Детекция продуктов ПЦР в реальном времени осуществляется за счет независимого измерения флуоресценции освободившихся репортерных красителей, соответствующих вирусным мишеням и ВК.

Автоматизированный анализ результатов с помощью программы PDM

Программа **Roche PDM Data Manager** позволяет пользователю просматривать и представлять результаты. Программа **Roche PDM Data Manager** представляет результат теста для всех постановок следующим образом - нереактивный, реактивный, или не действительный. Кроме восстановления и просмотра результатов ПЦР, программа **Roche PDM Data Manager** позволяет оператору распечатывать отчеты, проводить поиск результатов, принимать результаты, полученные для доноров и при необходимости отсылать результаты по внутрिलाбораторной компьютерной сети.

Материалы, предоставляемые ROCHE

Для детекции РНК ВИЧ-1 (групп М и О), ВИЧ-2, ВГС и ДНК ВГ в образцах плазмы необходимы и предоставляются три набора: 1) Тест **cobas TaqScreen MPX**, 2) Набор контролей **cobas TaqScreen MPX**, и 3) Промывочный реагент **cobas TaqScreen**. Сведения по безопасности данных материалов могут быть получены по запросу в местном представительстве Roche.

Тест **cobas TaqScreen MPX**

(P/N: 04584244 190)

MPX

96 Tests

MPX CS1

(Кассета с магнитными стеклянными частицами)

MPX CS2

(Кассета с лизирующим реагентом)

MPX CS3

(Мульти-реагентная кассета MPX)

MPX CS4

(Кассета тест-специфичных реагентов MPX)

Набор контролей **cobas TaqScreen MPX**

(P/N: 04626290 190)

MPX CTL

6 Sets

HIV-1 M (+) C

(HIV-1 M позитивный контроль)

HIV-1 O (+) C

(HIV-1 O позитивный контроль)

HIV-2 (+) C

(HIV-2 позитивный контроль)

HCV (+) C

(HCV позитивны контроль)

HBV (+) C

(HBV позитивный контроль)

TS (-) C

[**cobas TaqScreen** негативный контроль (человеческая плазма)]

Промывочный реагент **cobas TaqScreen**

(P/N: 04404220 190)

TS WR

5.1 L

TS WR

(промывочный реагент **cobas TaqScreen**)

Другие необходимые материалы, приобретаемые отдельно (могут быть приобретены в ROCHE)

Постановка данного теста должна проводиться в системе **cobas s 201**. Система **cobas s 201** должна устанавливаться и использоваться как единая закрытая система. Отдельные компоненты **cobas s 201** не могут использоваться как отдельное оборудование или заменяться на другие компоненты. Входящие в состав системы **cobas s 201** компоненты перечислены ниже.

Приборы и программное обеспечение системы **cobas s 201**

- Дозатор HAMILTON Microlab STAR IVD, рабочая станция и программное обеспечение
- Прибор COBAS AmpliPrep
- Анализатор COBAS TaqMan
- Станция и программа AMPLILINK
- Сервер Roche PDM Data Manager, станция и программное обеспечение

Штативы и расходные материалы

- Штативы для образцов COBAS AmpliPrep (SK24) (P/N: 28122172001)
- Штативы SPU COBAS AmpliPrep (P/N: 28122806001)
- Штативы для реагентов COBAS AmpliPrep (P/N: 28122199001)
- Элементы для обработки образцов (SPU): (P/N: 03755525001)
- Входящие пробирки для образцов (S-пробирки) со штрих-кодowymi клипсами (P/N: 03137040001)
- Штативы К-наконечников (P/N: 03287343001)

Упаковка К-пробирок 12x96 (P/N: 03137082001)
 К-платформа COBAS TaqMan (P/N: 28150397001)
 Наконечники CO-RE (1000 µL), filter (P/N: 04639642001)
 Архивные плашки со штрих-кодовой маркировкой (P/N: 04639634001)
 Крышки для архивных плашек (P/N: 04789288001)
 Подставка на 24 тест-пробирки (P/N: 04639502001)
 Подставка на 32 тест-пробирки (P/N: 04639529001)
 Подставка для наконечника (P/N: 04639545001)
 Подставка для архивной плашки (P/N: 04639553001)
 Подставка для штатива SK24 (P/N: 04639600001)
 Дезинфицирующий спрей Microcide SQ™ или HAMILTON (P/N: 04864425001)
 Одноразовые перчатки, без талька

Реагенты

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



96 тестов

MPX CSI

2 x 48 тестов

2 x 7.0 мл

MGP

(Магнитные стеклянные частицы)

Магнитные стеклянные частицы

93% Изопропанол

Xi 93% (w/w) изопропанол



Осторожно

F 93% (w/w) изопропанол



Пожароопасно

MPX CS2

2 x 48 тестов

2 x 78 мл

LYS

(Лизирующий реагент)

Дигидрат цитрата натрия

42.5% гуанидин тиоцианат

< 14% полидоканол

0.9% дитиотрейтол

Xn 42.5% (w/w) гуанидин тиоцианат



Осторожно

MPX CS3

2 x 48 тестов

2 x 3.8 мл

Pase

(Раствор протеиназы)

TRIS буфер

< 0.05% ЭДТА

Хлорид кальция

Ацетат кальция

≤ 7.8% протеиназы

Глицерин

Xn 7.8% (w/w) Протеиназа



Осторожно

ЕВ 2 x 7.0 мл
(Буфер для элюции)
TRIS буфер
0.2% Метилпарабен

MPX CS4 2 x 48 тестов

MPX MMX-R1
(MPX реагент 1 мастермикса) 2 x 3.0 мл

TRIS буфер
Ацетат калия
Ацетат марганца
Глицерол
Бетаин
0.08% азид натрия

MPX MMX-R2
(MPX реагент 2 мастермикса) 2 x 2.5 мл

Трициновый буфер
Хлорид калия
Гидроксид калия
< 21% диметил сульфоксид
Глицерин
ЭДТА
Твин 20
Игепал СА630
< 0.09% dATP, dGTP, dCTP, dUTP, dTTP
< 0.01% прямые и обратные праймеры для ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2, ВГС, ВГВ
< 0.01% меченые флуоресцентными красителями зонды для ВИЧ-1, ВИЧ-2, ВГС, ВГВ
< 0.01% меченые флуоресцентными красителями зонды для внутреннего контроля (ВК)
< 0.01% олигонуклеотидный аптамер
< 0.07% ДНК-полимераза Z05 (бактериальная)
< 0.4% фермент AmpErase [урацил-N-гликозилаза] (бактериальный)
0.08% азид натрия

MPX IC 2 x 15 мл
(Внутренний контроль MPX)

TRIS буфер
≤ 0.002% Поли rA РНК (синтетическая)
ЭДТА
0.05% азид натрия
< 0.001% Неинфекционная, синтетическая РНК внутреннего контроля
в защитной оболочке бактериофага MS2

Набор контролей cobas TaqScreen MPX
(P/N: 04626290 190)

MPX CTL

6 наборов

HIV-1 M (+) C

(HIV-1 M позитивный контроль)

6 x 1.6 мл

< 0.001% неинфекционная, синтетическая РНК ВИЧ-1 группы М
в защитной оболочке бактериофага MS2.
Негативная человеческая плазма, нереактивная в лицензированных средствах
по антителам к ВГС, антителам к ВИЧ-1/2 и HBsAg;
РНК ВИЧ-1, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ не выявляются в ПЦР
0.1% ProClin 300

Xi  (3:1) сочетание 5-хлор-2-метил-2Н-изотиазол-3-один
и 2-метил-2Н-изотиазол-3-один

Осторожно

R43: может вызывать раздражение при попадании на кожу
(HIV-1 О позитивный контроль) 6 x 1.6 мл

< 0.001% неинфекционная, синтетическая РНК ВИЧ-1 группы О
в защитной оболочке бактериофага MS2.

Негативная человеческая плазма, нереактивная в лицензированных средствах
по антителам к ВГС, антителам к ВИЧ-1/2 и HBsAg;

РНК ВИЧ-1, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ не выявляются в ПЦР

0.1% ProClin 300

Xi  (3:1) сочетание 5-хлор-2-метил-2Н-изотиазол-3-один
и 2-метил-2Н-изотиазол-3-один

Осторожно

R43: может вызывать раздражение при попадании на кожу

HIV-2 (+) С

(HIV-2 позитивный контроль) 6 x 1.6 мл

< 0.001% неинфекционная, синтетическая РНК ВИЧ-2
в защитной оболочке бактериофага MS2.

Негативная человеческая плазма, нереактивная в лицензированных средствах
по антителам к ВГС, антителам к ВИЧ-1/2 и HBsAg;

РНК ВИЧ-1, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ не выявляются в ПЦР

0.1% ProClin 300

Xi  (3:1) сочетание 5-хлор-2-метил-2Н-изотиазол-3-один
и 2-метил-2Н-изотиазол-3-один

Осторожно

R43: может вызывать раздражение при попадании на кожу

HCV (+) С

(ВГС позитивный контроль) 6 x 1.6 мл

< 0.001% неинфекционная, синтетическая РНК ВГС
в защитной оболочке бактериофага MS2.

Негативная человеческая плазма, нереактивная в лицензированных средствах
по антителам к ВГС, антителам к ВИЧ-1/2 и HBsAg;

РНК ВИЧ-1, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ не выявляются в ПЦР

0.1% ProClin 300

Xi  (3:1) сочетание 5-хлор-2-метил-2Н-изотиазол-3-один
и 2-метил-2Н-изотиазол-3-один

Осторожно

R43: может вызывать раздражение при попадании на кожу

HBV (+) С

(ВГВ позитивный контроль) 6 x 1.6 мл

< 0.001% неинфекционная, синтетическая ДНК ВГВ
в защитной оболочке бактериофага лямбда.

Негативная человеческая плазма, нереактивная в лицензированных средствах
по антителам к ВГС, антителам к ВИЧ-1/2 и HBsAg;

РНК ВИЧ-1, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ не выявляются в ПЦР

0.1% ProClin 300

Xi  (3:1) сочетание 5-хлор-2-метил-2Н-изотиазол-3-один
и 2-метил-2Н-изотиазол-3-один

Осторожно

R43: может вызывать раздражение при попадании на кожу

TS (-) C

(Негативный контроль cobas TaqScreen)

6 x 1.6 мл

Негативная человеческая плазма, нереактивная в лицензированных средствах по антителам к ВГС, антителам к ВИЧ-1/2 и HBsAg;

РНК ВИЧ-1, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ не выявляются в ПЦР

0.1% ProClin 300

Xi  (3:1) сочетание 5-хлор-2-метил-2Н-изотиазол-3-один и 2-метил-2Н-изотиазол-3-один

Осторожно

R43: может вызывать раздражение при попадании на кожу

Промывочный реагент cobas TaqScreen

(P/N: 04404220 190)

TS WR

5.1 л

TS WR

(Промывочный реагент cobas TaqScreen)

Дигидрат цитрата натрия

0.1% метилпарабен

Требования по хранению и работе с набором

А. Комнатная температура составляет 15 - 30°C.

Б. Не замораживайте реагенты или контроли.

В. Храните **MPX CS1**, **MPX CS2**, **MPX CS3** и **MPX CS4** при 2 - 8°C. Эти реагенты стабильны до истечения указанного срока годности.

Г. После начала использования реагенты стабильны в течение 30 дней при 2 - 8°C или до истечения срока годности, если оно наступает раньше.

Д. Реагентов достаточно до 6 постановок в приборе, что составляет до 30 часов работы прибора COBAS AmpliPrep. В перерыве между работой реагенты должны храниться при 2 - 8°C.

Е. Реагенты стабильны в течение 24 часов непрерывной работы прибора COBAS AmpliPrep.

Ж. Храните **HIV-1 М (+) С**, **HIV-1 О (+) С**, **HIV-2 (+) С**, **HCV (+) С**, **HBV (+) С** и **TS (-) С** при 2 - 8°C. Контроли стабильны до истечения указанного срока годности. После открытия пробирки неиспользованную порцию необходимо выбросить.

З. Храните **TS WR** при 15 - 30°C. Неоткрытый **TS WR** стабилен до истечения указанного срока годности. После открытия данный реагент стабилен в течение 30 дней при температуре 15 - 30°C или до истечения срока годности, если оно наступает раньше.

Требования безопасности

Для диагностики *IN VITRO*.

А. Образцы могут быть инфекционными. Соблюдайте Общие Требования Безопасности при постановке теста^{27,28}. Данную постановку могут выполнять только сотрудники, имеющие опыт работы с тестом cobas TaqScreen MPX и прошедшие обучение работе с инфекционным материалом. Тщательно очищайте и дезинфицируйте все лабораторные рабочие поверхности свежеприготовленным 0.5% раствором гипохлорита натрия в дисиллированной или деионизованной воде, после этого протирайте поверхности 70% этанолом.

Б. Осторожно: **HIV-1 М (+) С**, **HIV-1 О (+) С**, **HIV-2 (+) С**, **HCV (+) С**, **HBV (+) С** и **TS (-) С** содержат человеческую плазму, полученную из крови человека. Исходный материал тестировался и нереактивен по антителам к ВИЧ-1/2, антителам к HCV, и HBsAg. Исходный материал также тестировался в cobas TaqScreen MPX. При тестировании негативной человеческой плазмы в ПЦР не выявлены РНК ВИЧ -1 (групп М и О), РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ. Ни один из существующих методов не дают полной гарантии отсутствия инфекционных агентов в продуктах крови человека. Все материалы, полученные из крови человека должны рассматриваться как потенциально инфекционные, при работе с которыми необходимо соблюдать Общие Требования Безопасности. При разлинии материала немедленно дезинфицируйте поверхность свежим 0.5% раствором гипохлорита натрия или следуйте установленным предписаниям.

Соблюдайте стандартные лабораторные меры безопасности. Не пипетируйте ртом. В рабочих зонах лаборатории запрещено есть, пить, курить. При работе с образцами и реагентами набора пользуйтесь одноразовыми перчатками, лабораторными халатами и защитой для глаз. После работы с образцами и реагентами набора тщательно мойте руки.

MPX MMX-R1, MPX MMX-R2 и MPX IC содержат в качестве консерванта азид натрия. Не пользуйтесь металлическими емкостями для переноса этих реактивов. При сливе растворов, содержащих азид, в канализацию, их необходимо смывать большим количеством воды, во избежание накопления азидов в металлических трубах и опасности взрыва.

Показано, что гепарин ингибирует ПЦР. Не используйте гепаринизированную плазму в данной постановке.

Рекомендуется использование в работе стерильных одноразовых пипеток и свободных от нуклеаз кончикников. Перекрестная контаминация вследствие неосторожной работы с образцами может привести к ложноположительным результатам теста.

Для оптимального выполнения теста пользуйтесь только прилагаемыми к набору или рекомендованными исходными материалами.

Соблюдайте правила работы в лаборатории при обработке образцов и контролей для предотвращения перекрестной контаминации.

Перед началом работы визуально осмотрите каждую кассету реагентов, пробирки контролей и промывочный реагент, убедитесь в отсутствии протекания. При следах протекания не используйте этот материал в постановке.

Утилизируйте все материалы, контактировавшие с образцами и реагентами в соответствии с государственными, федеральными и местными правилами.

Не используйте набор **cobas TaqScreen MPX Test**, набор контролей **cobas TaqScreen MPX** или промывочный реагент **cobas TaqScreen** после истечения срока годности. Не заменяйте, не смешивайте и не сочетайте реагенты из разных наборов или разных серий. Не загружайте реагенты разных серий в прибор **COBAS AmpliPrep**.

Сведения по безопасности материалов могут быть получены по запросу в местном представительстве Roche.

Избегайте попадания реагентов на кожу, в глаза или на слизистую. При попадании немедленно смойте большим количеством воды, в противном случае может произойти ожог. При разлитии реагентов смойте их водой, прежде чем вытирать. Не допускайте контакта **LYS**, содержащего гуанидин тиоцианат, с раствором гипохлората натрия. При их смешивании может выделяться токсичный газ.

Внимательно следуйте инструкции для правильного выполнения постановки. Любое отхождение от инструкции может приводить к нарушению выполнения теста.

Избегайте использования гемолизированных образцов.

Контаминация образцов плазмы красными клетками крови (> 2.5%) может ингибировать тест **cobas**

TaqScreen MPX.

Не используйте ни на каком этапе постановки компоненты с поврежденными штрих-кодами маркировки.

Подготовка реагентов

А. Перед началом работы оставьте набор контролей **cobas TaqScreen MPX** при комнатной температуре на 30 минут. Поместите реагенты **cobas TaqScreen MPX Test** за 30 минут до начала работы в прибор **COBAS AmpliPrep**.

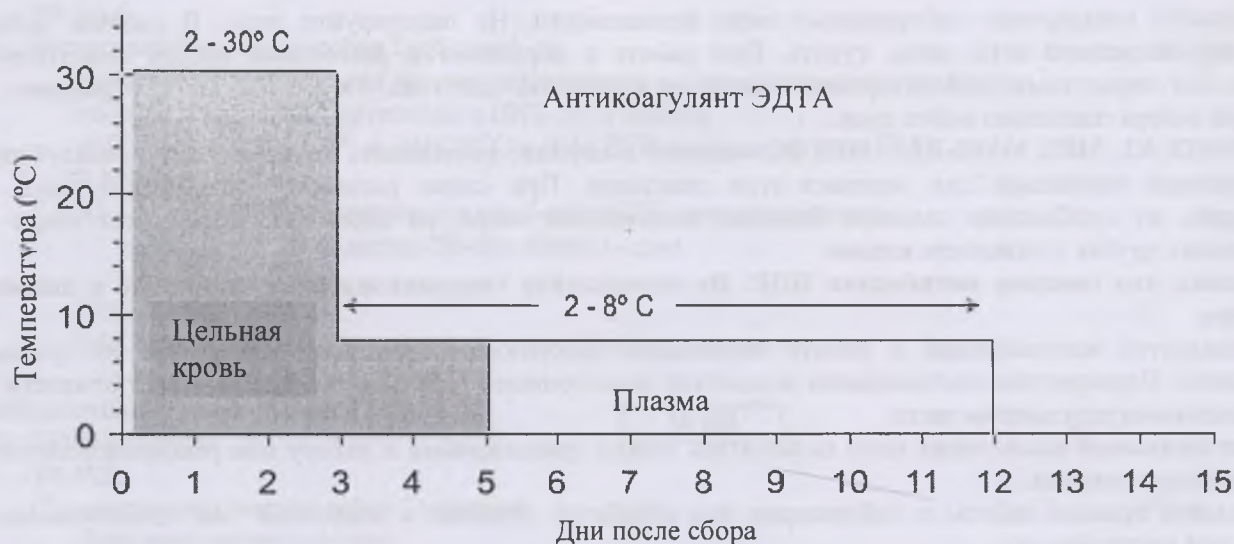
Сбор образцов, хранение и пулирование

Внимание: Все образцы необходимо рассматривать как потенциально опасные.

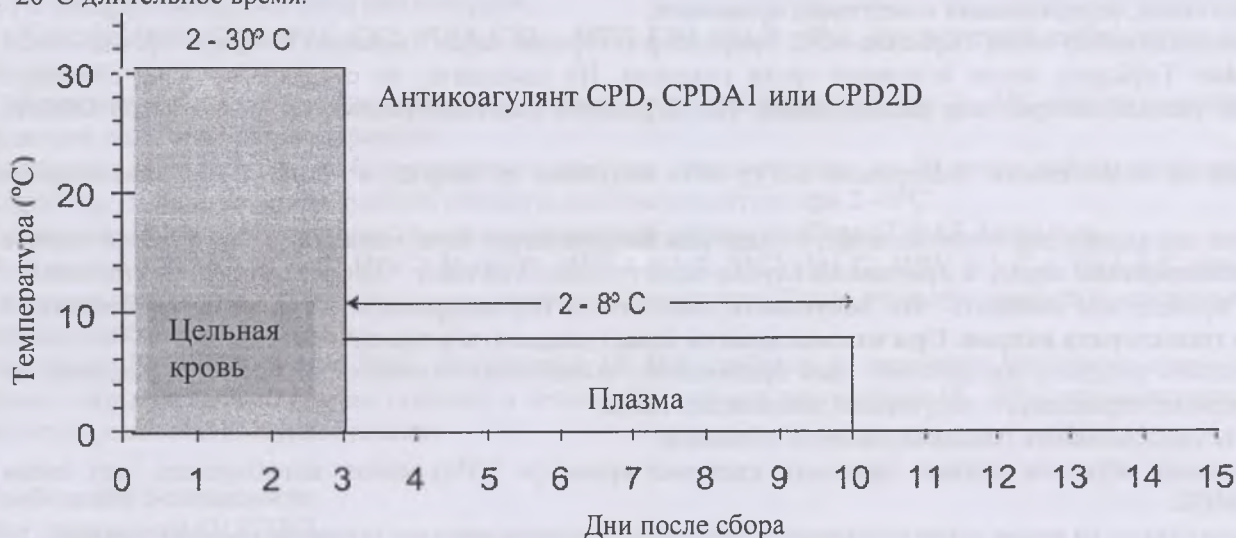
А. Для постановки в тесте **cobas TaqScreen MPX** используются образцы плазмы, собранные с ЭДТА, CPD, CPDA1, CP2D, ACDA и 4% цитратом натрия.

Следуйте инструкциям производителя пробирок для образцов.

Б. Кровь собранная с ЭДТА может храниться при 2 – 30°C до 72 часов со времени сбора, после этого может храниться еще два дня при 2 – 8°C. Для хранения более пяти дней отделите плазму от красных клеток крови центрифугированием при 800 – 1,600 x g в течение 20 минут. После отделения плазмы она может храниться при 2 – 8°C еще семь дней. Также плазма может храниться при ≤ -20°C длительное время.



В. Кровь собранная с CPD, CPDA1 или CPD2D может храниться до 72 часов при 2 – 30°C до отделения плазмы. После центрифугирования образцов с CPD, CPDA1 или CPD2D при 800 – 1,600 x g в течение 20 минут, плазма может храниться еще семь дней при 2 – 8°C. Отделенная от красных клеток крови плазма может храниться при $\leq -20^{\circ}\text{C}$ длительное время.



Г. Аферезная плазма с ACDA или 4% цитратом натрия в качестве антикоагулянта может храниться до 72 часов после забора крови при 2 – 30°C, или более длительное время при $\leq -20^{\circ}\text{C}$.

Д. Приведенные ниже рекомендации по объему плазмы основаны на раскалывании из 13 x 100 мм стеклянных или пластиковых донорских пробирок в дозаторе HAMILTON STAR.

Данные объемы приведены для плазмы, расположенной над отделенными красными клетками крови, предназначенной для постановки в тесте cobas TaqScreen MPX.

Тип пула	Минимальный объем плазмы
Первичный пул из 6*	3 мл
Первичный пул из 1*	3 мл
Повторный пул из пробирки	1,5 мл
Разбираемый пул из пробирки	2 мл
Повторно реактивный	3 мл

* Включает создание архивной плашки

Ж. Не замораживайте цельную кровь.

К. Показано, что гепарин ингибирует ПЦР. Использование гепаринизированных образцов не рекомендуется.

Л. Закрытые архивные плашки могут храниться при 2 – 8 °С до семи дней после отделения плазмы от красных клеток крови.

М. Три цикла замораживания/оттаивания не оказывают влияния на результат теста.

Н. Перед началом работы доведите пулированные или индивидуальные образцы до комнатной температуры.

О. Пользователь должен проверить прочие условия сбора и хранения образцов. Если образцы подлежат транспортировке, они должны быть упакованы и промаркированы в соответствии с федеральными и международными правилами транспортировки образцов и этиологических агентов.²⁹

П. Ложнопозитивные результаты могут быть получены из-за перекрестной контаминации образцов во время сбора и обработки образцов.

Р. Пулирование и раскапывание образцов

1. В системе **cobas s 201 System** для раскапывания и пулирования используется дозатор **HAMILTON Microlab STAR IVD**. **HAMILTON STAR** считывает штрих-коды и проводит пулирование равных объемов образцов.

2. Если в тесте **cobas TaqScreen MPX** выявлены реактивные пулы, **HAMILTON STAR** раскапывает индивидуальные образцы из архивных плашек или исходных пробирок с образцами для нового тестирования.

Примечания к постановке

А. Оборудование

1. Подготовьте систему **cobas s 201** к работе в соответствии с инструкциями в *Руководстве пользователя*.

2. Выполните необходимые сервисные действия для приборов.

Б. Реагенты

1. Реагенты теста **cobas TaqScreen MPX** необходимо поместить за 30 минут до начала работы в прибор **COBAS AmpliPrep**. Набор контролей **cobas TaqScreen MPX** и промывочный реагент **cobas TaqScreen** необходимо довести до комнатной температуры перед началом работы. См. условия хранения реагентов в разделе *Требования по хранению и работе с набором*.

2. Каждый набор теста **cobas TaqScreen MPX** содержит реагенты, рассчитанные на проведение 96 тестов.

3. Все контроли предназначены для однократного использования.

4. Система не допускает использования реагентов из разных серий, а также превысивших число постановок или время пребывания загруженными в приборе, реагентов с истекшим сроком годности, и кассет из разных наборов.

В. Обработка образцов

1. Избегайте контаминирования перчаток при работе с образцами и контролями.

2. Не допускайте контаминации образцов и контроля **TS (-)** позитивными контролями.

Г. Разделяющее тестирование

1. До проведения разделяющего тестирования убедитесь, что образец выявлен в пуле с прошедшей постановкой, а также что прошла постановка теста **cobas TaqScreen MPX** для индивидуального образца. Этот реактивный индивидуальный образец может быть протестирован в тестах **COBAS AmpliScreen HBV Test**, **COBAS AmpliScreen HCV Test, v2.0** и **COBAS AmpliScreen HIV-1 Test, v1.5**. Могут потребоваться дополнительные тесты для выявления ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2. Roche не предоставляет разделяющих тестов для выявления ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2.

2. См. описание постановок разделяющих тестов во вкладышах к наборам **COBAS AmpliScreen HBV Test**, **COBAS AmpliScreen HCV Test, v2.0** и **COBAS AmpliScreen HIV-1 Test, v1.5**.

Инструкции по постановке теста

Постановка в системе **cobas s 201** включает в себя четыре этапа: раскапывание образцов и контролей в дозаторе **HAMILTON STAR**, обработка образцов в приборе **COBAS AmpliPrep** с использованием теста **cobas TaqScreen Multiplex (MPX)**, Амплификация/Детекция в анализаторе **COBAS TaqMan** и анализ результатов.

Каждый набор теста **cobas TaqScreen MPX** содержит восемь кассет: две кассеты **MPX CS1** с магнитными частицами, две кассеты **MPX CS2** с лизирующим реагентом, две кассеты **MPX CS3** с протеазой и буфером для элюции, и две кассеты **MPX CS4** с ВК, реагентом 1 MMX и реагентом 2 MMX. Этот набор предназначен для

использования вместе с набором контролей **cobas TaqScreen MPX** и промывочным реагентом **cobas TaqScreen MPX**.

Не открывайте кассеты. Не смешивайте реагенты из разных серий или разных флаконов одной серии. Не смешивайте реагенты (в том числе кассеты) из разных наборов. Не загружайте реагенты разных серий в прибор COBAS AmpliPrep. Не вынимайте пробирки контролей из адаптеров.

Проводите все необходимые сервисные действия согласно *Руководству пользователя*.

См. Подробные инструкции по эксплуатации в *Руководстве пользователя cobas s 201*.

А. Раскапывание контролей и образцов в дозаторе HAMILTON STAR

Внимание: Избегайте контаминирования перчаток при работе с контролями и образцами.

Внимание: Не перемешивайте контроли на вортексе.

1. Включите дозатор HAMILTON Microlab STAR IVD, запустите руководство по пулированию (Pooling Wizard) Roche PDM следуя инструкциям на экране.

2. Соблюдайте осторожность, чтобы не повредить штрих-коды на образцах и контролях.

3. Загрузите образцы, расходные материалы и контроли в дозатор HAMILTON Microlab STAR IVD. После завершения загрузки прибор перенесет образцы и контроли в S-пробирки.

4. После завершения раскапывания, просмотрите сигнальные значки, распечатайте отчет(-ы) о пулировании. Осмотрите пули и лунки архивных плашек. Негодными являются пули и/или лунки, контаминированные красными клетками крови или содержащие недостаточный объем.

5. Закройте S-пробирки и перенесите штатив(-ы) SK24 в прибор COBAS AmpliPrep для выделения нуклеиновых кислот.

6. Закройте и поместите на хранение архивные плашки (если плашки были созданы при раскапывании).

7. Закройте и храните донорские пробирки. См. Описание условий хранения в разделе “Сбор, хранение и пулирование образцов”.

8. Удалите и выбросьте пробирки контролей. (Пробирки с контролями предназначены для однократного использования.)

Б. Подготовка и загрузка реагентов теста cobas TaqScreen MPX

Внимание: Соблюдайте осторожность, чтобы не повредить маркировку кассет. Сканер штрих-кода прибора COBAS AmpliPrep автоматически считывает штрих-коды кассет при загрузке штативов реагентов в прибор.

1. Поместите реагенты в прибор COBAS AmpliPrep за 30 минут до начала обработки первого образца. Более никакой подготовки не требуется.

2. Перед запуском убедитесь, что загружено количество кассет, достаточное для обработки всех образцов во время непрерывной работы прибора COBAS AmpliPrep. В каждой кассете содержатся реагенты на 48 тестов. См. Сведения о загрузке реагентов во время непрерывной работы прибора в *Руководстве пользователя Системы cobas s 201*.

3. Поместите кассету **MPX CS1** в штатив реагентов, убедитесь, что штрих-код кассеты находится на одном уровне со штрих-кодом штатива, расположенным справа на штативе. Кассеты **MPX CS1** должны быть загружены все вместе на один штатив, отдельно от остальных кассет.

4. Загрузите штатив реагентов, содержащий **MPX CS1**, в позицию для штатива А, задвиньте его до первого упора в прибор COBAS AmpliPrep, дождитесь, пока соответствующий штативу реагентов индикатор не загорится зеленым светом, и затем задвиньте штатив до конца. Не загружайте реагенты разных серий в прибор.

5. Поместите в штатив(-ы) реагентов по одному набору кассет **MPX CS2**, **MPX CS3** и **MPX CS4** для каждой кассеты **MPX CS1**, убедитесь, что штрих-код кассет находится на одном уровне со штрих-кодом штатива, расположенным справа на штативе.

6. Загрузите штатив(-ы) реагентов в позиции штативов В, С, D или Е, дождитесь, пока соответствующий штативу реагентов индикатор не загорится зеленым светом, и затем задвиньте штатив до конца.

7. Индикаторы на панели состояния прибора COBAS AmpliPrep загорятся зеленым светом после того, как все компоненты набора будут загружены и узнаны системой.

В. Выделение нуклеиновых кислот из внесенных образцов и контролей

Внимание: Следующие этапы выполняются на чистой поверхности стола.

1. Удалите целлофановую упаковку с элементов обработки образцов (SPU), оставьте синюю пленку не нарушенной.

2. Вставьте элементы обработки образцов (SPU) справа в штатив SPU символом ROCHE к передней части штатива.

3. Снимите синюю пленку и убедитесь, что все SPU сидят в штативе. Не полностью вставленный SPU может повредить прибор. Не давите на S-наконечник SPU.
4. Задвиньте штативы SPU в позиции I, J или K прибора COBAS AmpliPrep полностью, система должна распознать штативы. В прибор одновременно могут помещаться до 72 SPU. Загружайте число SPU, необходимое для постановки.
5. Снимите целлофановую упаковку с заводских штативов К-пробирок и К-наконечников. Убедитесь, что наконечники и пробирки расположены в штативах правильно.
6. Вставьте штативы К-пробирок и К-наконечников в позиции, указанные в *Руководстве пользователя*.
7. Создайте назначения в программе AMPLILINK.
8. Загрузите штативы SK24 с внесенными в HAMILTON Microlab STAR образцами и контролями в позиции F, G или H прибора COBAS AmpliPrep. Задвиньте штативы, пока они не заблокируются. Проверьте состояние системы в окне Sample, убедитесь, что все образцы в штативе распознаны системой.
9. Проверьте в программе AMPLILINK, что необходимые для данной обработки образцов реагенты и расходные материалы загружены.
10. Нажмите Start в рабочей станции программы AMPLILINK, чтобы запустить обработку образцов в приборе COBAS AmpliPrep.
11. Все неиспользованные К-наконечники и К-пробирки останутся заблокированными в приборе COBAS AmpliPrep для последующих постановок.

Г. Амплификация и детекция

1. Перенесите штатив SK24 с обработанными образцами в анализатор COBAS TaqMan не позднее чем через 1 час после завершения обработки образцов. Анализатор COBAS TaqMan автоматически начнет амплификацию и детекцию. Результаты для штативов. Перенесенных в анализатор позднее 1 часа после окончания обработки образцов, будут признаны недействительными.
2. После завершения амплификации и детекции в анализаторе COBAS TaqMan, тестированные образцы автоматически удаляются в контейнер для отходов.
3. Примите результаты в рабочей станции AMPLILINK.
4. Результаты будут автоматически перенесены в программу PDM.

Д. Просмотр и выдача результатов

1. Запустите рабочую станцию программы Roche PDM.
2. Откройте непросмотренные серии во вкладке "Review Batches".
3. Проверьте наличие сигнальных значков, выделив для этого серию и нажав "Next."
4. Просмотрите результаты, полученные для контролей во вкладке "Controls Review". См. критерии прохождения теста для контролей в разделе **Контроль постановки**.
5. Просмотрите результаты для пулов для выделенной серии во вкладке "Alarms Review". Донорские образцы в пулах, для которых постановка не прошла. Должны быть переставлены повторно.
6. Просмотрите и распечатайте результаты для доноров в выделенной серии во вкладке "Donor Review".

Контроль качества постановки

1. Один негативный контроль [TS (-) C] и по одному из всех пяти позитивных контролей [HIV-1 M (+) C, HIV-1 O (+) C, HIV-2 (+) C, HCV (+) C и HBV (+) C] должны быть проставлены в каждой постановке.
2. Статус постановки: Статус постановки обозначается как "Complete, Valid" если сработали все контроли постановки. Если контроли в серии не сработали, вся постановка признается не действительной

а. Негативный контроль

Для того чтобы негативный контроль [TS (-) C] был признан сработавшим, результат должен быть нереактивным, а внутренний контроль должен сработать. Если внутренний контроль не сработал, результат для негативного контроля считается недействительным, и вся постановка признается недействительной. Если негативный контроль не сработал, постановка признается не действительной и должна быть переставлена заново.

б. Позитивные контроли

Для того чтобы 5 позитивных контролей (HIV-1 M (+) C, HIV-1 O (+) C, HIV-2 (+) C, HCV (+) C и HBV (+) C) были признаны сработавшими, результат для них должен быть реактивным, а соответствующий внутренний контроль должен сработать. Если внутренний контроль не сработал, результат для позитивного контроля считается недействительным, и вся постановка признается недействительной. Если позитивный контроль не сработал, постановка признается не действительной и должна быть переставлена заново.

Критерии принятия результатов для контролей

	Результат для мишени	Результат для ВК	Результат для образца
Негативный контроль	Valid (-)	Valid (Ct value)	Valid
Позитивный контроль	Valid (Ct value)	Valid (Ct value)	Valid

3. Внутренние контроли донорских образцов

1. Для донорского образца неактивный (-) результат теста признается действительным, если сработал соответствующий внутренний контроль; в противном случае неактивный образец признается недействительным, постановку теста для данного образца необходимо повторить полностью.
2. Для донорского образца реактивный (Ct value) результат теста признается действительным, не зависимо от того, сработал или не сработал со ответствующий внутренний контроль.

Результаты

1. Результаты для образцов признаются действительными, если прошла вся постановка. См. критерии принятия результатов в разделе *Контроль качества постановки*. Для каждого образца определяются два параметра, один для вирусной мишени, другой – для внутреннего контроля.
2. Окончательные результаты теста **cobas TaqScreen MPX** для донорских образцов представляются программой PDM следующим образом:

Статус	Расшифровка
Complete Non-Reactive	Донор не реактивен по тестируемому агенту (-ам).
Complete Reactive	Донор реактивен по тестируемому агенту(-ам).
Complete Unresolved	Истекло время ожидания определения статуса донора, реактивного или не реактивного. Дополнительные тесты для данного донора не могут быть проведены в системе.

3. Доноры, для которых необходимы дополнительные тесты: донорские образцы, пул которых имеет недействительный статус, маркируются как “Repeat Needed” (необходимо повторное тестирование), донорские образцы, входящие в реактивный пул, маркируются как “Resolution Needed” (необходима расшифровка пула).

Повторное тестирование

Образцы из пула с недействительным статусом должны быть переставлены повторно при перестановке всего пула или в индивидуальном порядке.

Тестирование пула – расшифровка пула

Если образцы тестировались в пуле, который признан реактивным в системе **cobas s 201**, они маркируются как “Resolution needed” (необходима расшифровка пула) и дозатор **HAMILTON STAR** раскапывает для расшифровывающего тестирования индивидуальные донорские образцы из архивных плашек или исходных донорских пробирок. Для выявления индивидуального реактивного образца используется тест **cobas TaqScreen MPX**, такой же, какой использовался для постановки пула. Выявленные реактивные образцы могут далее тестироваться в диагностиках **COBAS AmpliScreen** для определения вирусного агента.

Если реактивны один или несколько индивидуальных образцов из пула, они маркируются как “Complete, Reactive”, а остальные негативные образцы, входившие в данный позитивный пул, маркируются как “Complete, Non-reactive”. Если все индивидуальные образцы из данного пула негативны при тестировании, они все маркируются как “Complete, Non-reactive”.

Внимание: Согласно общей программе контроля качества, пользователь может провести дополнительное тестирование для выявления причины первоначальной реактивности пула.

Тестирование индивидуальных образцов – повторное тестирование

Если донор при первичном тестировании в системе в качестве индивидуального образца реактивен, оператор может:

- провести повторное тестирование данного индивидуального образца в двух повторях, или
- выдать результат для донора как реактивный

Если оператор выбирает повторное тестирование, дозатор HAMILTON STAR используется для внесения образца из исходной донорской пробирки для повторного тестирования. Если оба повторных теста неактивны, образец маркируется как "Complete, Non-reactive". Если один или оба повторных теста для образца реактивны, он маркируется как "Complete, Reactive". Выявленные реактивные образцы могут далее тестироваться в анализаторах COBAS AmpliScreen для определения вирусного агента.

Внимание: Согласно общей программе контроля качества, пользователь может провести дополнительное тестирование для выявления причины первоначальной реактивности образца, если оба повторных тестирования были не реактивными.

Тестирование для определения вирусного агента

Индивидуальные образцы, реактивные в тесте **cobas TaqScreen MPX**, могут далее тестироваться для определения вируса (-ов), ставшего причиной реактивности в тесте: ВИЧ-1, ВГВ или ВГС. Процедуры по выявлению ВИЧ-1 группы М, ВГВ и ВГС описаны во вкладышах к наборам COBAS AmpliScreen HBV Test, COBAS AmpliScreen HCV Test, v2.0 и COBAS AmpliScreen HIV-1 Test, v1.5. Roche не выпускает тестов для выявления ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2.

Если индивидуальный донорский образец, реактивный в тесте **cobas TaqScreen MPX**, не реактивен в трех тестах COBAS AmpliScreen, пользователь может провести дополнительные ТНК или серологические тесты, или отозвать данного донора для дальнейшего тестирования.

Пользователи должны следовать собственной политике/практике при наблюдении доноров и допуске их к донорству.

Ограничения постановки

1. Данный тест предназначен для использования только с набором контролей **cobas TaqScreen MPX**, промывочным реагентом **cobas TaqScreen MPX** и системой **cobas s 201**.

2. Гепарин способен ингибировать ПЦР. Не используйте в данной постановке гепаринизированную плазму.

3. Надежность полученных результатов зависит от адекватного забора образцов и их транспортировки.

4. Выявление РНК ВИЧ-1 группы М, РНК ВИЧ-1 группы О, РНК ВИЧ-2, РНК ВГС и ДНК ВГВ определяется количеством вирусных частиц, содержащихся в образце, и зависит от методов сбора образцов, факторов пациента (например, возраста, наличия симптомов), и/или стадии инфекции и размера пула.

5. Для использования с тестом **cobas TaqScreen MPX**, для автоматического создания пулов плазмы проходил испытания только дозатор HAMILTON Microlab STAR. Соблюдайте инструкции и требования безопасности, содержащиеся в Руководстве пользователя **cobas s 201** и Инструкции пользователя дозатора HAMILTON Microlab STAR.

Рабочие характеристики теста

Воспроизводимость

Воспроизводимость теста **cobas TaqScreen MPX** в системе **cobas s 201** определяли при тестировании 12-элементных рандомизированных, закрытых панелей, содержащих два негативных образца плазмы, и по два образца плазмы позитивных по ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2, ВГС и ВГВ в концентрациях примерно 0.54X и 3X предела чувствительности (ПЧ) теста **cobas TaqScreen MPX Test** для каждого вируса.

Тестирование проводили в 3 лабораториях, по 1 оператору в каждой, с 3 сериями наборов теста **cobas TaqScreen MPX** и 1 системой **cobas s 201**. В каждой лаборатории тестировали 4 панели и 4 набора контролей ежедневно в течение 5 дней с каждой из 3 серий наборов, всего проводилось 180 тестов для каждого образца панели (всего 2,160 тестов).

Воспроизводимость оценивали, рассчитывая процент реактивных результатов тестирования для каждой точки панели. Данные анализировали для каждой серии наборов теста и лаборатории/оператора.

Проведенные исследования показали стабильную работу теста **cobas TaqScreen MPX** независимо от серии набора и лаборатории/оператора.

Таблица 1: Тест cobas TaqScreen MPX Test — воспроизводимость результатов

Virus	Concentration	Kit Lot	Reactive Results by Reagent Lot	Test Site/Operator	Reactive Results by Testing Site/Operator
Negative	0	A	0.0% (0/120)	1	0.0% (0/120)
		B	0.0% (0/120)	2	0.0% (0/120)
		C	0.0% (0/120)	3	0.0% (0/120)
HIV-1 Group M	0.54 X LOD*	A	75.0% (45/60)	1	75.0% (45/60)
		B	80.0% (48/60)	2	71.7% (43/60)
		C	75.0% (45/60)	3	83.3% (50/60)
HIV-1 Group O	0.54 X LOD*	A	96.7% (58/60)	1	100.0% (60/60)
		B	98.3% (59/60)	2	95.0% (57/60)
		C	98.3% (59/60)	3	98.3% (59/60)
HIV-2	0.54 X LOD*	A	83.3% (50/60)	1	73.3% (44/60)
		B	81.7% (49/60)	2	80.0% (48/60)
		C	73.3% (44/60)	3	85.0% (51/60)
HCV	0.54 X LOD*	A	81.4% (48/59)	1	71.7% (43/60)
		B	78.3% (47/60)	2	71.2% (42/59)
		C	61.7% (37/60)	3	78.3% (47/60)
HBV	0.54 X LOD*	A	98.3% (58/59)	1	96.7% (58/60)
		B	98.3% (59/60)	2	98.3% (58/59)
		C	95.0% (57/60)	3	96.7% (58/60)
HIV-1 Group M	3 X LOD*	A	100.0% (60/60)	1	98.3% (59/60)
		B	98.3% (59/60)	2	100.0% (60/60)
		C	100.0% (60/60)	3	100.0% (60/60)
HIV-1 Group O	3 X LOD*	A	100.0% (60/60)	1	100.0% (60/60)
		B	100.0% (60/60)	2	100.0% (60/60)
		C	100.0% (60/60)	3	100.0% (60/60)
HIV-2	3 X LOD*	A	100.0% (59/59)	1	100.0% (60/60)
		B	100.0% (60/60)	2	100.0% (60/60)
		C	100.0% (60/60)	3	100.0% (59/59)
HCV	3 X LOD*	A	100.0% (60/60)	1	100.0% (60/60)
		B	100.0% (60/60)	2	100.0% (60/60)
		C	100.0% (60/60)	3	100.0% (60/60)
HBV	3 X LOD*	A	100.0% (60/60)	1	100.0% (60/60)
		B	100.0% (60/60)	2	100.0% (60/60)
		C	100.0% (60/60)	3	100.0% (60/60)

* Предел чувствительности

Аналитическая чувствительность — Международные стандарты ВОЗ/Стандарты Roche

Пределы чувствительности теста **cobas** TaqScreen MPX для ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2, ВГС и ВГВ определяли с помощью следующих стандартов: международный стандарт ВОЗ для ВГВ (код NIBSC 97/746), второй международный стандарт ВОЗ для ВГС (код NIBSC 96/798), и стандарты Roche для ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2. Стандарт Roche для ВИЧ-1 группы М представляет собой коммерчески доступный, культуральный вирусный сток (HIV-1 LAV 8E5, PN 227, Boston Biomedica, Inc.) калиброванный относительно международного стандарта ВОЗ по РНК ВИЧ-1 (NIBSC code 97/656) в тесте COBAS TaqMan HIV-1 Test For Use With The High Pure System. Для ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2 в настоящее время отсутствуют международные стандарты. Стандарты Roche для ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2 представляют собой коммерчески доступные культуральные вирусные стоки, PN 242O (Boston Biomedica, Inc.) и Cat. No. 10-127-000 (Advanced Biotechnologies, Inc.). Концентрации вирусных стоков ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2 приводятся производителями и основаны на подсчете вирусных частиц под микроскопом. Для каждого стандарта готовили три независимых серии разведений нормальной, вирус-негативной плазмой человека. Каждую серию разведений тестировали с использованием трех разных серий теста **cobas** TaqScreen MPX в 22 повторах для каждой серии теста, всего 198 постановок для каждой концентрации. Для оценки 95% предела выявления (95% LOD) и 95%

оверительных пределов для каждого вируса использовали PROBIT-анализ обобщенных данных для всех остановок (Таблица 2). В таблицах 3 - 7 приведены все результаты, полученные при изучении аналитической чувствительности теста.

Таблица 2: Предсказанные в Пробит-анализе концентрации для частоты выявления 95%

Агент	Единицы	Средний 95% LOD	95% нижний доверительный предел	95% верхний доверительный предел
ВИЧ-1 группа М	МЕ/мл	49.0	42.4	58.1
ВИЧ-1 группа О	Копии/мл	154	97	371
ВИЧ-2	Копии/мл	2.2	1.9	2.6
ВГС	МЕ/мл	10.7	7.0	21.7
ВГВ	МЕ/мл	3.7	3.3	4.4

Таблица 3: Результаты тестирования серий разведений второго стандарта Roche для ВИЧ-1 группы М — обобщенные результаты с 95% доверительными пределами (односторонними)

Концентрация РНК ВИЧ-1 группы М (МЕ/мл)	Число реактивных постановок	Число постановок	% реактивных	95% нижний доверительный предел (односторонний)
190	196	196	100%	98.5%
60	193	197	98.0%	95.4%
50	187	195	95.9%	92.7%
40	180	195	92.3%	88.4%
20	143	196	73.0%	67.2%
6	72	196	36.7%	31.0%

Таблица 4: Результаты тестирования серий разведений первого стандарта Roche для ВИЧ-1 группы О — обобщенные результаты с 95% доверительными пределами (односторонними)

Концентрация РНК ВИЧ-1 группы О (Копии/мл)	Число реактивных постановок	Число постановок	% реактивных	95% нижний доверительный предел (односторонний)
500	194	194	100%	98.5%
250	198	198	100%	98.5%
200	196	198	99.0%	96.9%
160	193	200	96.5%	93.5%
50	96	195	49.2%	43.1%
16	46	189	24.3%	19.3%

Таблица 5: Результаты тестирования серий разведений первого стандарта Roche для ВИЧ-2 — обобщенные результаты с 95% доверительными пределами (односторонними)

Концентрация РНК ВИЧ-2 (Копии/мл)	Число реактивных постановок	Число постановок	% реактивных	95% нижний доверительный предел (односторонний)
12.0	194	194	100.0%	98.5%
4.0	194	195	99.5%	97.6%
3.1	186	189	98.4%	95.9%
2.3	188	195	96.4%	93.4%
1.3	154	192	80.2%	74.9%
0.4	79	194	40.7%	34.8%

Таблица 6: Результаты тестирования серий разведений международного стандарта ВОЗ для ВГС (96/798) — обобщенные результаты с 95% доверительными пределами (односторонними)

Концентрация РНК ВГС (МЕ/мл)	Число реактивных постановок	Число постановок	% реактивных	95% нижний доверительный предел (односторонний)
30.0	188	192	97.9%	95.3%
15.4	183	184	99.5%	97.4%
11.3	183	186	98.4%	95.9%
10.0	180	193	93.3%	89.5%
3.0	128	192	66.7%	60.6%
1.0	67	192	34.9%	29.2%

Таблица 7: Результаты тестирования серий разведений международного стандарта ВОЗ для ВГВ (97/746) — обобщенные результаты с 95% доверительными пределами (односторонними)

Концентрация ДНК ВГВ (МЕ/мл)	Число реактивных постановок	Число постановок	% реактивных	95% нижний доверительный предел (односторонний)
12.0	189	189	100.0%	98.4%
5.0	194	197	98.5%	96.1%
4.0	182	189	96.3%	93.2%
3.6	186	197	94.4%	90.9%
1.3	129	200	64.5%	58.5%
0.4	47	191	24.6%	19.5%

Чувствительность выявления разных генотипов/субтипов
Испытания теста **cobas TaqScreen MPX** проводили для субтипов ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-1 группы N и ВИЧ-2, и генотипов ВГС и ВГВ.

ВИЧ-1 группы М
Тридцать семь клинических образцов и 25 культуральных изолятов ВИЧ-1 группы М с известным субтипом (7 субтипа А, 7 рекомбинантного субтипа АЕ, 12 субтипа В, 9 субтипа С, 7 субтипа D, 5 субтипа Е, 4 субтипа F, 8 субтипа G, 2 субтипа Н и 1 субтипа J) количественно тестировали в COBAS AMPLICOR HIV-1 MONITOR Test, v1.5, разводили нормальной негативной человеческой плазмой 3X и 1X предела чувствительности (LOD) теста **cobas TaqScreen MPX Test** для ВИЧ-1 группы М, и определяли в тесте **cobas TaqScreen MPX**.
Все 37 клинических и 25 культуральных образцов были реактивны как при разведении 3X, так и при разведении 1X LOD.

Таблица 8: Образцы и культуральные изоляты ВИЧ-1 группы М

Subtype	Clinical Specimens	Culture Supernatants	Total Isolates	Reactive at 3X LOD	Reactive at 1X LOD
A	3	4	7	100% (7/7)	100% (7/7)
AE	7	0	7	100% (7/7)	100% (7/7)
B	10	2	12	100% (12/12)	100% (12/12)
C	7	2	9	100% (9/9)	100% (9/9)
D	2	5	7	100% (7/7)	100% (7/7)
E	0	5	5	100% (5/5)	100% (5/5)
F	1	3	4	100% (4/4)	100% (4/4)
G	4	4	8	100% (8/8)	100% (8/8)
H	2	0	2	100% (2/2)	100% (2/2)
J	1	0	1	100% (1/1)	100% (1/1)

ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-1 группы N

Тестировали 8 культуральных изолятов ВИЧ-1 группы О и 1 культуральный изолят ВИЧ-1 группы N. По причине отсутствия молекулярных методов количественного определения изолятов ВИЧ-1 группы О и группы N, готовили 0,5log разведения культуральных стоков в нормальной, вирус-негативной человеческой плазме, и каждое разведение тестировали в **cobas TaqScreen MPX**.

Все 8 изолятов ВИЧ-1 группы О выявляли в тесте **cobas TaqScreen MPX** в разведениях до 1 x 10⁻⁷ - 1 x 10⁻⁸. Изолят ВИЧ-1 группы N выявляли в разведениях до 3.3 x 10⁻¹⁰.

ВИЧ-2

Тестировали 9 культуральных изолятов ВИЧ-2 (5 субтипа А, 1 субтипа А/В, 1 субтипа В и 2 неустановленного субтипа) и 11 клинических образцов ВИЧ-2 (неустановленного субтипа). По причине отсутствия молекулярных методов количественного определения изолятов ВИЧ-2, готовили 0,5log разведения культуральных стоков в нормальной, вирус-негативной человеческой плазме, и каждое разведение тестировали в **cobas TaqScreen MPX**.

Пять культуральных изолятов ВИЧ-2 субтипа А были выявлены в тесте **cobas TaqScreen MPX** во всех разведениях до 1 x 10⁻⁸ - 3.3 x 10⁻⁹. Изолят ВИЧ-2 субтипа А/В был выявлен в разведениях до 1 x 10⁻⁹. Изолят ВИЧ-2 субтипа В выявляли в разведениях до 3.3 x 10⁻⁹. Два культуральных изолята ВИЧ-2 неустановленного субтипа выявляли в разведениях до 3.3 x 10⁻⁹. Все 11 клинических образцов ВИЧ-2 (неустановленного субтипа) выявляли в тесте **cobas TaqScreen MPX Test** в разведениях до 1:100 (2 образца), 1:30 (3 образца), 1:10 (2 образца), 1:3 (3 образца) и неразведенным (1 образец).

ВГС

Семьдесят четыре клинических образца ВГС с известным генотипом (8 генотипа 1a, 13 генотипа 1b, 1 генотипа 2, 7 генотипа 2a, 1 генотипа 2a/c, 9 генотипа 2b, 8 генотипа 3a, 1 генотипа 3a/b, 6 генотипа 4, 1 генотипа 4a, 1 генотипа 4b/4c, 1 генотипа 4h, 2 генотипа 5, 9 генотипа 5a, 2 генотипа 6 и 4 генотипа 6a) количественно тестировали в **COBAS AMPLICOR HCV MONITOR Test, v2.0**, разводили нормальной, вирус-негативной плазмой до 3X и 1X предела чувствительности (LOD) теста **cobas TaqScreen MPX** для ВГС, и тестировали в **cobas TaqScreen MPX**.

Все 74 изолята были реактивны в разведении 3X LOD. В разведении 1X LOD реактивны были 73 из 74 изолятов. Один изолят генотипа 1b не был реактивен в разведении 1X LOD, но был реактивным в разведении 3X LOD.

Таблица 9: Образцы ВГС

Genotype	Clinical Specimens	Reactive at 3X LOD	Reactive at 1X LOD
1a	8	100% (8/8)	100% (8/8)
1b	13	100% (13/13)*	92% (12/13)*
2	1	100% (1/1)	100% (1/1)
2a	7	100% (7/7)	100% (7/7)
2a/c	1	100% (1/1)	100% (1/1)
2b	9	100% (9/9)	100% (9/9)
3a	8	100% (8/8)	100% (8/8)
3a/b	1	100% (1/1)	100% (1/1)
4	6	100% (6/6)	100% (6/6)
4a	1	100% (1/1)	100% (1/1)
4b/4c	1	100% (1/1)	100% (1/1)
4h	1	100% (1/1)	100% (1/1)
5	2	100% (2/2)	100% (2/2)
5a	9	100% (9/9)	100% (9/9)
6	2	100% (2/2)	100% (2/2)
6a	4	100% (4/4)	100% (4/4)

* Один изолят генотипа 1b был реактивным при разведении 3X LOD, но не реактивным при разведении 1X LOD

ВГВ

Шестьдесят четыре клинических образца и один молекулярный клон ВГВ с известным генотипом (13 генотипа А, 9 генотипа В, 10 генотипа С, 9 генотипа D, 14 генотипа Е, 6 генотипа F, 2 генотипа G и 2 генотипа Н) количественно тестировали в COBAS AMPLICOR HBV MONITOR Test, разводили нормальной, вирус-негативной плазмой до 3X и 1X предела чувствительности (LOD) теста **cobas** TaqScreen MPX для ВГВ, и тестировали в **cobas** TaqScreen MPX.

Все 65 образцов были реактивны в разведениях 3X и 1X LOD.

Таблица 10: Образцы ВГВ

Genotype	Clinical Specimens	Reactive at 3X LOD	Reactive at 1X LOD
A	13	100% (13/13)	100% (13/13)
B	9	100% (9/9)	100% (9/9)
C	10	100% (10/10)	100% (10/10)
D	9	100% (9/9)	100% (9/9)
E	14	100% (14/14)	100% (14/14)
F	6	100% (6/6)	100% (6/6)
G	2*	100% (2/2)	100% (2/2)
H	2	100% (1/1)**	100% (2/2)

* Один образец генотипа G являлся плазмидной ДНК, а не клиническим образцом

** Один изолят генотипа H не тестировали в разведении 3X LOD по причине недостаточного объема образца

Сероконверсионные панели

Качество теста **cobas** TaqScreen MPX в сероконверсионных образцах оценивали для ВИЧ-1 группы М, ВГС и ВГВ с помощью 60 коммерческих сероконверсионных панелей. Для ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2 сероконверсионные панели не существуют.

Сероконверсионные панели ВИЧ-1

В **cobas** TaqScreen MPX были протестированы 20 коммерческих сероконверсионных панелей, собранных от доноров плазмофереза с сероконверсией по ВИЧ. Каждый образец тестировали неразведенным и в разведении 1:6, имитируя пул образцов от 6 доноров. Полученные в тесте **cobas** TaqScreen MPX результаты сравнивали с результатами диагностикумов Abbott PRISM HIV O Plus Assay и Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA.

В неразведенных образцах тест **cobas** TaqScreen MPX позволял выявлять РНК ВИЧ до обнаружения анти-ВИЧ в Abbott PRISM HIV O Plus Assay или в Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA в 20 из 20 панелей. Тест **cobas** TaqScreen MPX Test позволял выявлять РНК ВИЧ в неразведенных образцах в среднем за 14 дней до выявления анти-ВИЧ в Abbott PRISM HIV O Plus Assay и Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA.

В шестикратно разведенных образцах тест **cobas** TaqScreen MPX позволял выявлять РНК ВИЧ до обнаружения анти-ВИЧ в Abbott PRISM HIV O Plus Assay или в Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA в 20 из 20 панелей. Тест **cobas** TaqScreen MPX Test позволял выявлять РНК ВИЧ в шестикратно разведенных образцах в среднем за 13 дней до выявления анти-ВИЧ в Abbott PRISM HIV O Plus Assay и Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA.

При расчете минимального, среднего и максимального числа дней интервала между выявлением РНК ВИЧ и антител к ВИЧ 1/2 исключали панели, реактивные в тесте **cobas** TaqScreen MPX при первом заборе крови, не реактивных в серологических тестах при всех постановках, и панели с интервалом более 21 дня между первым реактивным образцом и предыдущим забором крови.

Таблица 11: Испытания теста *cobas TaqScreen MPX* на сероконверсионных панелях ВИЧ

HIV Seroconversion Panel	Notes	Days Earlier Detection Than HIV-1/2 Antibody with				
		Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA		Abbott PRISM HIV O Plus		
		cobas TaqScreen MPX Test				
		Neat	1:6	Neat	1:6	
1	A	15	15	15	15	
2	C	14	14	14	14	
3	A	18	18	18	18	
4	B, C	5	5	5	5	
5	B, D	9	9	14	14	
6		10	10	10	10	
7		17	11	17	11	
8		7	7	10	10	
9		10	10	10	10	
10		13	13	13	13	
11		19	19	19	19	
12		25	25	25	25	
13		19	14	19	14	
14		7	7	7	7	
15	E	19	19	19	19	
16		89	89	9	9	
17		7	7	7	7	
18		B	14	11	14	11
19		11	7	11	7	
20		15	15	15	15	
Minimum		7	7	7	7	
Average		14	13	14	13	
Maximum		25	25	25	25	

- A. Результат в тесте *cobas TaqScreen MPX* был реактивным в первом образце из серии неразведенных и разведенных 1:6 образцов; исключен из общих расчетов.
- B. Отсутствует сероконверсия по анти-ВИЧ в Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA; исключен из расчетов по Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA.
- C. Отсутствует сероконверсия по анти-ВИЧ в Abbott PRISM HIV O Plus; исключен из расчетов по Abbott PRISM HIV O Plus.
- D. Исключен из общих расчетов из-за большого интервала (40 дней) между первым реактивным образцом в тесте *cobas TaqScreen MPX* и предыдущим забором крови.
- E. Исключен из общих расчетов по Abbott HIVAB HIV-1/HIV-2 EIA из-за большого интервала (80 дней) между первым реактивным в серологическом тесте образцом и предыдущим забором крови.

Сероконверсионные панели ВГС

В *cobas TaqScreen MPX* были протестированы 20 коммерческих сероконверсионных панелей, собранных от доноров плазмафереза с сероконверсией по анти-ВГС. Каждый образец тестировали неразведенным и в разведении 1:6, имитируя пул образцов от 6 доноров. Полученные в тесте *cobas TaqScreen MPX* результаты сравнивали с результатами диагностикумов Abbott PRISM HCV Assay и ORTHO HCV Version 3.0 ELISA Test System.

В неразведенных образцах тест *cobas TaqScreen MPX Test* позволял выявлять РНК ВГС до обнаружения анти-ВГС в диагностикумах Abbott PRISM HCV Assay или ORTHO HCV Version 3.0 ELISA Test System в 19 из 20 панелей и одновременно с выявлением анти-ВГС в 1 из 20 панелей. Тест *cobas TaqScreen MPX* позволял выявлять РНК ВГС в неразведенных образцах в среднем за 24 и 25 дней до выявления анти-ВГС в диагностикумах Abbott PRISM HCV Assay или ORTHO HCV Version 3.0 ELISA Test System, соответственно.

Тест *cobas TaqScreen MPX* позволял выявлять РНК ВГС в шестикратно разведенных образцах до обнаружения анти-ВГС в Abbott PRISM HCV Assay или ORTHO HCV Version 3.0 ELISA Test System в 19 из 20 панелей, и одновременно с выявлением анти-ВГС в 1 из 20 панелей. В шестикратно разведенных образцах тест *cobas*

TaqScreen MPX позволял выявлять РНК ВГС в среднем за 23 и 24 дней до обнаружения анти-ВГС в диагностикумах Abbott PRISM HCV Assay или ORTHO HCV Version 3.0 ELISA Test System, соответственно. При расчете минимального, среднего и максимального числа дней интервала между выявлением РНК ВГС и антител к ВГС исключали панели, реактивные в тесте **cobas** TaqScreen MPX при первом заборе крови, не реактивных в серологических тестах при всех постановках, и панели с интервалом более 21 дня между первым реактивным образцом и предыдущим забором крови.

Таблица 12: Испытания теста **cobas** TaqScreen MPX на сероконверсионных панелях ВГС

HCV Seroconversion Panel	Notes	Days Earlier Detection Than HCV Antibody			
		ORTHO HCV Version 3.0 ELISA		Abbott PRISM HCV Plus	
		cobas TaqScreen MPX Test			
		Neat	1:6	Neat	1:6
1	A	97	97	97	97
2	A	85	85	85	85
3	A	16	16	13	13
4	A	7	7	7	7
5		7	7	3	3
6	A, B	27	27	24	24
7	A	19	19	13	13
8	A	8	8	8	8
9	A	14	14	14	14
10	A, B	9	9	7	7
11	A	23	23	16	16
12	A	21	21	18	18
13	A	39	39	37	37
14		32	32	32	32
15	A	31	31	28	28
16		23	23	23	23
17		39	33	39	33
18	C	32	32	32	32
19	C	38	38	38	38
20	D	0	0	0	0
Minimum		7	7	3	3
Average		25	24	24	23
Maximum		39	33	39	33

- A. Результат в тесте **cobas** TaqScreen MPX был реактивным в первом образце из серии неразведенных и разведенных 1:6 образцов; исключен из общих расчетов.
- B. Отсутствует сероконверсия по анти-ВГС в ORTHO HCV Version 3.0 ELISA; исключен из расчетов по ORTHO HCV Version 3.0 ELISA.
- C. Исключен из общих расчетов из-за большого интервала (28 дней, панель 18; 31 день, панель 19) между первым реактивным образцом в серологическом тесте и предыдущим забором крови.
- D. Исключен из общих расчетов из-за большого интервала (69 дней) между первым образцом, не реактивным во всех методах и вторым образцом, реактивным во всех методах.

Сероконверсионные панели ВГВ

В **cobas** TaqScreen MPX были протестированы 20 коммерческих сероконверсионных панелей, собранных от доноров плазмафереза с сероконверсией по HBsAg. Каждый образец тестировали неразведенным и в разведении 1:6, имитируя пул образцов от 6 доноров. Полученные в тесте **cobas** TaqScreen MPX результаты сравнивали с результатами диагностикумов Abbott PRISM® HBsAg Assay и ORTHO® HBsAg ELISA Test System 3.

В неразведенных образцах тест **cobas** TaqScreen MPX позволял выявлять ДНК ВГВ до обнаружения HBsAg в диагностикуме Abbott PRISM HBsAg Assay в 17 из 20 панелей, одновременно с выявлением HBsAg в 2 из 20 панелей и только после обнаружения HBsAg в 1 из 20 панелей. При сравнении с результатами, полученными в

Д. Исключен из общих расчетов из-за большого интервала между первым образцом, реактивным в тесте **cobas TaqScreen MPX** и предыдущим образцом (панель 5: 36 дней, панель 17: 146 дней, панель 19: 23 дня).

Е. Реактивные результаты для теста **cobas TaqScreen MPX** в неразведенных образцах в дни 4, 16 и 26 не включены в расчет “Дней до выявления”, поскольку результаты для дней 7, 19, 23, 76 и 101 были нереактивными. Реактивные результаты для теста **cobas TaqScreen MPX** в день 4 для образца, разведенного 1:6, не включены в расчет “Дней до выявления”, поскольку результаты для последующих 8 образцов (дни 7 - 106) были нереактивными. Данная панель также была исключена из общих расчетов из-за длительного периода неопределенной реактивности.

Аналитическая специфичность – микроорганизмы с потенциальной перекрестной реактивностью, влияющие на проведение теста

Аналитическую специфичность теста **cobas TaqScreen MPX** определяли в постановке панели 17 микроорганизмов, включающей 12 вирусных изолятов, 4 бактериальных штамма и 1 изолят дрожжей. Микроорганизмы вносили в нормальную, вирус-негативную человеческую плазму и тестировали с или без ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2, ВГС или ВГВ, добавленными в концентрации 3X предела чувствительности теста **cobas TaqScreen MPX** для каждого вируса.

Были получены нереактивные результаты в тесте **cobas TaqScreen MPX** для всех образцов, содержащих микроорганизмы, в которые не были добавлены ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2, ВГС или ВГВ. Тестировавшиеся микроорганизмы не обладают перекрестной реактивностью в тесте **cobas TaqScreen MPX**.

Были получены реактивные результаты для всех образцов, содержащих микроорганизмы в которые были добавлены ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2, ВГС или ВГВ. Тестировавшиеся микроорганизмы не ингибируют постановку теста the **cobas TaqScreen MPX**.

Таблица 14: Тестировавшиеся микроорганизмы

Аналитическая специфичность — тестировавшиеся микроорганизмы		
Аденовирус 2	Вирус герпеса человека 6	<i>Staphylococcus aureus</i>
Цитомегаловирус	Т-лимфотропный вирус человека; тип I	<i>Candida albicans</i>
Вирус Эпштейн-Барра	Т-лимфотропный вирус человека; тип II	<i>Propionibacterium acnes</i>
Вирус ветрянки	Вирус гепатита А	<i>Staphylococcus epidermis</i>
Вирус простого герпеса, тип I	Вирус гриппа	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
Вирус простого герпеса, тип 2	Вирус гепатита G (GBV-C)	

Аналитическая специфичность – прочие заболевания

Образцы плазмы, полученные от 15-20 пациентов со следующими заболеваниями (цитомегаловирусная инфекция, инфекция вируса гепатита А, инфекция вируса Эпштейн-Барра и аутоиммунные заболевания) тестировали с или без ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2, ВГС или ВГВ, добавленными в концентрации 3X предела чувствительности теста **cobas TaqScreen MPX** для каждого вируса. Результаты были нереактивными в тесте **cobas TaqScreen MPX** для всех образцов от больных, тестиовавшихся без добавления ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2, ВГС или ВГВ, результаты были реактивными во всех образцах, полученных от больных, в которые были добавлены ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2, ВГС или ВГВ. Данные заболевания не влияют на чувствительность и специфичность теста **cobas TaqScreen MPX**.

Потенциально влияющие на проведение теста вещества

Эндогенные вещества, влияющие на проведение теста

Образцы плазмы с повышенными уровнями триглицеридов (до 3186 мг/дл), гемоглобина (до 472 мг/дл), свободного билирубина (до 63 мг/дл), альбумина (до 9.6 г/дл) или человеческой ДНК (до 0.4 мг/дл) тестировали с или без ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2, ВГС или ВГВ, добавленными в концентрации 3X предела чувствительности теста **cobas TaqScreen MPX** для каждого вируса. Данные эндогенные вещества не оказывали влияния на чувствительность и специфичность теста **cobas TaqScreen MPX**.

Образцы плазмы, в которые были добавлено повышенное количество красных клеток крови (до 10% v/v)

тестировали с или без ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2, ВГС или ВГВ, добавленными в концентрации 3X предела чувствительности теста **cobas** TaqScreen MPX для каждого вируса. Плазма, в которую вносили до 2.5% (v/v) красных клеток крови, не влияла на чувствительность и специфичность теста **cobas** TaqScreen MPX. Плазма, в которую вносили до 5.0% (v/v) красных клеток крови, приводила к снижению чувствительности выявления ВГС в тесте **cobas** TaqScreen MPX. Плазма, в которую вносили до 10.0% (v/v) красных клеток крови, влияла на чувствительность выявления ВГВ, ВГС, ВИЧ-1 группы О и ВИЧ-2 в тесте **cobas** TaqScreen MPX.

Экзогенные вещества, влияющие на проведение теста

Образцы нормальной человеческой плазмы, содержащие повышенные концентрации ацетаминофена (1324 мкмоль/л), ацетилсалициловой кислоты (3.62 мкмоль/л), аторвастатина (600 экв/л), флюоксетина (11.2 мкмоль/л), лоратадина (0.78 мкмоль/л), надолола (3.88 мкмоль/л), напроксена (2170 мкмоль/л), пароксетина (3.04 мкмоль/л), и сертралина (1.96 мкмоль/л) тестировали с или без ВИЧ-1 группы М, ВИЧ-1 группы О, ВИЧ-2, ВГС или ВГВ, добавленными в концентрации 3X предела чувствительности теста **cobas** TaqScreen MPX для каждого вируса. Данные экзогенные вещества не оказывали влияния на чувствительность и специфичность теста **cobas** TaqScreen MPX.

Клинические характеристики

Реактивность в цельной крови доноров

Клиническую специфичность теста **cobas** TaqScreen MPX оценивали при тестировании случайно выбранных образцов цельной донорской крови параллельно в трех лабораториях. Тестирования проводили для индивидуальных образцов и пулов, приготовленных из равных аликвот индивидуальных образцов донорской крови. Всего в **cobas** TaqScreen MPX тестировали 72,281 донорских образцов, клиническая специфичность при этом составляла 99.98% (72,266/72,281; 95% CI = 99.97 - 99.99). При постановке образцов в пулах, реактивные пулы расшифровывали при последующем тестировании индивидуальных образцов, составляющих эти пулы. При определении клинической специфичности, один донор был выявлен как “дополнительный позитивный случай”, донор был определен как позитивный по ДНК ВГВ при отсутствии положительного результата в применявшихся в лаборатории тестах. Обобщенные результаты тестирования в пулах для **cobas** TaqScreen MPX приведены ниже в таблице 15.

Таблица 15: Реактивность пулов, полученных от добровольных доноров крови

Категория	Пулы	Процент
Тестируемые пулы	10,090	100%
Нереактивные пулы	10,054	99.64%
Первично реактивные пулы	36	0.36%
Первично реактивные пулы, содержащие позитивных доноров	23	0.23%
Позитивные пулы, дополнительный позитивный случай	1	0.01%
Первично реактивные пулы, не содержащие позитивных доноров (ложно-позитивные)	12	0.12%