

# Wyniki badań walidacyjnych testu cobas<sup>®</sup> MPX oraz cobas<sup>®</sup> DPX z wykorzystaniem systemu cobas<sup>®</sup> 6800 i p 680 firmy Roche

Dane prezentowane podczas seminarium „Postępy w badaniach przeglądowych dawców krwi” (Warszawa, 5–6 października 2015 r.)

Results of evaluation cobas<sup>®</sup> MPX assay and cobas<sup>®</sup> DPX assay performed on system cobas<sup>®</sup> 6800 and p 680 (Roche). Data presented at the seminar “Advances in blood donor screening” (Warsaw, 5–6 October 2015)

Dorota Kubicka-Russel, Aneta Kopacz, Grzegorz Liszewski, Paulina Zwolińska, Ewa Sulkowska, Małgorzata Łętowska, Piotr Grabarczyk

Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

*J. Transf. Med.* 2015; 8: 145–146

## Wstęp

Test cobas<sup>®</sup> MPX przeznaczony jest do badań przeglądowych u dawców krwi wykonywanych na analizatorze cobas<sup>®</sup> 6800. Jest to jakościowy test multiplex, wykorzystujący metodę *real-time* PCR, który wykrywa w osoczu i surowicy RNA: HIV-1 M, HIV-1 O, HIV-2, HCV oraz DNA HBV. Test jednocześnie różnicuje zakażenia wirusami HIV, HCV, HBV.

Na analizatorze cobas<sup>®</sup> 6800 można także wykonać badanie przeglądowe z użyciem testu cobas<sup>®</sup> DPX, który jest przeznaczony do ilościowego badania DNA ludzkiego parwowirusa B19 (B19V) i detekcji RNA wirusa zapalenia wątroby typu A (HAV) w ludzkim osoczu.

Opcjonalnym elementem systemu jest cobas<sup>®</sup> p 680 — w pełni zautomatyzowane urządzenie pipetujące, przeznaczone do pulowania osocza. Aparat ten służy do tworzenia pul podstawowych z osocza pochodzącego z 1, 6, 24, 96 i 480 donacji. Pojedyncza spulowana próbka jest poddawana dalszym badaniom w aparacie cobas<sup>®</sup> 6800.

Celem badań była ocena przydatności testów cobas<sup>®</sup> MPX i cobas<sup>®</sup> DPX wykonywanych na

aparacie cobas<sup>®</sup> 6800 z zastosowaniem cobas<sup>®</sup> p 680 w badaniach przeglądowych w krwiodawstwie. W trakcie badań analizowano między innymi czułość wykrywania poszczególnych markerów, zdolność identyfikacji donacji zakażonych oraz ryzyko uzyskania wyników fałszywie reaktywnych.

## Materiał i metody

Czułość analityczną określano, badając w 24 powtórzeniach 6 kolejnych rozcieńczeń według międzynarodowych standardów (IS) WHO: HCV 06/102 (31,6–0,1 IU/ml), HIV-1 10/152 (100–0,32 IU/ml) i HBV 10/264 (10–0,03 IU/ml). Dodatkowo w 24 powtórzeniach badano rozcieńczenia odpowiednich materiałów kontrolnych: IS WHO HIV-2 (08/150) zawierające 31,6–0,32 IU/ml oraz Performance Panel HIV-1 (O) o stężeniu 100–3,16 kopii/ml (Sera Care 0800-0262). Analiza czułości analitycznej testu cobas<sup>®</sup> DPX obejmowała badanie w 24 powtórzeniach każdej próbki z panelu rozcieńczeń materiału referencyjnego WHO genotypów B19V (09/110) — 6 rozcieńczeń genotypów

1–3 obejmujących stężenia od 31,6 IU/ml do 0,1 IU/ml oraz IS WHO RNA HAV (00/562) o rozcieńczeniach 10–0,03 IU/ml.

Poprawność identyfikacji wirusów za pomocą testu cobas<sup>®</sup> MPX oceniano, badając: 1) próbki z wykrytym materiałem genetycznym (HCV i HIV NAT *yield* oraz seropozytywne HBV) o znanej wirerii, nierozcieńczone i rozcieńczone 1:6 (symulacja pul z 6 donacji), 2) 480 próbek (473 ujemne, 7 zawierających materiał genetyczny wybranych wirusów) w pulach po 6 donacji i mniejszych (imitacja badań przeglądowych). Jako symulację przebiegu badań przeglądowych w przypadku testu cobas<sup>®</sup> DPX zbadano 767 donacji, w tym jedną z wysoką wirerią B19V, w 8 pulach (7 pul po 96 donacji, 1 pula niepełna).

### Wyniki

Czułość analityczna testu cobas<sup>®</sup> MPX na poziomie 95% wykrywalności [LOD] (95-proc. przedział ufności) wynosiła: HBV — 3,97 IU/ml (2,25–9,75); HCV — 7,12 IU/ml (4,40–15,62); HIV — 31,33 IU/ml (17,84–76,80). Gdy analizowano wyniki rozcieńczeń IS HBV, dobrane tak, by taka sama liczba rozcieńczeń charakteryzowała się stężeniem powyżej i poniżej przewidywanego 95% LOD, czułość analityczna wyniosła 2,4 IU/ml (1,54–5,99). Wynik dodatni uzyskano we wszystkich próbkach rozcieńczeń o stężeniach 100–10 kopii/ml oraz 31,6 i 10 IU/ml odpowiednio HIV-1 grupy O i HIV-2.

Wartość 95-procentowego limitu detekcji [LOD] (95-proc. przedział ufności) dla testu cobas<sup>®</sup> DPX wynosiła odpowiednio: 8,70 IU/ml (4,92–21,69) dla genotypu 1; 37,8 IU/ml (22,24–93,65) dla genotypu 2 i 29,84 IU/ml (19,04–65,60) dla genotypu 3 B19V oraz 0,82 (0,49–1,96) dla RNA HAV.

HBV (genotyp A, D i H), HCV (genotyp 1b, 3a i 4) i HIV (podtyp B HIV-1) poprawnie zidentyfikowano we wszystkich badanych próbkach NAT-dodatnich.

Wyniki badań imitujących badania przeglądowe z zastosowaniem testów cobas<sup>®</sup> MPX i DPX były w 100% zgodne z oczekiwanymi wynikami, aczkolwiek próbki z B19V DNA > 10<sup>9</sup> IU/ml (powyżej zakresu liniowości testu) wymagały

1000-krotnego rozcieńczenia w celu uzyskania wyników ważnych.

Częstość wyników fałszywie reaktywnych przy użyciu testu cobas<sup>®</sup> MPX wynosiła 0,1% (jeden prawdopodobny przypadek wyniku fałszywie reaktywnego). Biorąc pod uwagę, że 71% pul było zakażonych, wystąpienie tylko jednego wyżej wymienionego przypadku świadczy o tym, że metody zapobiegania kontaminacjom w ocenianych aparatach i teście są skuteczne. Należy pamiętać, że częstość zakażeń u dawców krwi, którzy będą badani za pomocą ocenianego testu/systemu, jest bardzo niska (< 1/100).

W trakcie badań prowadzonych z użyciem testu cobas<sup>®</sup> DPX nie obserwowano wyników fałszywie reaktywnych i nieważnych.

### Wnioski

Test cobas<sup>®</sup> MPX wykazuje czułość i swoistość wymaganą dla testów przeglądowych NAT stosowanych w polskim krwiodawstwie. Przeprowadzenie badania z wykorzystaniem systemu cobas<sup>®</sup> 6800 i p 680 umożliwia prawidłową identyfikację zakażonej donacji bez istotnego ryzyka uzyskania wyników fałszywie reaktywnych. Określenie rodzaju zakażenia nie wymaga przeprowadzenia dodatkowych testów różnicujących.

Test cobas<sup>®</sup> DPX wykonywany na aparacie cobas<sup>®</sup> 6800 i p 680 pozwala prawidłowo identyfikować dawców, których osocze może spowodować przekroczenie dopuszczalnego poziomu 10<sup>4</sup> IU B19V/ml w puli produkcyjnej w procesie produkcji składników osoczopochodnych. Dodatkowo pozwala na wykrycie zakażenia HAV.

Już wkrótce planowane jest bardziej szczegółowe przedstawienie wyników badań na łamach „Journal of Transfusion Medicine”.

### Konflikt interesów

Praca powstała na podstawie wykładu wygłoszonego podczas seminarium „Postępy w badaniach przeglądowych dawców krwi” (Warszawa, 5–6 października 2015 r.), organizowanego przez Roche Diagnostics Polska Sp. z o.o. pod nadzorem merytorycznym Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie.