



Rx Only

cobas[®] Paraflu 1-4 UC

Kvalitativ nukleinsyretest til brug på cobas[®] 6800/8800 Systems

Til *in vitro*-diagnostik

cobas[®] Paraflu 1-4 UC	P/N: 09555617190
cobas[®] Paraflu 1-4 UC Control Kit	P/N: 09555587190
cobas omni Utility Channel Reagent Kit	P/N: 09052011190
cobas[®] Buffer Negative Control Kit	P/N: 09051953190

Indholdsfortegnelse

Tilsigtet brug	4
Oversigt og forklaring af testen	4
Reagenser og materialer.....	7
cobas® Paraflu 1-4 UC-reagenser og -kontroller.....	7
cobas omni-reagenser til prøveforberedelse	9
Krav til opbevaring og håndtering af reagenser	10
Yderligere nødvendige materialer.....	11
Påkrævede instrumenter og software	11
Krav til forholdsregler og håndtering	12
Advarsler og forholdsregler	12
Håndtering af reagenser	12
God laboratoriepraksis	13
Indsamling, transport og opbevaring af prøver.....	13
Prøvetagning.....	13
Transport og opbevaring	13
Brugsanvisning	14
Procedurebemærkninger.....	14
Kørsel af cobas® Paraflu 1-4 UC.....	15
Forberedelse af reagenskassetten.....	16
Forbered prøver og kontroller	17
Definer bestillingen af test.....	18
Resultater	18
Kvalitetskontrol og validitet af resultater	18
Fortolkning af resultater.....	19
Begrænsninger ved procedurerne	20

Evaluering af ikke-klinisk performance	21
Vigtige egenskaber for performance.....	21
Detektionsgrænse (LoD).....	21
Præcision – intra-laboratorium.....	21
Reproducerbarhed.....	22
Inklusivitet.....	22
Analytisk specificitet (krydsreaktivitet og mikrobiel interferens).....	23
Interfererende stoffer.....	24
Evaluering af klinisk performance	25
Yderligere oplysninger	26
Vigtige testfunktioner.....	26
Symboler.....	27
Teknisk support.....	28
Producent og importør.....	28
Varemærker og patenter.....	28
Copyright.....	28
Referencer.....	29
Dokumentrevision.....	30

Tilsigtet brug

cobas® Paraflu 1-4 UC Qualitative Nucleic Acid-testen til brug med cobas omni Utility Channel på cobas® 6800/8800 Systems er en automatisk, multiplex, real-time revers transskription-polymerase-kædereaktion (PCR) til rettidig *in vitro*-kvalitativ detektion af og skelnen mellem af human parainfluenzavirus af serotyperne 1, 2, 3 og 4 (HPIV1-4). Denne test er beregnet som en hjælp til diagnosticering af HPIV1-4 i nasofaryngeale pødeprøver fra patienter med tegn og symptomer på en respiratorisk infektion sammen med kliniske og epidemiologiske risikofaktorer.

Resultaterne fra cobas® Paraflu 1-4 UC skal fortolkes på baggrund af alle relevante kliniske og laboratoriemæssige fund. Negative resultater udelukker ikke virusinfektion og bør ikke bruges som eneste grundlag for behandling eller andre beslutninger ifm. patienthåndteringen. Omvendt udelukker positive resultater ikke bakteriel infektion eller coinfection med andre vira. Den påviste agens er muligvis ikke den afgørende sygdomsårsag.

cobas® Paraflu 1-4 UC Qualitative Nucleic Acid-testen til brug med cobas omni Utility Channel på cobas® 6800/8800 Systems er beregnet til professionel brug i et klinisk laboratorium.

Oversigt og forklaring af testen

Baggrund

Humane parainfluenzavira (HPIV'er) er kappebærende enkeltstrengede RNA-vira med negativ polaritet af mellemstørrelse (150-250 nm), der tilhører *Paramyxoviridae*-familien.^{1,2} HPIV'er er repræsenteret af fire serotyper (HPIV1-4), som er grupperet i to forskellige slægter: *Respirovirus* (HPIV1 og HPIV3) og *Rubulavirus* (HPIV2 og HPIV4). HPIV4 inkluderer to undertyper: HPIV4a og HPIV4b, baseret på antigen-forskelle.³ Alle fire undertyper er meget smitsomme, sæsonmæssige patogener i luftvejene, som kan inficere både de øvre luftveje (URT) og de nedre luftveje (LRT) hos børn og voksne. Der forekommer primært overførsel via dråber fra luftvejene og kontakt med kontaminerede overflader. Efter infektion binder HPIV'erne sig til og replikeres i de cilierede epitelceller i URT og LRT.² Reinfektion er almindelig, og den beskyttende immunitet, der opnås i barndommen, er ufuldstændig, hvilket medfører tilbagevendende reinfektioner gennem hele voksenlivet som regel med milde og selvbegrænsende symptomer med undtagelse af ældre eller immunkompromitterede voksne, hvor der er en højere risiko for alvorlig og livstruende lungebetændelse.²

Infektioner i URT og LRT kan skyldes forskellige virale arter, svampearter og bakterielle arter hos voksne og børn.⁴⁻⁶ HPIV'er nogle af de almindeligt forekommende ætiologiske stoffer i luftvejsinfektioner og findes blandt ca. 17 % af børn under 5 år ifølge ambulante undersøgelser.² De forskellige HPIV-serotyper har forskellig prævalens, sæsonmæssige mønstre, epidemiologiske følger og kliniske profiler. Ifølge det amerikanske National Respiratory and Enteric Viruses Surveillance System var HPIV3 mellem 1990 og 2004 den mest fremherskende serotype (52 %) efterfulgt af HPIV1 (26 %), HPIV2 (12 %) og HPIV4 (2 %).⁷ HPIV1 og HPIV2 er de primære årsager til strubehoste (akut laryngo-trakeobronchitis), som forårsager 60-75 % af tilfældene, og HPIV3 har været tæt forbundet med bronkiolitis og viral lungebetændelse.² Rettidig identifikation af sygdomsårsagen til luftvejsinfektioner kan reducere brugen af antibiotika.⁸

Begrundelse for PCR-test

Real-time polymerase-kædereaktion (PCR) er en nukleinsyreamplifikationsmetode, der bruges til at detektere specifikke DNA-sekvenser opnået efter ekstraktion og ved revers transskription af RNA. Real-time PCR-teknologien giver mulighed for en hurtig og specifik måling af tilstedeværelsen af gener fra mikroorganismer, der forbindes med smitsomme sygdomme. En af de primære fordele ved denne teknologi er en kombination af hurtighed og sensitivitet, som antigen-detektion eller virusdyrkning ikke kan måle sig med.^{9,10}

Forklaring af testen

cobas® Paraflu 1-4 UC til brug med **cobas omni** Utility Channel på **cobas**® 6800/8800 Systems er en analyse, der bruger automatisk, multiplex, real-time revers transskriptions-polymerase-kædereaktion (RT-PCR) til hurtig *in vitro*-kvalitativ detektion af og skelnen mellem human parainfluenzavirus af serotyperne 1, 2, 3 og 4 (HPIV1-4) i nasofaryngeale pondeprøver (NPS) indsamlet i Copan Universal Transport Medium System (UTM-RT), BD™ Universal Viral Transport System (UVT) eller tilsvarende. Den interne RNA-kontrol, der bruges til at overvåge hele prøveforberedelsen og PCR-amplifikationsprocessen, tilsættes i hver prøve under prøvebehandlingen. Derudover bruger testen eksterne kontroller (en positiv kontrol med lav titer og en negativ kontrol).

Principper for proceduren

cobas® Paraflu 1-4 UC til brug med **cobas omni** Utility Channel er baseret på fuldautomatisk prøveforberedelse (nukleinsyreekstraktion og -oprensning) efterfulgt af PCR-amplifikation og -detektion. **cobas**® 6800/8800 Systems består af prøvforsyningsmodulet, transfermodulet, processeringsmodulet og analysemodulet. Automatiseret dataadministration udføres ved hjælp af **cobas**® 6800/8800-systemsoftwaren, som tilknytter testresultater til alle test. Resultaterne kan gennemses direkte på systemets skærm og udskrives som en rapport.

Nukleinsyrer fra patientprøver og tilsatte intern kontrol-RNA-molekyler (RNA IC) ekstraheres samtidigt. Nukleinsyrer frigives ved tilsætning af proteinase og lysisreagens i prøven. De frigivne nukleinsyrer binder sig til siliciumoverfladen på de tilsatte magnetiske glaspartikler. Ubundne stoffer og urenheder, som f.eks. denaturerede proteiner, cellepartikler og potentielle PCR-hæmmere, fjernes efterfølgende med vaskereagenstrin, og oprensede nukleinsyrer elueres fra de magnetiske glaspartikler med elueringsbuffer ved forhøjet temperatur. Eksterne kontroller (positive og negative) behandles på samme måde ved hver **cobas**® Paraflu 1-4 UC-kørsel.

cobas® Paraflu 1-4 UC indeholder HPIV1-4-primere og -prober, der bruges sammen med **cobas omni** Utility Channel Master Mix Reagent 2 (UC MMX-R2) og den 192-testkassette, der er inkluderet i **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit. 192-testkassetten indeholder en intern kontrol, der genkendes af de specifikke primere og prober, der er inkluderet i **cobas omni** Utility Channel Master Mix Reagent 2 (UC MMX-R2).

Selektiv amplifikation af target-nukleinsyre fra prøven og den positive kontrol opnås ved brug af target-virusspecifikke forward og reverse primere, som er udvalgt blandt konserverede regioner i generne HPIV1 (L polymerase-protein), HPIV2 (stort protein), HPIV3 (nucleocapsid-protein) og HPIV4 (stort protein). Selektiv amplifikation af den interne RNA-kontrol opnås ved brug af ikke-konkurrerende sekvensspecifikke forward og reverse primere, som ikke har nogen homologi med HPIV1-4-genomerne. Amplificeret target detekteres ved kløvning af en fluorescensmærket oligonukleotid probe. Der anvendes et termostabilt DNA-polymerase-enzym til amplifikation.

Den forberedte **cobas**® Paraflu 1-4 UC Master Mix indeholder detektionsprober, der er specifikke for human para-influenzavira 1-4 og nukleinsyre fra intern RNA-kontrol. Detektionsprober til HPIV1-4 og intern RNA-kontrol markeres hver især med entydige fluorescensfarver, der fungerer som et rapportfarvestof. Hver probe har også en sekundær farve, der fungerer som et quencherfarvestof. Når fluorescenssignalerne ikke er bundet til target-sekvensen, undertrykkes de i de intakte prober af quencherfarvestoffet. Under PCR-amplifikationstrinnet medfører hybridiseringen af proberne til den specifikke enkeltstrengede DNA-template en kløvning af proben vha. 5' til 3'-exonukleaseaktiviteten i DNA-polymerasen, hvilket resulterer i separation af rapport- og quencherfarvestofferne og derved generering af et fluorescenssignal. For hver PCR-cyklus genereres øgede mængder af kløvede prober, og det samlede signal fra rapportfarvestoffet forøges tilsvarende. Hvert rapportfarvestof måles ved definerede bølgelængder, hvilket giver mulighed for samtidig detektion af og skelnen mellem det amplificerede target og den interne RNA-kontrol. Master mix'et indeholder deoxyuridintrifosfat (dUTP) i stedet for deoxythymidin-trifosfat (dTTP), som inkorporeres i det nyligt syntetiserede DNA (amplikon). Ethvert kontaminerende amplikon fra tidligere PCR-kørsler ødelægges af AmpErase-enzymet [uracil-N-glycosylase], som er inkluderet i PCR-mixet, ved opvarmning under den første termiske cyklus. Nyligt dannede amplikoner ødelægges dog ikke, da AmpErase-enzymet inaktiveres, når det udsættes for temperaturer over 55 °C.

Reagenser og materialer

De medfølgende materialer til cobas® Paraflu 1-4 UC findes i Tabel 1. Nødvendige men ikke medfølgende materialer findes i Tabel 2, Tabel 3, Tabel 4, Tabel 5 og Tabel 9.

cobas® Paraflu 1-4 UC-reagenser og -kontroller

Alle uåbnede reagenser og kontroller skal opbevares som anbefalet i Tabel 1 til Tabel 5.

Tabel 1 cobas® Paraflu 1-4 UC (primere og prober)

Opbevares ved 2-8 °C
(P/N 09555617190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit 192 tests
Paraflu 1-4 UC PP	Tris-buffer, 0,015 % EDTA, upstream og downstream primere for HPIV1-4, fluorescensmærkede oligonukleotidprober, der er specifikke for HPIV1-4, 0,05 % natriumazid	1 × 0,65 ml

Tabel 2 cobas® Paraflu 1-4 UC Control Kit

Opbevares ved 2-8 °C
(P/N 09555587190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit
Paraflu 1-4 UC (+) C	Lineær syntetisk HPIV1-4 DNA, tris-buffer, 0,05 % natriumazid, 0,01 % EDTA, < 0,003 % Poly rA	16 ml (10 × 1,60 ml)

Tabel 3 cobas omni Utility Channel Reagent Kit (UC)

Opbevares ved 2-8 °C

(P/N 09052011190)

Reagenser	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit 192 tests
Kassette med 192 test		
Proteinaseopløsning (PASE)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, kalciumklorid, kalciumacetat, 8 % proteinase, glycerol EUH210: Sikkerhedsdatablad kan på anmodning rekvireres. EUH208: Indeholder subtilisin fra <i>Bacillus subtilis</i> . Kan udløse allergisk reaktion.	22,3 ml
RNA intern kontrol (RNA-QS)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % armored RNA-konstruktion, der indeholder primer- og probespecifikke sekvensområder (ikke-infektøst RNA i MS2-bakteriofag), < 0,1 % natriumazid	21,2 ml
Elueringsbuffer (EB)	Tris-buffer, 0,2 % methyl-4 hydroxybenzoat	21,2 ml
Master Mix-reagens 1 (MMX-R1)	Manganacetat, kaliumhydroxid, < 0,1 % natriumazid	7,5 ml
R2 tom beholder (R2 EV)	Ikke relevant	1
Flaske med Master Mix-reagens 2		
cobas omni Utility Channel Master Mix Reagent 2 (UC MMX-R2)	Tricinbuffer, kaliumacetat, < 18 % dimethylsulfoxid, glycerol, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01 % forward og reverse primere for intern kontrol, < 0,01 % fluorescensmærkede oligonukleotide prober, der er specifikke for RNA-IC, < 0,01 % oligonukleotid aptamer, < 0,01 % Z05D DNA-polymerase, < 0,1 % AmpErase-enzym (uracil-N-glycosylase) (mikrobielt), < 0,1 % natriumazid	19,6 ml (2 × 9,8 ml)

Tabel 4 cobas® Buffer Negative Control Kit


Opbevares ved 2-8 °C

(P/N 09051953190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit
cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)	Tris-buffer, < 0,1 % natriumazid, EDTA, < 0,002 % Poly rA RNA (syntetisk)	16 ml (16 × 1 ml)

cobas omni-reagenser til prøveforberedelse

Tabel 5 cobas omni-reagenser til prøveforberedelse*

Reagenser	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Opbevares ved 2-8 °C (P/N 06997546190)	Magnetiske glaspartikler, tris-buffer, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat, < 0,1 % natriumazid	480 tests	Ikke relevant
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Opbevares ved 2-8 °C (P/N 06997511190)	Tris-buffer, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat, < 0,1 % natriumazid	4 × 875 ml	Ikke relevant
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Opbevares ved 2-8 °C (P/N 06997538190)	42,56 % (w/w) guanidin-thiocyanat***, 5 % (w/v) polidocanol***, 2 % (w/v) dithiothreitol***, natriumcitratdihydrat EUH032: Udvikler meget giftig gas ved kontakt med syre.	4 × 875 ml	 <p>FARE</p> <p>H302 + H332: Farlig ved indtagelse eller indånding. H314: Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader. H411: Giftig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. P273: Undgå udledning til miljøet. P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjebeskyttelse/ansigtsbeskyttelse/høreværn. P303 + P361 + P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand. P304 + P340 + P310: VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. P305 + P351 + P338 + P310: VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. P391: Udslip opsamles. 593-84-0 Guanidiniumthiocyanat 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutan-2,3-diol</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Opbevares ved 15-30 °C (P/N 06997503190)	Natriumcitratdihydrat, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat	4,2 l	Ikke relevant

* Disse reagenser er ikke inkluderet i cobas® Paraflu 1-4 UC-kittet. Se listen over yderligere påkrævede materialer (Tabel 8).

** Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

*** Biologisk farlig stof.

Krav til opbevaring og håndtering af reagenser

Reagenser skal opbevares og håndteres som angivet i Tabel 6 og Tabel 7.

Når reagenserne ikke er indsat på cobas® 6800/8800 Systems, skal de opbevares ved den temperatur, der er angivet i Tabel 6.

Tabel 6 Opbevaring af reagenser (når reagenset ikke er på systemet)

Reagens	Opbevaringstemperatur
cobas® Paraflu 1-4 UC ^a	2-8 °C
cobas® Paraflu 1-4 UC Control Kit	2-8 °C
cobas omni Utility Channel Reagent 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

^a Den forberedte reagenskassette kan opbevares i op til 7 dage ved 2-8 °C før første brug. Efter første brug skal du se forholdene omkring udløb af cobas omni Utility Channel Reagent Kit i Tabel 7.

Reagenser, der er indsat på cobas® 6800/8800 Systems, opbevares ved de relevante temperaturer, og deres udløbsdato overvåges af systemet. cobas® 6800/8800 Systems giver kun mulighed for brug af reagenserne, hvis alle de betingelser, der er vist i Tabel 7, overholdes. Systemet forhindrer automatisk brugen af udløbne reagenser. Tabel 7 giver brugeren mulighed for at få et indblik i de betingelser for reagenshåndtering, der håndhæves af cobas® 6800/8800 Systems.

Tabel 7 Udløbsbetingelser for reagenser som håndhævet af cobas® 6800/8800 Systems

Reagens	Udløbsdato for kittet	Holdbarhed for åbent kit	Antal kørsler, som dette kit kan bruges i	Holdbarhed på systemet (samlet tid på systemet uden for køleskab)
cobas omni Utility Channel Reagent Kit	Dato ikke overskredet	90 dage fra første brug	Maks. 40 kørsler	Maks. 40 timer
cobas® Buffer Negative Control Kit	Dato ikke overskredet	Ikke relevant ^a	Ikke relevant	Maks. 10 timer
cobas omni Lysis Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning ^b	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni MGP Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning ^b	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni Specimen Diluent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning ^b	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni Wash Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning ^b	Ikke relevant	Ikke relevant

^a Reagenser til engangsbrug

^b Tiden måles fra første gang, det pågældende reagens indsættes på cobas® 6800/8800 Systems.

Yderligere nødvendige materialer

Tabel 8 Materialer og forbrugsartikler til brug på **cobas®** 6800/8800 Systems

Materiale	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Sample Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Pose til fast affald og beholder til fast affald eller Pose til fast affald med indsats og kitskuffe til fast affald – opdatering	07435967001 og 07094361001 eller 08030073001 og 08387281001
cobas omni Secondary Tubes 13 × 75 (valgfrit)	06438776001

Påkrævede instrumenter og software

cobas® 6800/8800-softwaren og **cobas®** Paraflu 1-4 UC-analysepakken skal være installeret på instrumentet eller instrumenterne. IG-serveren (Instrument Gateway-serveren) følger med systemet.

Tabel 9 Instrumenter

Udstyr	P/N
cobas® 6800 System (flytbar systemopsætning)	05524245001 og 06379672001
cobas® 6800 System (fast)	05524245001 og 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Prøveforsyningsmodul	06301037001
Instrument Gateway (IG)	06349595001
TWN3 Legic NFC USB (RFID Reader/Writer)	07450460001
Ekstern pc med fjernforbindelse leveret af kunden	Ikke relevant
Barkodeprinter	Ikke relevant

Se brugervejledningen og/eller brugerassistancen til **cobas®** 6800/8800 Systems for at få yderligere oplysninger.

Bemærk! Kontakt den lokale Roche-repræsentant for at få en detaljeret ordreliste til prøveracks, racks til clottede spidser og rackbakker, der er godkendt på instrumenterne.

Krav til forholdsregler og håndtering

Advarsler og forholdsregler

Som ved alle testprocedurer er det vigtigt med god laboratoriepraksis, for at analysen skal kunne fungere korrekt. På grund af testens høje sensitivitet skal man være omhyggelig med at undgå, at reagenser og amplifikationsblandinger kontamineres.

- Kun til *in vitro*-diagnostik brug.
- **cobas**® Paraflu 1-4 UC er ikke evalueret til brug som en screeningstest for tilstedeværelsen af HPIV1-4 i andre prøver end NPS-prøver.
- Alle patientprøver skal håndteres som smittefarligt materiale ved brug af gode laboratorieprocedurer som dem, der er beskrevet i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories og i CLSI-dokumentet M29-A4.^{11,12} Denne procedure må kun udføres af medarbejdere, der er uddannet i brugen af **cobas**® Paraflu 1-4 UC og **cobas**® 6800/8800 Systems.
- Alt materiale, der stammer fra mennesker, skal betragtes som potentielt smittefarligt og skal håndteres med generelle sikkerhedsforanstaltninger. Hvis der spildes materiale, skal det berørte område straks desinficeres med en nyfremstillet 0,5 % opløsning af natriumhypoklorit i destilleret eller deioniseret vand (fortyndet blegemiddel 1:10), eller de relevante procedurer for laboratoriet følges.
- Det anbefales at bruge sterile engangspipetter og nukleasefri pipettespidser. Brug kun medfølgende eller specificerede forbrugsartikler for at sikre testens optimale performance.
- Der kan rekvireres sikkerhedsdatablade (SDS'er) ved henvendelse til den lokale Roche-repræsentant.
- Følg de angivne procedurer og retningslinjer nøje, så testen udføres korrekt. Eventuelle afvigelser fra procedurerne og retningslinjerne kan påvirke den optimale performance for testen.
- Der kan forekomme falsk-positive resultater, hvis krydskontaminering ikke kontrolleres tilstrækkeligt under håndtering og behandling af prøver.
- Informer den lokale kompetente myndighed om eventuelle alvorlige hændelser, der kan opstå ved brug af denne analyse.

Håndtering af reagenser

- Håndter alle reagenser, kontroller og prøver i overensstemmelse med god laboratoriepraksis for at undgå krydskontaminering af prøver eller kontroller.
- Inspicer reagenskassette og -flasker, diluent, lysisreagens og vaskereagens visuelt før brug for at sikre, at der ikke er tegn på utætheder. Materialet må ikke anvendes til test, hvis der er tegn på utætheder.
- **cobas omni** Lysis Reagent indeholder guanidinthiocyanat, der er et potentielt farligt kemikalie. Undgå, at hud, øjne og slimhinder kommer i kontakt med reagenser. Ved kontakt skylles straks med rigelige mængder vand. Ellers kan der opstå ætsninger.
- **cobas**® Paraflu 1-4 UC, **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent og **cobas omni** Specimen Diluent indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Undgå, at hud, øjne og slimhinder kommer i kontakt med reagenser. Ved kontakt skylles straks med rigelige mængder vand. Ellers kan der opstå ætsninger. Hvis disse reagenser spildes, fortyndes med vand, før de tørres op.
- **cobas omni** Lysis Reagent, som indeholder guanidinthiocyanat, må ikke komme i kontakt med natriumhypoklorit (blegemiddel). Denne blanding kan danne en meget giftig gas.

- Alt materiale, der har været i kontakt med prøver og reagenser, skal bortskaffes i overensstemmelse med nationale, regionale og lokale bestemmelser.

God laboratoriepraksis

- Brug ikke mundpipettering.
- Der må ikke spises, drikkes eller ryges i de angivne arbejdsområder.
- Anvend beskyttelseshandsker, særligt arbejdstøj og øjenbeskyttelse ved håndtering af prøver og reagenser. Handskerne skal skiftes mellem håndtering af prøver og cobas® Paraflu 1-4 UC-kits, cobas® Paraflu 1-4 UC Control-kits, cobas omni Utility Channel Reagent-kits, cobas® Buffer Negative Control-kits og cobas omni-reagenser for at forhindre kontaminering. Undgå at kontaminere handsker ved håndtering af prøver og kontroller.
- Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og kitreagenser og efter aftagning af handskerne.
- Rengør og desinficer alle arbejdsflader i laboratoriet grundigt med blegemiddel fortyndet med deioniseret eller destilleret vand til en 0,5 % opløsning af natriumhypoklorit (fortyndet blegemiddel 1:10). Opløsningen skal være nyfremstillet. Tør overfladen efter med 70 % ethanol.
- Hvis der spildes materiale på cobas® 6800/8800-instrumentet, skal anvisningerne i brugervejledningen og/eller brugerassistancen til cobas® 6800/8800 Systems følges for korrekt rengøring og dekontaminering af instrument-overfladerne.

Indsamling, transport og opbevaring af prøver

Bemærk! Alle prøver og kontroller skal håndteres som potentielt smittefarlige.

Opbevar alle prøver ved de angivne temperaturer.

Prøvernes stabilitet påvirkes af forhøjede temperaturer.

Sørg for, at prøverne tempereres til stuetemperatur, før de overføres til et sekundært cobas omni-rør.

Prøvetagning

- Nasofaryngeale prøver skal tages i henhold til den standardmæssige prøvetagningsteknik ved hjælp af podepinde med fløjsstruktur-spids og straks anbringes i 3 ml Copan Universal Transport Medium (UTM-RT), BD™ Universal Viral Transport (UVT) eller tilsvarende.
- Se brugsanvisningen til prøvetagningsbeholderne for oplysninger om farer.

Transport og opbevaring

- Transport af prøver skal overholde alle gældende bestemmelser for transport af ætiologiske stoffer.
- Efter indsamling kan prøverne opbevares i primære rør i op til 4 timer ved 15-25 °C, op til 3 dage ved 2-8 °C eller op til 30 dage ved -20 °C til -80 °C med maksimalt 3 nedfrysninger/optøninger.

Brugsanvisning

Procedurebemærkninger

- Analysen er kun beregnet til brug med **cobas**® Paraflu 1-4 UC USAP fra Roche.
- Brug ikke **cobas** **omni** Utility Channel Reagent Kit-, **cobas**® Buffer Negative Control Kit-, **cobas**® Paraflu 1-4 UC-, **cobas**® Paraflu 1-4 UC Control Kit- eller **cobas** **omni**-reagenser efter deres udløbsdatoer.
- Brug kun de UC MMX-R2-flasker, der følger med reagenskassetten.
- Genanvend ikke forbrugsartikler. De er kun beregnet til engangsbrug.
- Kontrollér, at prøvens barkodemærkat på prøverørene er synlige gennem åbningen i siden af de pågældende prøverack. Se brugervejledningen til **cobas**® 6800/8800 Systems for at få oplysninger om de korrekte barkode-specifikationer og yderligere oplysninger om indsætning af prøverørene.
- Se brugervejledningen og/eller brugerassistancen til **cobas**® 6800/8800 Systems for at få oplysninger om korrekt vedligeholdelse af instrumenterne.

Kørsel af cobas® Paraflu 1-4 UC

cobas® Paraflu 1-4 UC kan køres med en minimumsprøvevolumen på 0,6 ml i det sekundære cobas omni-rør til prøver, der er indsamlet i Copan Universal Transport Medium (UTM-RT), BD™ Universal Viral Transport (UVT) eller tilsvarende.

Figur 1 cobas® Paraflu 1-4 UC-testprocedure

1	<p>Log på systemet Tryk på Start for at forberede systemet Bestil test</p>
2	<p>Genopfyld reagenser og forbrugsartikler som angivet af systemet:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Indsæt den testspecifikke reagenskassette • Indsæt kontrolkassetter • Indsæt pipettespidser • Indsæt processeringsplader • Indsæt MGP-reagens • Indsæt amplifikationsplader • Genopfyld prøvediluent • Genopfyld lysisreagens • Genopfyld vaskereagens
3	<p>Indsæt prøver i systemet:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Indsæt prøverackene og rackene til clottede spidser i prøveforsyningsmodulet • Bekræft, at prøverne er blevet accepteret i transfermodulet
4	<p>Start kørslen ved at vælge knappen til manuel start (Start manually) i brugerinterfacet, eller få den til at starte automatisk efter 120 minutter, eller hvis batchen er fuld</p>
5	<p>Gennemse og eksportér resultater</p>
6	<p>Fjern og sæt om nødvendigt låg på de prøverør, der opfylder den påkrævede mindstevolumen, til fremtidig brug</p> <p>Rengør instrumentet:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Udtag tomme kontrolkassetter • Tøm plastikbeholder med amplifikationsplader • Tøm flydende affald • Tøm fast affald

Forberedelse af reagenskassetten

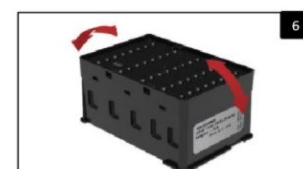
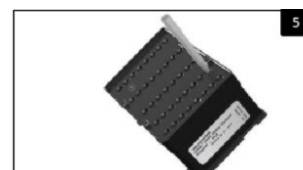
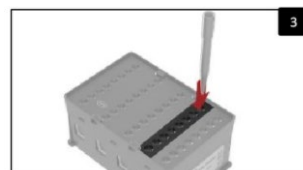
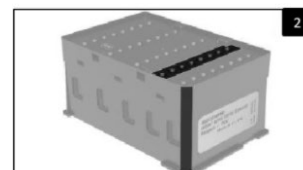
PCR MMX R2 forberedes med en blanding af Master Mix Reagent 2 (UC MMX-R2) og **cobas®** Paraflu 1-4 UC-primere og -prober, der kommer i det pågældende **cobas omni** Utility Channel Reagent-kits 192-testkassette.

- Tag Master Mix Reagent 2 (UC MMX-R2, se billede 1) fra **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit og **cobas®** Paraflu 1-4 UC-primere og -prober ud fra, hvor de er opbevaret på køl ved 2-8 °C.
- Bland UC MMX-R2 på rullemixeren i 5 minutter ved stuetemperatur.
Bemærk! Hvis der ikke er nogen rullemixer tilgængelig, skal du vende flasken 20 gange.
- Overfør 10 ml UC MMX-R2-reagens til det lysbeskyttede polypropylenrør.
Bemærk! Se brugerassistancen til cobas omni Utility Channel for at få oplysninger om valget af trin til overførslen.
- Bland og centrifuger **cobas®** Paraflu 1-4 UC-primere og -prober.
- Tilsæt 0,600 ml **cobas®** Paraflu 1-4 UC-primere og -prober (se Tabel 1) til det lysbeskyttede polypropylenrør.
- Bland polypropylenrøret i 5 minutter på rullermixeren.
Bemærk! Hvis der ikke er nogen rullemixer tilgængelig, skal du vende flasken 20 gange.



Reagenskassetten forberedes ved at komme PCR Mix i reagenskassetten fra **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit.

- Placer reagenskassetten ved at placere den skrå kant ved det nedre højre hjørne (se billede 2).
Bemærk! Den anden række fra højre side indeholder den tomme MMX-beholder.
- Placer en 1 ml pipettespids af plastik i det øverste membran hul i række 2 (se billede 3).
Bemærk! Pipettespiden giver mulighed for tilpasning af lufttrykket i beholderen under tilsætning af den forberedte PCR Mix.
- Tag en doseringspipette med en 10 ml pipettespids. Fyld pipettespiden med 9,7 ml af den forberedte PCR Mix.
- Indsæt den klargjorte pipette i det nederste membran hul i reagenskassetten. Gennembor membranen dybt nok til, at der ikke spildes noget i række 2 (se billede 4).
- Vip reagenskassetten til en vinkel på 45° i længderetningen fra bunden. Sørg for, at kassetten vippes langs den kant, hvor pipetten med spidsen på 10 ml indsættes (se billede 5).
- Pipetter langsomt og forsigtigt 9,7 ml af den forberedte PCR Mix gennem den nederste membran i den tomme beholder i række 2 (se billede 5). Afpipetter om muligt den forberedte PCR Mix i én enkelt bevægelse. Sørg for, at der pipetteres den korrekte mængde forberedt PCR Mix.
- Sørg for, at der ikke er noget væske i pipettespiden til 1 ml, og fjern den fra membranen.
Bemærk: Hvis der er væske i spidsen, skal du dreje spidsen forsigtigt for at frigøre væsken fra spidsen og tilbage i kassetten. Hvis der stadig er væske i spidsen til 1 ml, skal du gøre følgende: Brug doseringspipetten med en spids til 10 ml, og fjern noget af den pipetterede PCR Mix fra kassettebeholderen, indtil der ikke er noget væske tilbage i spidsen til 1 ml. Pipetter langsomt og forsigtigt eventuel væske i pipettespiden til 10 ml tilbage i beholderen. Når begge spidser er tomme, kan spidserne fjernes fra kassetten.



- Vip langsomt reagenskassetten 20 gange for at fjerne eventuelle luftbobler fra den nyligt fyldte beholder (se billede 6).
- På mærkatet til 192-testkassetten fra **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit angives analysenavnet (**cobas**® Paraflu 1-4 UC), forberedelsesdatoen for kassetten, lotnummeret for de anvendte analysekit-primere og -prober (P&P Mix Lot) og markering af afkrydsningsfeltet "P&P Added" for at bekræfte, at der er tilsat primer- og probeblanding.

RFID-mærkatet for den forberedte **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit-reagenskassetten mærkes som følger:

- Åbn **cobas omni** Utility Channel Tool ved hjælp af startikonet for Roche Utility Channel Tool på skrivebordet.
- Klik på knappen "Open UC analysis package", og vælg filen USAP.zip i afsnittet med de senest brugte UC-specifikke analysepakker, eller hent UC_PARA USAP ved at bruge "Open published UC analysis package to write on reagent cassette RFID tag". Skærbilledet med UC-analysepakken åbnes på fanen UCAP.
- På panelet med UC-analysepakken skal du klikke på knappen "Reagent cassette".
- Angiv lotnummeret for det pågældende **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit i det tilsvarende felt for lot-id'et for reagenskassetten.
- Placer RFID Reader/Writer ud for RFID-mærket for den Utility Channel-reagenskassette, der skal skrives på.
- Klik på knappen "Write data on the RFID tag" for at skrive RFID-mærkatet.
- Sæt den forberedte reagenskassette i **cobas**® 6800/8800 Systems.
- Den forberedte reagenskassette kan opbevares i op til 7 dage ved 2-8 °C før første brug. Efter første brug skal du se forholdene omkring udløb af **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit i Tabel 7.

Forbered prøver og kontroller

Der skal udføres en positiv kontrol som prøve i hver kørsel og for hver nye reagenskassette. For at være sikker på, at hver kontrolbatch indeholder en positiv kontrol, anbefales det at bruge hele **cobas omni** Utility Channel-reagenskassetten, før der indsættes en ny **cobas omni** Utility Channel-reagenskassette.

Prøver, der er indsamlet i Copan Universal Transport Medium (UTM-RT), BD™ Universal Viral Transport (UVT) eller tilsvarende og positiv kontrol, skal vortexes og overføres til separate sekundære **cobas omni**-rør (0,6 ml) før analysering på **cobas**® 6800/8800 Systems. Prøver, der overføres til sekundære **cobas omni**-rør, skal behandles ved hjælp af valget af "VTM"-prøvetypen.

Bemærk! Hvis der benyttes frosne NPS-prøver, skal prøverne placeres ved stuetemperatur, indtil de er fuldstændig optøede, og vortexes i 3-5 sekunder før brug.

Vær altid omhyggelig ved overførsel af prøver fra et primært prøvetagningsrør til et sekundært rør.

Brug pipetter med aerosolbarriere- eller "positive displacement"-spidser til at håndtere prøver.

Brug altid en ny pipettespids til hver prøve.

Sørg for, at prøverne tempereres til stuetemperatur, før de overføres til et sekundært cobas omni-rør.

Definer bestillingen af test

Opret en testordre som beskrevet i brugervejledningen til **cobas**® 6800/8800 Systems.

- I feltet med prøvetypen skal du vælge "VTM" i rullemenuen.
- I området for test skal du vælge "UC_PARA" i rullemenuen.
- I området for volumen skal du kontrollere, at volumenen er lig med 400 µl.
- Gem og udfør testen som beskrevet i brugervejledningen til **cobas**® 6800/8800 Systems.

Se brugervejledningen til **cobas**® 6800/8800 Systems for at få flere oplysninger.

Resultater

cobas® 6800/8800 Systems detekterer automatisk HPIV1-4 for hver individuelt behandlede prøve og kontrol og viser individuelle target-resultater for prøver og den positive kontrol samt testens validitet og samlede resultater for den negative kontrol.

Kvalitetskontrol og validitet af resultater

- Der skal behandles én **cobas**® Buffer Negative Control [BUF (-) C] og én **cobas**® Paraflu 1-4 UC Control [Paraflu 1-4 UC (+) C] med hver batch.
- I **cobas**® 6800/8800-softwaren og/eller -rapporten kontrolleres for markeringer og deres tilhørende resultater for at sikre, at batchen er valid.
- Alle flag beskrives i brugervejledningen til **cobas**® 6800/8800 Systems.
- Batchen er valid, hvis der ikke vises markeringer for den negative kontrol, og hvis den positive kontrol er positiv for alle targets. Hvis batchen er invalid, skal man gentage testen af hele batchen.

Der genereres automatisk valideringsresultater af **cobas**® 6800/8800-softwaren baseret på performance for den negative kontrol.

Valideringen med den positive kontrol skal udføres af brugeren baseret på performance for den positive kontrol.

For at bestemme validiteten i denne forbindelse skal man fortolke resultaterne af de kontroller og den IC, der er beskrevet i Tabel 10 nedenfor.

Tabel 10 Fortolkning af validitet for kørsel og resultat

Validitet	Kontrol	Valid	Invalidt	Validering
Kørsel	(-) Ctrl	Angivet som "Valid" i kolonnen "Test Result"	Angivet som "Invalid" i kolonnen "Overall Result" (Alle prøver i testen skal testes igen)	cobas ® 6800/8800 Systems
	(+) Ctrl	Ct-værdi angivet i hver Target-kolonne	Angivet som "Invalid" eller "Negativ" i en af Target-kolonnerne (1, 2, 3 ELLER 4) (Alle prøver i testen skal testes igen)	Bruger
Prøve	IC	Angivet som "Yes" i kolonnen "Valid"	Angivet som "No" i kolonnen "Valid" OG "Target" 1, 2, 3 OG 4: Invalidt (En prøve, der er invalid, skal testes igen)	cobas ® 6800/8800 Systems

Fortolkning af resultater

Hvis kørslen og prøven er valid, er resultatfortolkningen for hvert target baseret på de resultater, der angives af cobas® 6800/8800 Systems og er beskrevet i Tabel 11. Invalide resultater for en eller flere target-kombinationer er mulig og rapporteres specifikt for hver kanal på cobas® 6800/8800 Systems. I sådanne tilfælde skal den oprindelige prøve testes igen for at opnå et validt target-resultat. Hvis target-resultatet stadig er invalidd, skal der tages en ny prøve.

Tabel 11 Fortolkning af cobas® Parflu 1-4 UC-resultater

Target 1 (HPIV2)	Target 2 (HPIV4)	Target 3 (HPIV1)	Target 4 (HPIV3)	Fortolkning
HPIV2 Negativ	Enhver	Enhver	Enhver	Target-resultatet for HPIV2 er validt. Resultatet for HPIV2 RNA er "Not Detected".
HPIV2 Ct-værdi	Enhver	Enhver	Enhver	Target-resultatet for HPIV2 er validt. Resultatet for HPIV2 RNA er "Detected".
Invalidd	Enhver	Enhver	Enhver	Target-resultatet for HPIV2 er invalidd. Prøven skal testes igen. Hvis resultatet stadig er invalidd, skal der tages en ny prøve.
Enhver	HPIV4 Negativ	Enhver	Enhver	Target-resultatet for HPIV4 er validt. Resultatet for HPIV4 RNA er "Not Detected".
Enhver	HPIV4 Ct-værdi	Enhver	Enhver	Target-resultaterne for HPIV4 er valide. Resultatet for HPIV4 RNA er "Detected".
Enhver	Invalidd	Enhver	Enhver	Target-resultatet for HPIV4 er invalidd. Prøven skal testes igen. Hvis resultatet stadig er invalidd, skal der tages en ny prøve.
Enhver	Enhver	HPIV1 Negativ	Enhver	Target-resultatet for HPIV1 er validt. Resultatet for HPIV1 RNA er "Not Detected".
Enhver	Enhver	HPIV1 Ct-værdi	Enhver	Target-resultaterne for HPIV1 er valide. Resultatet for HPIV1 RNA er "Detected".
Enhver	Enhver	Invalidd	Enhver	Target-resultatet for HPIV1 er invalidd. Prøven skal testes igen. Hvis resultatet stadig er invalidd, skal der tages en ny prøve.
Enhver	Enhver	Enhver	HPIV3 Negativ	Target-resultatet for HPIV3 er validt. Resultatet for HPIV3 RNA er "Not Detected".
Enhver	Enhver	Enhver	HPIV3 Ct-værdi	Target-resultaterne for HPIV3 er valide. Resultatet for HPIV3 RNA er "Detected".
Enhver	Enhver	Enhver	Invalidd	Target-resultatet for HPIV3 er invalidd. Prøven skal testes igen. Hvis resultatet stadig er invalidd, skal der tages en ny prøve.
Invalidd	Invalidd	Invalidd	Invalidd	Ingen af target-resultaterne er valide. Prøven skal testes igen. Hvis resultatet stadig er invalidd, skal der tages en ny prøve.

Begrænsninger ved procedureerne

- **cobas**® Paraflu 1-4 UC er kun evalueret til brug sammen med **cobas**® Paraflu 1-4 UC Control Kit, **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit, **cobas**® Buffer Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent og **cobas omni** Wash Reagent til brug på **cobas**® 6800/8800 Systems.
- Analysen er kun beregnet til brug med UC_PARA USAP fra Roche.
- Pålidelige resultater er afhængige af korrekte procedurer til prøvetagning, -opbevaring og -håndtering.
- Denne test er beregnet til detektion af HPIV1-4 i nasofaryngeale podeprøver, der er indsamlet i et Copan UTM-RT System (UTM-RT), BD™ Universal Viral Transport System (UVT) eller tilsvarende. Test af andre prøvetyper med **cobas**® Paraflu 1-4 UC kan medføre unøjagtige resultater.
- Detektion af HPIV1-4-nukleinsyre kan påvirkes af prøvetagningsmetoder, patientfaktorer (f.eks. forekomst af symptomer) og/eller infektionsstadiet.
- Som med enhver molekylær test kan mutationer i target-regionerne i **cobas**® Paraflu 1-4 UC påvirke primere og/eller probebindingsresultater, hvilket medfører manglende evne til at detektere virussen.
- Der kan forekomme falsk-negative eller invalide resultater pga. interferens. Den interne kontrol er inkluderet i **cobas**® Paraflu 1-4 UC (i **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit) for at hjælpe med at identificere de prøver, der indeholder stoffer, som kan påvirke isoleringen af nukleinsyrer og PCR-amplifikation.
- Tilsætningen af AmpErase-enzym til **cobas omni** Utility Channel Master Mix-reagenset aktiverer den selektive amplifikation af target-nukleinsyre. Kontaminering fra reagenser kan dog kun undgås med god laboratoriepraksis og nøje overholdelse af de procedurer, der er angivet i denne brugervejledning.

Evaluering af ikke-klinisk performance

Vigtige egenskaber for performance

Detektionsgrænse (LoD)

Detektionsgrænserne for cobas® Paraflu 1-4 UC blev bestemt ved at analysere serielle fortyndinger af HPIV1-, HPIV2-, HPIV3- og HPIV4-stammer leveret og kvantificeret i TCID₅₀/ml (ZeptoMetrix), i en pool med HPIV-negative NPS-prøver. Paneler med seks koncentrationsniveauer inklusive et negativt panelmedlem blev testet med cobas® Paraflu 1-4 UC. Undersøgelsen påviser, at cobas® Paraflu 1-4 UC detekterer HPIV1, HPIV2, HPIV3 og HPIV4 ved de respektive koncentrationer på 8,56E-02, 1,12E-01, 4,35E-02 og 1,97E+01 TCID₅₀/ml (Tabel 12).

Tabel 12 LoD-bestemmelse

Virusstamme	Matrix	LoD _{95%} (TCID ₅₀ /ml)	LoD på 95% CI (TCID ₅₀ /ml)	Hit rate ≥ 95% (TCID ₅₀ /ml)	Gnsn. Ct ved ≥ 95% hit rate
HPIV1	NPS	8,56E-02	5,30E-02 - 2,00E-01	1,86E-01	34,35
HPIV2	NPS	1,12E-01	5,32E-02 - 1,71E-01	4,11E-01	38,56
HPIV3	NPS	4,35E-02	2,76E-02 - 9,78E-02	9,27E-02	35,26
HPIV4	NPS	1,97E+01	1,43E+01 - 3,43E+01	5,00E+01	37,31

Præcision – intra-laboratorium

Præcisionen af cobas® Paraflu 1-4 UC blev bestemt ved at analysere to koncentrationer (3 × og 10 × LoD_{95%}) af HPIV1-, HPIV2-, HPIV3- og HPIV4-isolaterne tilsat enkeltvist i UTM suppleret med relevante koncentrationer af genomisk DNA og mucin for at efterligne NPS-prøven (UTM Matrix). Prøverne blev testet over fem dage med tre cobas® Paraflu 1-4 UC-reagenslot og af tre brugere på ét instrument. Hver af prøverne blev kørt igennem hele cobas® Paraflu 1-4 UC-proceduren på et fuldautomatisk cobas® 6800/8800 Systems. Resultaterne vises i Tabel 13.

Tabel 13 Oversigt over præcision

Target	Tilsat koncentrations- niveau	Variabilitet mellem brugere			Variabilitet mellem cobas® Paraflu 1-4 UC- reagenslot			Variabilitet mellem dag/kørsler		
		Gnsn. Ct	SD	CV (%)	Gnsn. Ct	SD	CV (%)	Gnsn. Ct	SD	CV (%)
HPIV1	3 × LoD _{95%}	34,37	0,50	1,46	34,03	0,51	1,49	34,46	0,48	1,41
	10 × LoD _{95%}	33,08	0,33	1,00	33,04	0,84	2,55	33,39	0,35	1,05
HPIV2	3 × LoD _{95%}	33,93	0,06	0,19	33,55	0,99	2,95	34,10	0,31	0,90
	10 × LoD _{95%}	31,55	0,42	1,34	31,52	0,41	1,30	31,58	0,31	1,00
HPIV3	3 × LoD _{95%}	33,53	0,51	1,52	33,19	0,89	2,67	33,98	0,45	1,32
	10 × LoD _{95%}	31,70	0,27	0,84	31,48	0,72	2,27	31,81	0,40	1,27
HPIV4	3 × LoD _{95%}	33,24	0,39	1,17	32,72	0,97	2,95	33,17	0,74	2,23
	10 × LoD _{95%}	31,47	0,35	1,11	30,79	0,80	2,58	31,59	0,38	1,21

Reproducerbarhed

Reproducerbarheden af cobas® Parafllu 1-4 UC blev bestemt ved at teste positive panelmedlemmer ved to koncentrationer ($3 \times$ og $10 \times \text{LoD}_{95\%}$) af HPIV1-, HPIV2-, HPIV3- og HPIV4-stammer separat tilsat i UTM Matrix. Prøverne blev testet på to instrumenter/lokaliteter. Hver af prøverne blev kørt igennem hele cobas® Parafllu 1-4 UC-proceduren på et fuld-automatisk cobas® 6800/8800 Systems. Resultaterne vises i Tabel 14.

Tabel 14 Oversigt over reproducerbarhed

Reproducerbarhed				
Target	Tilsat koncentrationsniveau	Gnsn. Ct	SD	CV (%)
HPIV1	$3 \times \text{LoD}_{95\%}$	35,11	0,32	0,92 %
	$10 \times \text{LoD}_{95\%}$	33,50	0,10	0,31 %
HPIV2	$3 \times \text{LoD}_{95\%}$	34,47	0,71	2,06 %
	$10 \times \text{LoD}_{95\%}$	31,70	0,41	1,31 %
HPIV3	$3 \times \text{LoD}_{95\%}$	33,51	0,78	2,34 %
	$10 \times \text{LoD}_{95\%}$	31,87	0,27	0,85 %
HPIV4	$3 \times \text{LoD}_{95\%}$	33,55	0,19	0,57 %
	$10 \times \text{LoD}_{95\%}$	31,35	0,69	2,21 %

Inklusivitet

Ét HPIV1-, fem HPIV2-, to HPIV3-, ét HPIV4a- og ét HPIV4b-isolat(er) blev testet ved $3 \times \text{LoD}_{95\%}$ i UTM Matrix. Resultaterne viser, at cobas® Parafllu 1-4 UC detekterer de isolater, der er angivet i Tabel 15.

Tabel 15 Oversigt over inklusivitet

Target-patogen	Oplysninger om isolat
HPIV1	0810014CF
HPIV2	0810015CF
	0810504CF
	0810355CF/1/2015 isolat nr. 2
	0810356CF/1/2015 isolat nr. 3
	0810357CF/1/2015 isolat nr. 4
HPIV3	0810016CF
	0810368CF/4/2015 isolat nr. 2
HPIV4a	0810060CF
HPIV4b	0810060BCF

Analytisk specificitet (krydsreaktivitet og mikrobiel interferens)

Den analytiske specificitet for cobas® Paraflu 1-4 UC blev evalueret ved at fortynde vira, bakterier, svampe eller gær med og uden HPIV1-, HPIV2-, HPIV3- og HPIV4-stammer co-formuleret i UTM Matrix. Vira blev testet ved enten 1,00E+04 eller 1,00E+05 TCID₅₀/ml eller c/ml. Bakterier, svampe og gær blev testet ved 1,00E+06 CFU/ml, IFU/ml eller CCU/ml. Ingen af disse ikke-HPIV-patogener interfererede med performance for cobas® Paraflu 1-4 UC. Der blev påvist i alt 100 % negative resultater med cobas® Paraflu 1-4 UC for alle HPIV-negative prøver og 100 % positive resultater for alle HPIV1-4-positive prøver.

Tablet 16 Mikroorganismer, der er testet for analytisk specificitet/krydsreaktivitet

Navn på mikroorganisme	Testet koncentration
Adenovirus 5	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1,00E+06 IFU/ml
Coronavirus-SARS-Cov-2	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,00E+06 CFU/ml
Cytomegalovirus (CMV)	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
Enterovirus 71	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
Epstein-Barr-virus (EBV)	1,00E+05 kopier/ml
<i>Escherichia coli</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Haemophilus influenza</i>	1,00E+06 CFU/ml
Herpes simplex-virus 1(HSV-1)	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
Herpes simplex-virus 2(HSV-2)	1,00E+04 TCID ₅₀ /ml
Influenza A H1N1	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
Influenza B	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Legionella pneumophila</i>	1,00E+06 CFU/ml
Mæslingeвирус	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,00E+06 CFU/ml
Human metapneumovirus 4 B2	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
Fåresygevirus	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Mycobacterium avium</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+06 CCU/ml
<i>Neisseria elongata</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Neisseria meningitidis</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,00E+06 CFU/ml
Rhinovirus B42	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml

Navn på mikroorganisme	Testet koncentration
Respiratorisk syncytialvirus A (RSV-A)	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
Respiratorisk syncytialvirus B (RSV-B)	1,00E+05 TCID ₅₀ /ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+06 CFU/ml
<i>Streptococcus salivarius</i>	1,00E+06 CFU/ml
Varicella-Zoster-virus (VZV)	1,00E+05 kopier/ml

Interfererende stoffer

Effekten af potentielt interfererende stoffer på performance for cobas® Paraflu 1-4 UC blev evalueret ved at teste ti eksogene og to endogene stoffer med og uden HPIV1-, HPIV2-, HPIV3- og HPIV4-stammer co-formuleret i UTM Matrix. Både de endogene og eksogene stoffer blev testet ved klinisk relevante koncentrationer (Tabel 17). Ingen af disse stoffer interfererede med performance for cobas® Paraflu 1-4 UC ved de testede koncentrationer. Der blev påvist i alt 100 % negative resultater med cobas® Paraflu 1-4 UC for alle HPIV-negative prøver og 100 % positive resultater for alle HPIV1-4-positive prøver.

Tabel 17 Endogene og eksogene stoffer, der er testet for interferens

Stof	Slutkoncentration
Zanamivir	5 mg/ml
Fluticason (Flixotide-forstøvningsanordninger)	5 % (v/v)
Budesonid	0,039 mg/ml
Mupirocin	5 mg/ml
Oxymetazolin (Nasivin)	5 % (v/v)
Oseltamivir-fosfat	8 mg/ml
Tobramycin	4 µg/ml
Lidocain (Strepsils)	2,68 mg/ml
Benzocain (Dolo-Dobendan)	5 mg/ml
<i>Galphimia glauca</i> , <i>Histaminum hydrochloricum</i> , <i>Luffa operculata</i> , svovl (Luffeel)	5 % (v/v)
Mucin	0,5 % (v/v)
Humant EDTA-fuldblod	1,5 % (v/v)

Evaluering af klinisk performance

Performance for cobas® Paraflu 1-4 UC blev evalueret ved sammenligning med et CE-IVD-kit til detektion af HPIV1-4 (R-DiaHPIV™, Diagenode; produktreferencen: DDGR-84-L100) internt ved hjælp af 222 arkiverede nasofaryngeale prøveprøver (NPS), inklusive både kliniske og konstruerede prøver.

Som vist i Tabel 18 påviste cobas® Paraflu 1-4 UC en høj procentoverensstemmelse med komparator testen til detektion af HPIV1-4.

Tabel 18 Oversigt over klinisk performance for cobas® Paraflu 1-4 UC

Virus	Antal prøver	Testresultater				Overensstemmelsesstatistik		
		Samstemmende positiv (N)	Afvigende positiv (N)	Samstemmende negativ (N)	Afvigende negativ (N)	Overensstemmelsesparameter	Procentoverensstemmelse (%)	95 % CI (LCL, UCL)*
HPIV1	222	55	1	163	3	PPA	94,8 %	(85,9 %, 98,2 %)
						NPA	99,4 %	(96,6 %, 99,9 %)
HPIV2	222	58	2	162	0	PPA	100,0 %	(93,8 %, 100,0 %)
						NPA	98,8 %	(95,7 %, 99,7 %)
HPIV3	221*	30	0	190	1	PPA	96,8 %	(83,8 %, 99,4 %)
						NPA	100,0 %	(98,0 %, 100,0 %)
HPIV4	222	67	1	153	1	PPA	98,5 %	(92,1 %, 99,7 %)
						NPA	99,4 %	(96,4 %, 99,9 %)

* Én prøve blev udelukket fra HPIV3-analysen.

Der blev observeret afvigende resultater mellem cobas® Paraflu 1-4 UC og sammenligningsanalyserne for 9 prøver. For HPIV1 blev tre prøver løst som i overensstemmelse med den retrospektive kliniske status, og sekventeringsresultaterne kunne ikke fortolkes for den fjerde. For HPIV2 blev 1 af de 2 afvigende positive prøver løst som i overensstemmelse med den retrospektive kliniske status for prøveilden. For HPIV3 blev den enkelte afvigende negative prøve løst som i overensstemmelse med den retrospektive kliniske status for prøveilden. For HPIV4 blev de afvigende negative og afvigende positive prøver begge løst som i overensstemmelse med den retrospektive kliniske status for prøveilden.

Yderligere oplysninger

Vigtige testfunktioner





















































Prøvetype	Nasofaryngeale podeprøver indsamlet i Copan UTM-RT® System eller BD™ UVT System eller tilsvarende
Mindste påkrævede prøvemængde	0,6 ml*
Prøveanalyseringsvolumen	0,4 ml
Testvarighed	Resultaterne er tilgængelige inden for mindre end 3,5 timer efter indsætning af prøven på systemet.

* Dødvolumen på 0,2 ml er identificeret for sekundære **cobas omni**-rør. Andre rør, der er kompatible med **cobas**® 6800/8800 Systems (se brugerassistancen), kan have forskellig dødvolumen og kræve mere eller mindre minimumsvolumen.

Symboler

Følgende symboler anvendes på etiketter til Roche PCR-diagnostiske produkter.

Tablet 19 Symboler, der er anvendt på etiketter til Roche PCR-diagnostiske produkter

 Age/DOB Alder eller fødselsdato	 Udstyr, der ikke er til patientnær test	 QS IU/PCR QS IE pr. PCR-reaktion. Brug QS internationale enheder (IE) pr. PCR-reaktion til beregning af resultaterne.
 SW Hjælpesoftware	 Udstyr, der ikke er til selvtest	 SN Serienummer
 Assigned Range [copies/mL] Tildelt interval (kopier/mL)	 Distributør (Bemærk! Gældende land/region kan være angivet under symbolet.)	 Site Sted
 Assigned Range [IU/mL] Tildelt interval (IE/mL)	 Må ikke genbruges	 Procedure Standard Standardprocedure
 EC REP Autoriseret repræsentant i EF	 Kvinder	 STERILE EO Steriliseret med ethylenoxid
 BARCODE Barkodedataark	 Kun til evaluering af IVD-performance	 Opbevares mørkt
 LOT Batchkode	 GTIN Global Trade Item Number	 Temperaturbegrænsning
 Biologisk fare	 Importør	 TDF Testdefinitionsfil
 REF Katalognummer	 IVD Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik	 Denne side op
 CE CE-overensstemmelsesmærkning: Denne enhed stemmer overens med de gældende krav for CE-mærkning af medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik	 LLR Nedre grænse for tildelt interval	 Procedure UltraSensitive Ultrasensitive-procedure
 Collect Date Prøvetagningsdato	 Mænd	 UDI Unik udstyrsidentifikation
 Se brugsanvisning	 Producent	 ULR Øvre grænse for tildelt interval
 Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests	 CONTROL - Negativ kontrol	 Urine Fill Line Urinpåfyldningslinje
 CONTENT Indhold i pakning	 NON STERILE Usteril	 Rx Only Kun USA: Ifølge amerikansk lovgivning må denne enhed kun sælges af eller efter anmodning fra en læge.
 CONTROL Kontrol	 Patientnavn	 Sidste anvendelsesdato
 Fremstillingsdato	 Patientnummer	
 Udstyr til patientnær test	 Riv her	
 Udstyr til selvtest	 CONTROL + Positiv kontrol	
	 QS copies / PCR QS kopier pr. PCR-reaktion. Brug QS kopier pr. PCR-reaktion til beregning af resultaterne.	

Teknisk support

Kontakt den lokale afdeling for teknisk support (assistance):
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Producent og importør

Tabel 20 Producent og importør



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

Fremstillet i USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Varemærker og patenter

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

Copyright

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referencer

1. Henrickson KJ. Parainfluenza viruses. *Clin Microbiol Rev.* 2003;16:242-64. PMID: 12692097.
2. Branche AR, Falsey AR. Parainfluenza virus infection. *Semin Respir Crit Care Med.* 2016;37:538-54. PMID: 27486735.
3. Canchola J, Vargosko AJ, Kim HW, et al. Antigenic variation among newly isolated strains of parainfluenza type 4 virus. *Am J Hyg.* 1964;79:357-64. PMID: 14159955.
4. Gadsby NJ, Russell CD, McHugh MP, et al. Comprehensive molecular testing for respiratory pathogens in community-acquired pneumonia. *Clin Infect Dis.* 2016;62:817-23. PMID: 26747825.
5. Botti C, Micillo A, Ricci G, et al. Characterization of respiratory infection viruses in hospitalized children from Naples province in Southern Italy. *Exp Ther Med.* 2018;15:4805-9. PMID: 29805499.
6. Jain S, Williams DJ, Arnold SR, et al. Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among U.S. children. *N Engl J Med.* 2015;372:835-45. PMID: 25714161.
7. Fry AM, Curns AT, Harbour K, et al. Seasonal trends of human parainfluenza viral infections: United States, 1990-2004. *Clin Infect Dis.* 2006;43:1016-22. PMID: 16983614.
8. Mayer LM, Kahlert C, Rassouli F, Vernazza P, Albrich WC. Impact of viral multiplex real-time PCR on management of respiratory tract infection: A retrospective cohort study. *Pneumonia (Nathan).* 2017;9:4. PMID: 28702306.
9. Kuypers J, Wright N, Ferrenberg J, et al. Comparison of real-time PCR assays with fluorescent-antibody assays for diagnosis of respiratory virus infections in children. *J Clin Microbiol.* 2006;44:2382-8. PMID: 16825353.
10. Mahony JB. Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21:716-47. PMID: 18854489.
11. 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.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline, 4th ed. CLSI Document M29-A4. Wayne, PA: CLSI, 2014.

Dokumentrevision

Oplysninger om dokumentrevision	
Doc Rev. 1.0 04/2022	Første udgivelse.