

cobas[®] WNV

In vitro diagnosztikai célra

cobas[®] WNV – 192	P/N: 09171142190
cobas[®] WNV – 480	P/N: 09040927190
cobas[®] WNV Control Kit	P/N: 09040935190
cobas[®] NHP Negative Control Kit	P/N: 09051554190
cobas omni MGP Reagent	P/N: 06997546190
cobas omni Specimen Diluent	P/N: 06997511190
cobas omni Lysis Reagent	P/N: 06997538190
cobas omni Wash Reagent	P/N: 06997503190

Tartalomjegyzék

Alkalmazási terület.....	4
A teszt összegzése és ismertetése	4
Reagensek és anyagok.....	7
cobas® WNV reagensek és kontrollok.....	7
cobas omni reagensek minta-előkészítéshez.....	10
A reagensek tárolási és kezelési követelmények.....	11
További szükséges anyagok.....	12
A szükséges eszközök és szoftverek	12
Óvintézkedések és kezelési követelmények	13
Figyelmeztetések és óvintézkedések.....	13
Reagensek kezelése.....	13
Helyes laboratóriumi gyakorlat	14
Mintavétel, szállítás, tárolás és minták egyesítése.....	15
Élő donortól származó vérminták.....	15
Kadáver vérminták.....	17
Használati utasítás.....	18
Automatizált mintapipettázás és minták egyesítése (opcionális)	18
Megjegyzések az eljárással kapcsolatban	18
A cobas® WNV teszt futtatása.....	18
Eredmények.....	19
Minőség-ellenőrzés és az eredmények érvényessége	19
Eredmények értelmezése	19
Egyes minták ismételt tesztelése	20
Az eljárással kapcsolatos korlátozások	20

A nem klinikai teljesítmény értékelése 21

A legfontosabb teljesítményjellemzők – élődonor-minták.....	21
Kimutatási határ (LoD).....	21
Reprodukálhatóság	23
Inkluzivitás	24
Analitikai specifitás.....	25
Analitikai specifitás – zavaró anyagok.....	26
Korreláció	27
Teljes rendszerhiba	27
A legfontosabb teljesítményjellemzők – kadáverminták	28
Érzékenység	28
Specifitás	28
Reprodukálhatóság	29

Klinikai teljesítmény értékelése 30

Klinikai érzékenység – az ismerten WNV-pozitív minták klinikai érzékenységének vizsgálata...	30
Klinikai specifitás	30
A csoportos vizsgálat eredményei.....	30
A mintánkénti vizsgálat eredményei.....	31
Reprodukálhatóság.....	32

További információk..... 33

A teszt legfontosabb tulajdonságai.....	33
Szimbólumok.....	34
Technikai segítségnyújtás.....	35
Gyártó és importőr.....	35
Védjegyek és szabadalmak	35
Szerzői jogok	35
Hivatkozások.....	36
Dokumentumverzió.....	38

Alkalmazási terület

A **cobas® 6800** és **cobas® 8800** rendszeren használható **cobas® WNV** kvalitatív *in vitro* teszt a nyugat-nílusi vírus (*West Nile Virus*, WNV) RNS-ét mutatja ki közvetlenül humán plazmából.

A teszt célja donorminták szűrése a WNV RNS-ére különálló humán donorok plazmamintáiban. „Donor” alatt a teljes vért vagy véralkotórészeket adókat, valamint más élő humán donorokat értünk. A vizsgálat továbbá szerv- és szövet-donorok szűrése is használható, amennyiben a donormintákat akkor veszik le, amikor a donor szíve még dobog, valamint kadáver (megszűnt szív működésű) donoroktól származó minták vizsgálatára.

A vizsgálat nem használható köldökzsinórvér-mintákkal.

A szűrés során az összes donortól származó plazmát egyéni mintaként kell kezelni. Teljes vér és véralkotórészek donorainak esetében a plazmaminták egyenként vagy több minta aliquotjaiból álló mintacsoportként tesztelhetők. Kadáver (megszűnt szív működésű) szerv- és szövetdonorok esetén a mintákat csak különálló mintaként lehet vizsgálni.

A tesztnek nem célja a WNV-fertőzés diagnózisának elősegítése.

A teszt összegzése és ismertetése

Háttér: A vér szűrése a vérátömlesztéssel terjedő vírusfertőzések megelőzésére

A nyugat-nílusi vírus (WNV) pozitív, ízeltlábú terjesztette (arbo-) RNS vírus. A *Flaviviridae* családba és a *Flavivirus* nemzetségbe tartozik, és a japán encephalitisvírus szerokomplex tagja.^{1,2} A japán encephalitisvírus szerokomplexbe tartozik még a japán encephalitisvírus, a St. Louis encephalitisvírus, a Murray Valley encephalitisvírus és a Kunjin vírus (amely az új eredmények szerint a WNV variánsa).³⁻⁵ A törzsejlődéstani kutatások a WNV-nek 2 vonalat különböztetnek meg: az 1. vonalat és a 2. vonalat. Az 1. vonalba tartozó törzsek Afrikában, Indiában, Ausztráliában és a nyugati féltekén találhatók, és ezek okozták a közelmúltbeli járványokat Európában, a Földközi-medencében és Amerikában. A 2. vonal törzseiről számoltak be Szubszaharai Afrikában⁶ és nemrég Dél-Európában.^{7,8}

A WNV a többi arbovírushoz hasonlóan enzootikus ciklusokban marad fenn: vérszívó szúnyogokról fogékony gerincesekre (madarakra) terjed, majd vissza.⁹ A madarak képezik a természetes gerinces gazdaállatok populációját, és a *Culex* nemzetségbe tartozó szúnyogok a WNV elsődleges enzootikus vektorai. Az ember és egyéb emlősök (pl. a lovak) fertőzése eseti, és ezek általában nem adják tovább a fertőzést, mert nem áll fenn olyan mértékű vírusürítés, amely hatékonyan fertőzné az ízeltlábú vektorokat.^{2,9,10}

A WNV sokfelé elterjedt Afrikában, a Közel-Keleten, Dél-Európában, Délnyugat-Ázsiában és Ausztráliában (a WNV Kunjin altípusa), mivel a WNV képes sokféle szúnyog- és madárfaj fertőzésére.¹ Csupán néhány, enyhe lázas betegségként megjelenő emberi járványról számoltak be Izraelben és Afrikában az 1990-es évek közepéig.¹ Az 1990-es évek közepe óta új, feltehetőleg afrikai eredetű törzsek több fertőzést okoztak Oroszország egyes részeiben, valamint Dél- és Kelet-Európában. Ugyanakkor Romániában, Oroszországban, Izraelben és Görögországban nagyobb számú fertőzések történtek, amelyek klinikailag is súlyosabbak voltak.^{1,8,11} Ma a WNV-fertőzés jelen vagy a nyugati félteke több országában, de csak az Egyesült Államokban és Kanadában tapasztaltak ilyen kóroki, jelentős számú emberi megbetegedést.^{1,12}

A WNV az Egyesült Államokban először 1999-ben jelent meg New York városában, majd a következő években gyorsan elterjedt az egész országban.¹³ A WNV ma endemikus az Egyesült Államok összefüggő kontinentális 48 államában, valamint az összes kanadai tartományban.¹ Az Egyesült Államokban valaha feljegyzett 3 legnagyobb arbovirális okú, neuroinvaszív betegségként megjelenő, WNV okozta járványt (encephalitis, meningitis és akut flaccid paralysis): 2002-ben,

2003-ban és 2012-ben majdnem 3000-3000 ilyen betegségről számoltak be.¹ A magas szintű virális aktivitás az év meleg hónapjaira jellemző.¹ A WNV-fertőzöttek kilencvennégy százalékának a tünetei a nyári hónapokban kezdődtek.¹

Becslések szerint a WNV több mint 4 millió személyt fertőzött meg az Egyesült Államokban 1999 és 2012 között¹, akik közül összesen 16 196-an szenvedtek WNV okozta neuroinvaszív betegségben, és 1549 ide köthető haláleset is volt.¹

A NAT-teszt elméleti alapjai

A WNV-ről először egy 2002-ben az Egyesült Államokban történt járvánnyal kapcsolatos kutatások során derült ki, hogy vérátömlesztéssel és szilárdszerv-átültetéssel is átvihető.^{14,15} A WNV átvihető vérátömlesztés során vörösvértesttel, trombocitával, friss fagyasztott plazmával, valamint szív-, vese-, máj- és tüdőátültetéssel, bár az emberi WNV-fertőzésék legnagyobb részét szúnyogcsípés okozza.^{1,2,14,16} A WNV potenciálisan szintén átvihető összejtátültetéssel. A WNV méhlepényen át és szülés közben történt átviteléről is beszámoltak.¹ A WNV átvitelének további ritka módjai az anyatejjel vagy a vesedialízis során, valamint foglalkozásból eredő fertőzés (az utóbbira példa laboratóriumi dolgozók [bőrön vagy köthőhártyán át] történt fertőzése vagy baromfitelepi dolgozók fertőzése).^{1,12} A fertőzés általában az egész életre védeltséget ad.⁹

A WNV átvitele vérátömlesztéssel általában a fertőzés akut szakaszában történik, amikor a fertőzött vírust ürít, tünetmentes, de még nem történt szerokonverzió.¹⁷ Mivel kevés fertőzött véradónál alakul ki klinikailag jelentős betegség, kikérdezésük a nemrég lezajlott, WNV-fertőzésre utaló betegségről nem elég hatékony a fertőzött/szeropozitív véradók kiszűrésére.^{18,19} A véradók szűréséből gyűjtött adatok szerint az olyan, nagyon frissen fertőzött véradók esetén, akiknél még nem képződtek WNV-antitestek, rendkívül alacsony titerű WNV-ürítésük hatékonyan átviszi a WNV-fertőzést.^{9,20} A nagyon alacsony víruskoncentrációjú véradási minták összefüggésbe kerültek a WNV vérátömlesztéssel terjedő átviteleivel²¹, és ez különösen veszélyes lehet a csökkent ellenálló képességű betegekre, akik a vérátömlesztésekben a leginkább részesülnek.²²

2003-ban országosan nukleinsav-tesztelést (*Nucleid Acid Testing*, NAT) vezettek be a WNV RNS-ére a vérátömlesztések biztonságának érdekében.⁹ A véradási minták WNV NAT-szűrések első 2 évében az Egyesült Államokban a 27,2 millió véradásból 1039 pozitív véradót találtak (10 000 véradónként 0,4-et), de a járvány sújtotta területeken akár 150 véradónként 1 arány is előfordult.¹⁸ Amikor az Egyesült Államokban és Kanadában bevezették a véradási minták NAT-szűrését, ezzel gyakorlatilag megszüntették a vérátömlesztés során átadott WNV-fertőzés kockázatát.¹ 2003 és 2013 között mintegy 3000 WNV-fertőzést akadályoztak meg.²³

A WNV-vel fertőzöttek mintegy 80%-a tünetmentes, 20–25%-nál kialakul a nyugat-nílusi láz^{1,24}, és 150–250 betegenként 1-nél neuroinvaszív betegség is.^{1,25} A nyugat-nílusi láz tünetei a hirtelen kezdődő fejfájás, rossz közérzet, (általában alacsony) láz, izomfájdalom, hidegrázás, hányás és egyéb emésztőrendszeri tünetek, kiütés, fáradtságérzet, valamint a szemfájdalom, amelyek néhány napig, hétig, de akár hónapig is tarthatnak.^{1,24} A nyugat-nílusi neuroinvaszív betegség megjelenhet encephalitisként, meningitisként és akut flaccid paralysisként, amelyek visszafordíthatatlan neurológiai károsodást, kómát vagy halált is okozhatnak.^{1,26–31} A WNV-fertőzést ezenkívül összefüggésbe hozták a szívizomgyulladás, hasnyálmirigy-gyulladással, gyors lefolyású májgyulladással, rhabdomyolysissal, multifokális choroiditissel, vitritissel és az autonóm idegrendszer hibás működésével.¹

A neuroinvaszív betegség hosszútávú szövődményei a beteg akut fertőzésből felgyógyulása után még hónapokig vagy évekig tarthatnak. A kórházból elbocsátott, WNV-encephalitissel érintett betegek gyakran segítségre szorulnak mindennapos tevékenységeik végzéséhez.^{1,31,32} A neuropszichiátriai tünetek, például a depresszió és a szorongás, valamint a neurokognitív képességihiányok hónapokig, egy évig, vagy akár tovább is fennmaradhatnak.^{1,20,33} A halálozási arány 10% azoknál, akinél neuroinvaszív WNV-betegség alakult ki; a legfontosabb kockázati tényező az idős kor.² A legalább 70 éves betegek körében a halálos kimenetel kockázata 17%, a 40 évesnél fiatalabbaknál pedig 0,8%.^{1,33} A halálos kimenetel

kockázatának egyéb kockázati tényezői a súlyos izomgyengeséggel járó encephalitis, megváltozott szintű eszmélet, diabétesz, szív- és érrendszeri betegség, Hepatitis C vírusfertőzés, valamint az immunszuppresszió.^{1, 12, 33}

A vizsgálat háttere

A **cobas**® WNV teszt a **cobas**® 6800 és a **cobas**® 8800 rendszeren futtatható kvalitatív teszt. A **cobas**® WNV teszt egyetlen teszttel lehetővé teszi a WNV RNS és a belső kontroll egyszerre történő kimutatását fertőzött egyén egyedi mintájából, illetve különálló mintákból készült egyesített plazmából.

Az eljárás alapelvei

A **cobas**® WNV teszt alapja a valós idejű PCR-technológia teljesen automatizált minta-előkészítéssel (nukleinsav-kinyerés és -tisztítás), amelyet PCR-amplifikálás és -kimutatás követ. A **cobas**® 6800/8800 rendszerek ugyanazon mintaadagoló, szállító-, feldolgozó- és elemzőmodulokból állnak. Az automatizált adatkezelést a **cobas**® 6800/8800 szoftver végzi, amely az összes teszthez a „Non-reactive” (Nemreaktív), „Reactive” (Reaktív) vagy „Invalid” (Érvénytelen) eredmények egyikét rendeli. Az eredményeket közvetlenül a rendszer képernyőjén lehet áttekinteni és jelentésként nyomtatni, illetve laboratóriumi információs rendszerbe (LIS) vagy más eredménykezelő rendszerbe küldeni.

A mintákat egyenként vagy több mintából álló pool-okban lehet tesztelni. Ha mintaegyesítéses tesztelésre van szükség, a **cobas p 680** készülék vagy a **cobas**® **Synergy** szoftver a Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD-vel használható a preanalitikai lépés elvégzéséhez.

A mintából és a hozzáadott Armored RNS belső kontrollból (*Internal Control*, IC) (amelyek a minta-előkészítési és amplifikálási/kimutatói eljárás során kontrollként működnek) származó nukleinsavak extrahálása egyszerre zajlik. A teszt ezenfelül két készletkontrollt használ: egy pozitívot és egy negatívot. A mintába proteináz és lízisreagens kerül, és ennek hatására a vírus nukleinsava felszabadul. A felszabadult nukleinsav a hozzáadott mágneses üvegpartikulumok szilikonfelületéhez köt. A szabadon maradt anyagokat és szennyeződések, például a denaturált fehérjét, sejttörmeléket és lehetséges PCR-inhibitorokat (például hemoglobint) az ezt követő mosóreagens-lépések eltávolítják, és egy eluáló puffer magasabb hőmérsékleten eluálja a tisztított nukleinsavat a mágneses üvegpartikulumokról.

A donortól vett mintában a target nukleinsav szelektív amplifikálása a vírusra specifikus forward és reverz primerekkel történik, amelyek a vírusnukleinsav nagy fokban konzervált régióiból kötnek be. A teszt mind a reverz transzkripcióhoz, mind az amplifikáláshoz hőstabil DNS-polimeráz enzimet használ. A Master Mix dezoxitimidin-trifoszfát (dTTP) helyett dezoxiuridin-trifoszfátot (dUTP) tartalmaz, amely beépül az újonnan szintetizált DNS-be (amplikon).^{34–36} Az első hevítési lépés során a PCR-keverékben lévő AmpErase enzim [uracil-N-glikoziláz] az előző PCR-futtatásokból származó minden szennyező amplikont megsemmisít. Az újonnan kialakuló amplikonokat viszont nem semmisíti meg, mert az 55 °C-ot meghaladó hőmérséklet miatt az AmpErase enzim maga is inaktív lesz.

A **cobas**® WNV Master Mix a WNV kórokozóra, valamint a belső kontroll (IC) nukleinsavára specifikus kimutatói próbákat tartalmaz. A WNV és az IC kimutatói próbákat kétféle, jelzőfestékként viselkedő egyedi fluoreszcens festék egyikével jelölik. A szondák másik festékekkel is rendelkeznek, ami a blokkolást végzi. A két jelzőfestéket a teszt meghatározott hullámhosszokon méri, és így az amplifikált WNV targetet és az IC-t egyszerre tudja kimutatni és megkülönböztetni.^{37, 38} Ha a próba nem köt be a target szekvenciára, akkor a próba fluoreszcens jelét elfedi a quencher festék. A PCR-amplifikálási lépés során a próbák a specifikus, egyszálú DNS-templáthoz hibridizálnak. Ennek eredményeként a próbát a DNS-polimeráz 5'-3'-nukleázaktivitása hasítja, így a jelzőfesték és a blokkolófesték elválják, és fluoreszcens jel keletkezik. Minden egyes PCR-ciklus során megnő a hasított próbák mennyisége, és ennek velejárójaként növekszik a jelzőfestékből származó jel összesített nagysága is. Mivel a két jelzőfestéket a teszt meghatározott hullámhosszokon méri, az amplifikált WNV targetet és az IC-t egyszerre tudja észlelni és megkülönböztetni.

Reagensek és anyagok

cobas® WNV reagensek és kontrollok

Minden felbontatlan reagenst és kontrollt az 1. táblázat – 4. táblázat ajánlásai szerint tároljon.

1. táblázat cobas® WNV teszt

cobas® WNV Tárolás: 2–8 °C 192 tesztkazetta (P/N 09171142190) 480 tesztkazetta (P/N 09040927190)			
A készlet összetevői	Reagens-összetevők	Készletenkénti mennyiség	
		192 teszt	480 teszt
Proteinázoldat (PASE)	Tris puffer, < 0,05% EDTA, kalcium-klorid, kalcium-acetát, 8% (m/V) proteináz EUH210: Kérésre biztonsági adatlap kapható. EUH208: <i>Bacillus subtilis</i> -ből származó szubtilizint tartalmaz. Allergiás reakciót válthat ki.	22,3 ml	38 ml
Belső kontroll (IC)	Tris puffer, < 0,05% EDTA, < 0,001% belső kontroll Armored RNS-konstrukció (nem fertőző RNS MS2 bakteriofágban), < 0,002% Poly rA RNS (szintetikus), < 0,1% nátrium-azid	21,2 ml	38 ml
Eluálópuffer (EB)	Tris puffer, 0,2% metil-4-hidroxi-benzoát	21,2 ml	38 ml
Master Mix reagens 1 (MMX-R1)	Mangán-acetát, kálium-hidroxid, < 0,1% nátrium-azid	7,5 ml	14,5 ml
WNV Master Mix reagens 2 (WNV MMX-R2)	Tricin puffer, kálium-acetát, glicerin, 18% dimetil-szulfoxid, Tween 20, EDTA, < 0,06% dATP, dGTP, dCTP, < 0,14% dUTP, < 0,01% upstream és downstream WNV- és belsőkontroll-primer, < 0,01% fluoreszcensen jelölt WNV- próba, < 0,01% fluoreszcensen jelölt belső kontroll próba, < 0,01% oligonukleotid aptamer, < 0,01% Z05D DNS-polimeráz, < 0,01% AmpErase (uracil-N-glikoziláz) enzim (mikrobiális), < 0,1% nátrium-azid	9,7 ml	17,5 ml

2. táblázat Kontroll-készlet cobas® WNV Control Kit

cobas® WNV Control Kit

2–8 °C-on tárolandó

(P/N 09040935190)

A készlet összetevői	Reagens-összetevők	Készletenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés*
WNV pozitív kontroll (WNV (+) C)	< 0,001% szintetikus (Armored) WNV RNS MS2 bakteriofág burokfehérjébe csomagolva, normál humán plazma, PCR-eljárásokkal nem kimutatható WNV RNS 0,1% ProClin® 300 tartósítószer**	16 ml (16 × 1 ml)	  FIGYELEM H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki. H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P261: Kerülje a gőzök vagy permet belélegzését. P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P280: Védőkesztyű használata kötelező. P333 + P313: Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. P362 + P364: A szennyezett ruhadarabot le kell vetni és újbóli használat előtt ki kell mosni. P501: A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelési üzemben. 55965-84-9 5-klór-2-metil-2H-izotiazol-3-on és 2-metil-2H-izotiazol-3-on reakciótömege (3:1).

* A termék biztonsági címkéi megfelelnek az EU GHS előírásainak.

** Veszélyes anyag.

3. táblázat Negatívkontroll-készlet **cobas®** NHP Negative Control Kit**cobas® NHP Negative Control Kit**

2–8 °C-on tárolandó

(P/N 09051554190)

A készlet összetevői	Reagens-összetevők	Készletenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés*
Normál humán plazma negatív kontroll (NHP-NC)	Normál humán plazma, PCR-módszerekkel nem kimutatható WNV RNS < 0,1% ProClin® 300 tartósítószer**	16 ml (16 × 1 ml)	  FIGYELEM H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki. P261: Kerülje a gőzök vagy permet belélegzését. P272: Szennyezett munkaruhát tilos kivinni a munkahely területéről. P280: Védőkesztyű használata kötelező. P333 + P313: Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. P362 + P364: A szennyezett ruhadarabot le kell vetni és újbóli használat előtt ki kell mosni. P501: A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelési üzemben. 55965-84-9 5-klór-2-metil-2H-izotiazol-3-on és 2-metil-2H-izotiazol-3-on reakció tömege (3:1).

* A termék biztonsági címkéi megfelelnek az EU GHS előírásainak.

** Veszélyes anyag.

cobas omni reagensek minta-előkészítéshez

4. táblázat cobas omni reagensek minta-előkészítéshez*

Reagensek	Reagens-összetevők	Készletenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés**
cobas omni MGP Reagent (MGP) 2–8 °C-on tárolandó. (P/N 06997546190)	Mágneses üvegpartikulumok, Tris puffer, 0,1% metil-4-hidroxibenzoát, < 0,1% nátrium-azid	480 teszt	Nincs
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) 2–8 °C-on tárolandó. (P/N 06997511190)	Tris puffer, 0,1% metil-4-hidroxibenzoát, < 0,1% nátrium-azid	4 × 875 ml	Nincs
cobas omni Lysis Reagent (LYS) 2–8 °C-on tárolandó. (P/N 06997538190)	42,56% (m/m) guanidin-tiocianát***, 5% (m/V) polidokanol***, 2% (m/V) ditiotritol, nátrium-citrát-dihidrát	4 × 875 ml	 VESZÉLY H302: Lenyelve ártalmas. H314: Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. H411: Mérgező a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. EUH032: Savval érintkezve nagyon mérgező gázok képződnek. EUH071: Maró hatású a légutakra. P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P280: Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő/hallásvédelem használata kötelező. P303 + P361 + P353: HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel. P304 + P340 + P310: BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. P305 + P351 + P338 + P310: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. P391: A kiömlött anyagot össze kell gyűjteni. 593-84-0 Guanidin-tiocianát 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercapto-bután-2,3-diol
cobas omni Wash Reagent (WASH) 15–30 °C-on tárolandó. (P/N 06997503190)	Nátrium-citrát-dihidrát, 0,1% metil-4-hidroxibenzoát	4,2 l	Nincs

* Ezeket a reagenseket a cobas® WNV tesztkészlet nem tartalmazza. Lásd a további szükséges anyagok felsorolását (7. táblázat).

** A termék biztonsági címkéi megfelelnek az EU GHS előírásainak.

*** Veszélyes anyag.

A reagenszek tárolási és kezelési követelmények

A reagenszeket az 5. táblázatban és a 6. táblázatban szerint kell tárolni és kezelni.

Amikor a reagenszek nincsenek a cobas® 6800/8800 rendszerekben, tárolja őket az 5. táblázatban szerinti hőmérsékleten.

5. táblázat Reagenszek tárolása (amikor a reagens nincs a rendszerben)

Reagens	Tárolási hőmérséklet
cobas® WNV – 192	2–8 °C
cobas® WNV – 480	2–8 °C
cobas® WNV Control Kit	2–8 °C
cobas® NHP Negative Control Kit	2–8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2–8 °C
cobas omni MGP Reagent	2–8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2–8 °C
cobas omni Wash Reagent	15–30 °C

A cobas® 6800/8800 rendszerbe behelyezett reagenszeket a rendszer megfelelő hőmérsékleten tárolja, és figyeli a lejárat idejüket. A rendszer csak akkor engedi a reagenszek használatát, ha a 6. táblázatban minden feltétele teljesül. A rendszer automatikusan megakadályozza a lejárt reagenszek használatát. A 6. táblázatban a cobas® 6800/8800 rendszerek által alkalmazott reagenskezelési szabályok felhasználói leírását tartalmazza.

6. táblázat A reagenszek cobas® 6800/8800 rendszerekhez kapcsolódó lejárat feltételei

Reagens	Készlet lejárat dátuma	A bontott készlet stabilitása	Hány futtatásra használható ez a készlet	Stabilitás a rendszerben (összes hűtőn kívül töltött idő)
cobas® WNV – 192	Nem érte el a dátumot	90 nap az első használatától	Max. 40 futtatás	Max. 40 óra
cobas® WNV – 480	Nem érte el a dátumot	30 nap az első használatától	Max. 20 futtatás	Max. 20 óra
cobas® WNV Control Kit	Nem érte el a dátumot	Nincs	Nincs	Max. 10 óra
cobas® NHP Negative Control Kit	Nem érte el a dátumot	Nincs	Nincs	Max. 10 óra
cobas omni Lysis Reagent	Nem érte el a dátumot	30 nap a betöltéstől*	Nincs	Nincs
cobas omni MGP Reagent	Nem érte el a dátumot	30 nap a betöltéstől*	Nincs	Nincs
cobas omni Specimen Diluent	Nem érte el a dátumot	30 nap a betöltéstől*	Nincs	Nincs
cobas omni Wash Reagent	Nem érte el a dátumot	30 nap a betöltéstől*	Nincs	Nincs

* Az azóta eltelt idő, hogy a reagenst először betöltötték a cobas® 6800/8800 rendszerekbe.

További szükséges anyagok

7. táblázat A cobas® 6800/8800 rendszerekben használt anyagok és fogyóeszközök

Anyag	P/N
cobas omni Processing Plate (feldolgozólemez)	05534917001
cobas omni Amplification Plate (amplifikálólemez)	05534941001
cobas omni Pipette Tips (pipettahegyek)	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container (folyékonyhulladék-tároló)	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Szilárdhulladék-zsák	07435967001
Szilárdhulladék-tartály vagy Szilárdhulladék-zsák béléssel	07094361001 vagy 08030073001

A szükséges eszközök és szoftverek

A cobas® 6800/8800 szoftvert és a cobas® WNV elemzőcsomagot telepítik a eszköz(ök)re. Az Instrument Gateway (IG) szerver a rendszer része. Szükség szerint telepíteni kell a cobas® Synergy szoftvert.

8. táblázat Eszközök

cobas® 6800/8800 rendszerek	P/N
cobas® 6800 System (mozgatható platform)	05524245001 és 06379672001
cobas® 6800 System (rögzített platform)	05524245001 és 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Mintaadagoló modul	06301037001
Pipettázó és mintaegyesítő opciók	P/N
cobas p 680 készülék	06570577001
cobas® Synergy szoftver elektronikus licence (csak a cobas® 6800/8800 rendszerek esetén) (opcionális)	07788339001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001
Hamilton MICROLAB® STARlet IVD	04872649001

A készülékekkel használható elsődleges és másodlagos mintacsövekkel kapcsolatos további információkat a cobas® 6800/8800 rendszerek felhasználói segédletében és a cobas p 680 készülék felhasználói segédletében vagy a cobas® Synergy szoftver felhasználói segédletében találja.

Megjegyzés: Az eszközökkel használható mintaállványok, eltömődött hegyek tárolására való állványok és állványtálcák részletes megrendelőlistájáért forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

Óvintézkedések és kezelési követelmények

Figyelmeztetések és óvintézkedések

Mint minden teszteljárásnál, a helyes laboratóriumi gyakorlat alapvető a teszt megfelelő kivitelezéséhez. A vizsgálat nagy érzékenysége miatt ügyeljen arra, hogy a reagensek és amplifikálási keverékek szennyeződéstől mentesek maradjanak.

- Csak *in vitro* diagnosztikai célra.
- Minden mintát fertőzőként kell kezelni a megfelelő biztonságos laboratóriumi eljárások alapján. Ilyeneket ír le a Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories és a CLSI Document M29-A4.^{39, 40} Ezt az eljárást csak a fertőző anyagok kezelésében és a **cobas® WNV** teszt, **cobas® 6800/8800** rendszerek és adott esetben a **cobas p 680** készülék, illetve a Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD és a **cobas® Synergy** szoftver kombinációjának használatában jártas személy végezheti.
- Minden humán eredetű anyagot potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és az általános óvintézkedések szerint kell kezelni. Kiömlés esetén azonnal fertőtlenítsen desztillált vagy ioncserélt vízzel frissen hígított, 0,6%-os koncentrációjú nátrium-hipoklorit oldattal, illetve kövesse a megfelelő helyszíni eljárásokat.
- A kontrollkészlet **cobas® WNV** Control Kit és a negatívkontroll-készlet **cobas® NHP** Negative Control Kit emberi vérből származó plazmát tartalmaz. A normál humán plazma PCR-technikával történő vizsgálata során WNV RNS nem volt kimutatható. Egyetlen ismert vizsgálati módszer sem nyújthat teljes garanciát arra, hogy a humán vérkészítményekben nincs jelen fertőző anyag.
- A teljes vért nem szabad lefagyasztani.
- Steril, egyszer használatos pipetták és nukleázmentes pipettahegyek használata javasolt. Az optimális vizsgálati feltételek biztosítása érdekében csak a mellékelt vagy a megadott szükséges fogyóeszközöket alkalmazza.
- A vizsgálat helyes kivitelezésének biztosítása végett szigorúan tartsa be a megadott eljárásokat és irányelveket. A megadott eljárásoktól és irányelvektől való bármilyen eltérés befolyásolhatja a vizsgálat teljesítményét.
- A keveredés a vérsejtek és plazma közötti határon vagy az anyag centrifugálás utáni diffúziója nagyobb arányú érvénytelen eredményt okozhat.
- Álpozitív eredmények fordulhatnak elő, ha a minták átszennyezését a mintakezelés és -feldolgozás során nem kontrollálják megfelelően.
- Ha a vizsgálat használatakor súlyos nem várt esemény történik, tájékoztassa róla a helyi illetékes hatóságot.

Reagensek kezelése

- A mintákkal vagy kontrollokkal történő átszennyezés elkerülése érdekében minden reagenst, kontrollt és mintát a helyes laboratóriumi gyakorlat szerint kezeljen.
- Felhasználás előtt szemrevételezzen minden reagenskazettát, hígítót, lízisreagenst és mosóreagenst, hogy nem tapasztal-e szivárgásra utaló jeleket. Szivárgás esetén azt az anyagot ne használja fel a vizsgálatához.
- A lízisreagens **cobas omni** Lysis Reagent guanidin-tiocianátot tartalmaz, ami potenciálisan veszélyes vegyület. Kerülje a reagensek bőrrel, szemmel vagy nyálkahártyával való érintkezését. Ha mégis előfordul érintkezés, azonnal mossa le bő vízzel, mert ellenkező esetben égési sérülés történhet.
- A **cobas® WNV** tesztkészletek, reagens **cobas omni** MGP Reagent és a mintaoldószer **cobas omni** Specimen Diluent tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaz. Kerülje a reagensek bőrrel, szemmel vagy nyálkahártyával való érintkezését. Ha mégis előfordul érintkezés, azonnal mossa le bő vízzel, mert ellenkező esetben égési sérülés történhet. Ha a reagensek kiömlenek, szárazra törlés előtt hígítsa őket vízzel.
- Ügyeljen rá, hogy a guanidin-tiocianát tartalmú lízisreagens **cobas omni** Lysis Reagent ne lépjen érintkezésbe nátrium-hipoklorit-oldattal (fehérítő). Az ilyen keverékből erősen mérgező gáz fejlődhet.

- A biztonsági adatlapok (SDS) igény esetén hozzáférhetőek a Roche helyi irodájában.
- Minden anyagot, amely mintákkal vagy reagensekkel kapcsolatba került, az országos, állami és helyi szabályozások szerint semmisítsen meg.

Helyes laboratóriumi gyakorlat

- Ne pipetázzon szájjal.
- Ne egyen, igyon vagy dohányozzon a kijelölt munkaterületeken.
- A minták és reagensek kezelése közben viseljen laboratóriumi kesztyűt, köpenyt és szemvédőt. A minták, a **cobas®** WNV tesztkészletek és a **cobas omni** reagensek kezelése között a szennyeződés megelőzése érdekében váltson kesztyűt. A minták és kontrollok kezelése során ügyeljen a kesztyűk szennyezésének elkerülésére.
- Alaposan mosson kezet a minták és a készlet reagenseinek kezelése és kesztyűlevétel után.
- Gondosan tisztítsa meg, és desztillált vagy ioncserélt vízből frissen készített 0,6% nátrium-hipoklorit oldattal fertőtlenítsen minden laboratóriumi munkafelületet. Utána törölje át a felületet 70%-os etanollal.
- Ha a **cobas®** 6800/8800 eszközökre folyadék ömlik, tisztítsa és fertőtlenítsa az eszközök felületét a **cobas®** 6800/8800 rendszerek felhasználói segédletében leírtak szerint.

Mintavétel, szállítás, tárolás és minták egyesítése

Megjegyzés: Valamennyi mintát és kontrollt fertőzések átvitelére alkalmasként kell kezelni.

Az összes donormintát az előírt hőmérséklet-tartományban tárolja.

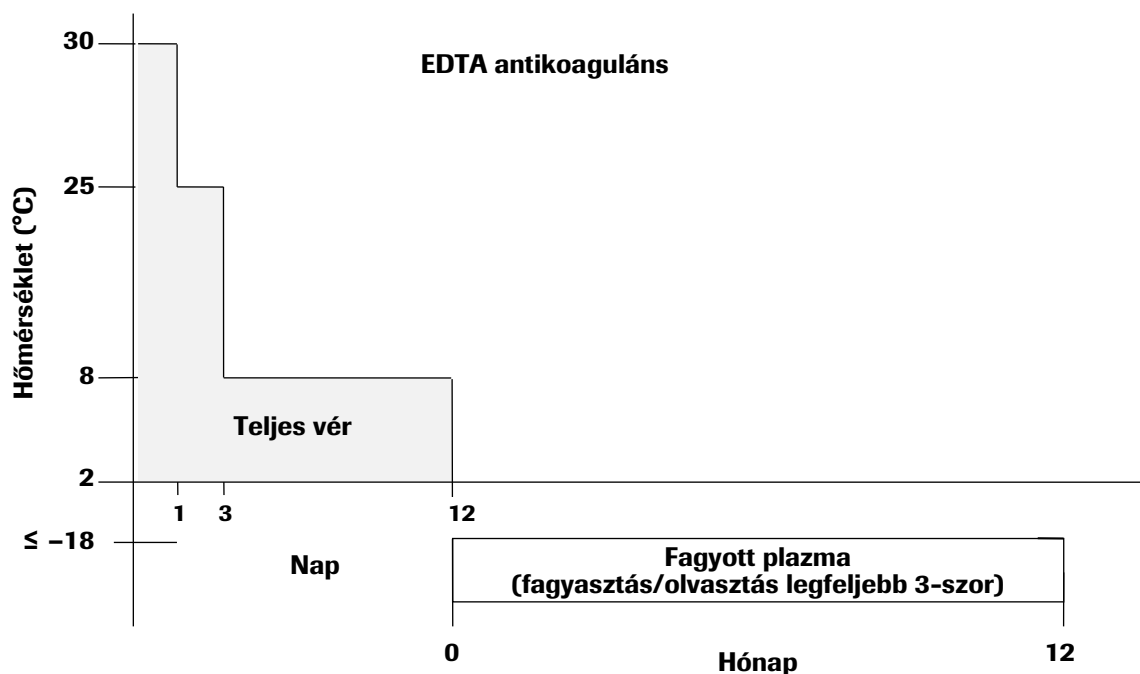
A minták stabilitását a magasabb hőmérséklet befolyásolja.

Élő donortól származó vérminták

- A cobas® WNV teszttel EDTA, CPD, CPDA1 és CP2D antikoagulánsba levett plazma dolgozható fel. A minták kezelésére és centrifugálásra vonatkozóan kövesse a mintavevő cső/zacskó gyártójának utasításait.
- EDTA antikoagulánsot tartalmazó mintagyűjtőbe, Becton-Dickinson EDTA plazma-előkészítő csövekbe (BD PPT™) vagy Greiner Vacuette® K2EDTA plazmaszeparáló géles csövekbe vett teljes vér tovább centrifugálható 600 g-n 5 percen át a készülékbe helyezés előtt, esetleges mintaegyesítés vagy újratestelés esetén.
- Az EDTA antikoagulánsba levett vér legfeljebb 12 napig tárolható a következő feltételekkel:
 - A mintákat a vérvételt követő 72 órán belül centrifugálni kell.
 - 8 °C-nál magasabb tárolási hőmérséklet esetén a mintákat 72 órán át lehet tárolni legfeljebb 25 °C-on. Ebből a 72 órából 24 órát tölthetnek legfeljebb 30 °C-on.

A fenti kivételeken kívül a mintákat 2–8 °C-on kell tárolni. Ezen felül a sejtektől elválasztott plazma legfeljebb 12 hónapig tárolható ≤ –18 °C hőmérsékleten legfeljebb három fagyasztás–olvasztás ciklussal. Lásd 1. ábra.

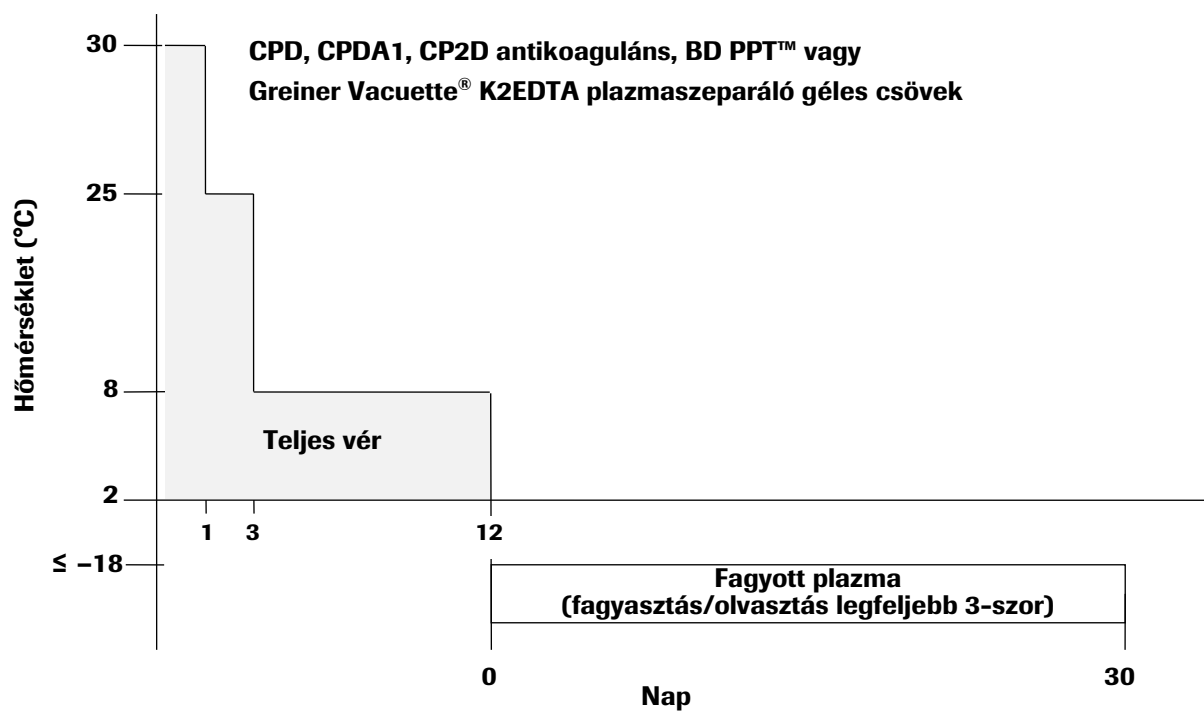
1. ábra Mintatárolási feltételek EDTA antikoagulánsban lévő minták esetén



- A CPD, CPDA1, vagy CP2D antikoagulánsba, Becton-Dickinson EDTA plazma-előkészítő csövekbe (BD PPT™) vagy Greiner Vacuette® K2EDTA plazmaszeparáló géles csövekbe gyűjtött vér legfeljebb 12 napon át tárolható a következő feltételek mellett:
 - A mintákat a vérvételt követő 72 órán belül centrifugálni kell.
 - 8 °C-nál magasabb tárolási hőmérséklet esetén a mintákat 72 órán át lehet tárolni legfeljebb 25 °C-on. Ebből a 72 órából 24 órát tölthetnek legfeljebb 30 °C-on.

A fenti kivételeken kívül a mintákat 2–8 °C-on kell tárolni. Ezen felül a sejtektől elválasztott plazma legfeljebb 30 napig tárolható ≤ –18 °C hőmérsékleten legfeljebb három fagyasztás–olvasztás ciklussal. Lásd 2. ábra.

2. ábra Mintatárolási feltételek – élő donortól származó minta

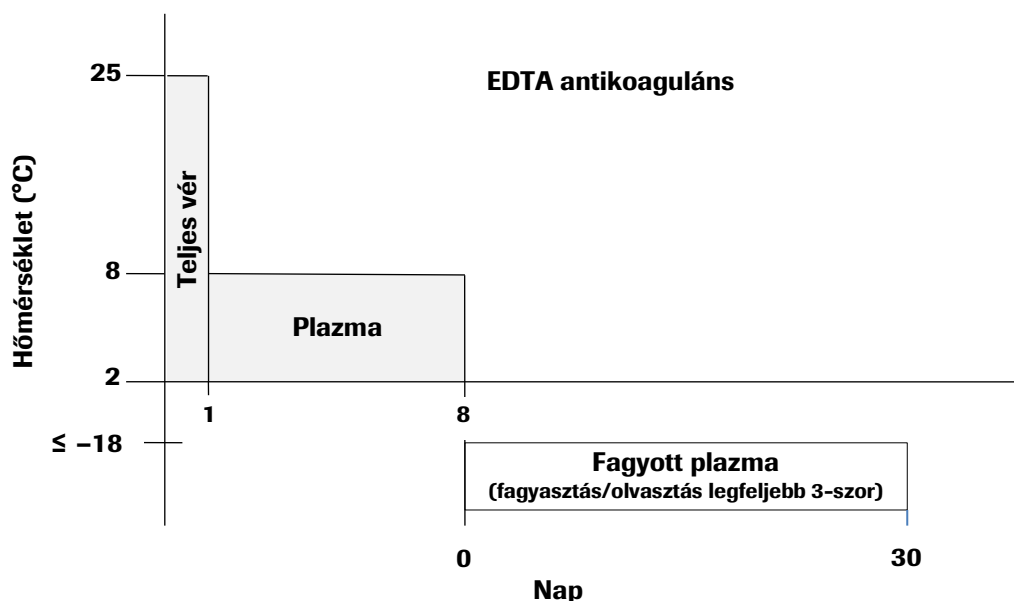


Kadáver vérminták

- A cobas® WNV teszttel EDTA antikoagulánst tartalmazó csövekbe és/vagy szérumszeparátoros csövekbe levett kadáver vérminták használhatóak. A minták kezelésére és centrifugálásra vonatkozóan kövesse a mintavevő cső/zacskó gyártójának utasításait.
- Az EDTA antikoagulánsba levett vér legfeljebb 8 napig tárolható 2–8 °C-on a következő feltételekkel:
 - A mintákat centrifugálni kell, és a plazmát a vérvételt követő 24 órán belül el kell választani a sejt elemektől.
 - 8 °C-nál magasabb hőmérsékleten végzett tárolás esetén a mintákat legfeljebb 25 °C-on és legfeljebb 24 órán át lehet tárolni.

A fenti kivételektől eltekintve a sejt elemektől elválasztott kadáver EDTA-s plazma legfeljebb 30 napig tárolható ≤ -18 °C-on, amely során legfeljebb három fagyasztás–olvasztás ciklus lehetséges. Lásd 3. ábra.

3. ábra Mintatárolási feltételek – kadáver minta



- A szérumszeparátoros csőbe levett kadáver vérminták legfeljebb 4 napig tárolhatók 2–8 °C-on a következő feltételekkel:
 - A mintákat centrifugálni kell, és a szérumot a vérvételt követő 24 órán belül el kell választani a sejt elemektől.
 - Tárolás 8 °C-nál magasabb hőmérsékleten: a mintákat legfeljebb 25 °C-on lehet tárolni a 24 órából legfeljebb 4 órán át.

A fenti kivételektől eltekintve sejt elemektől elválasztott szérum legfeljebb 14 napig tárolható ≤ -18 °C hőmérsékleten legfeljebb három fagyasztás–olvasztás ciklussal.

- Ha az élő donortól származó és/vagy kadáver mintákat szállítani kell, a minták és kórokozó anyagok szállítására vonatkozó országos és/vagy nemzetközi előírásoknak megfelelően kell csomagolni és címkézni.

Használati utasítás

Automatizált mintapipettázás és minták egyesítése (opcionális)

A **cobas p** 6800/8800 rendszerek opcionális kiegészítőjeként a **cobas® p** 680 eszköz vagy a **cobas® Synergy** szoftver és a Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet kombinációja is használható több elsődleges minta aliquotjainak automatizált pipettázására egy egyesített minta létrehozásához.

További információkat a **cobas p** 680 eszköz felhasználói segédletében vagy a **cobas® Synergy** szoftver felhasználói segédletében talál.

Megjegyzések az eljárással kapcsolatban

- Lejáratú idejük után ne használja a **cobas® WNV** tesztreagenset, a kontrollkészletet **cobas® WNV** Control Kit, a negatívkontroll-készlet **cobas® NHP** Negative Control Kit vagy a **cobas omni** reagenset.
- A fogyóeszközöket ne használja újra. Csak egyszeri használatra készültek.
- Az eszközök megfelelő karbantartásának leírását a **cobas®** 6800/8800 rendszerek felhasználói segédletében találja.

A cobas® WNV teszt futtatása

A teszteljárás részletes leírását a **cobas®** 6800/8800 rendszerek felhasználói segédlete tartalmazza. Az opcionális mintaegyesítési eljárások részleteit a **cobas p** 680 eszköz felhasználói segédletében és a **cobas® Synergy** szoftver felhasználói segédletében találja.

Az alábbi 4. ábra összegzi az eljárást.

4. ábra A **cobas® WNV** teszteljárás

1	Pipettázás és mintaegyesítés
2	Hozzon létre vizsgálatkérést
3	Töltse be a reagenset és fogyóeszközöket a rendszer utasításai szerint: - Töltse be a mosóreagenst, lízisreagenst és hígítót - Töltse be a feldolgozólemezeket és amplifikálólemezeket - Töltse be a mágneses üvegpartikulumokat - Töltse be a teszt-specifikus reagenset - Töltse be a kontrollkazettákat - Töltse be a hegyállványokat - Cserélje az eltömődött hegyek tárolására használt állványt
4	A futtatás indítása: - Töltse fel az állványokat mintákkal - Válassza az indítógombot („Start”) a felhasználói felületen
5	Tekintse át és fogadja el az eredményeket
6	Távolítsa el a fogyóeszközöket: - Távolítsa el az amplifikálólemezeket az elemzőmodulból - Távolítsa el az üres kontrollkazettákat - Távolítsa el a szilárd hulladékot - Távolítsa el a folyékony hulladékot

Eredmények

A **cobas®** 6800/8800 rendszerek automatikusan egyszerre kimutatják a WNV-RNS-t a mintákban és kontrollokban.

Minőség-ellenőrzés és az eredmények érvényessége

- A rendszer minden mintacsoportot egy negatív kontrollal [(-) C] és egy pozitív kontrollal [WNV (+) C] dolgoz fel.
- A mintacsoport érvényes eredményének biztosítása érdekében figyelje a jelzőket és a hozzájuk tartozó eredményeket a **cobas®** 6800/8800 szoftverben és/vagy jelentésben.
- A mintacsoport akkor érvényes, ha a két kontroll egyike sem kap jelzést.

A **cobas®** 6800/8800 szoftver automatikusan érvényteleníti az eredményeket a negatív és pozitív kontrollok érvénytelensége alapján.

Kontrolljelzések

9. táblázat A negatív és pozitív kontrollok kontrolljelzései

Negatív kontroll	Jelzés	Eredmény	Értelmezés
(-) C	Q02	Invalid	Az egész mintacsoport érvénytelen, ha a (-) C eredménye érvénytelen.
Pozitív kontroll	Jelzés	Eredmény	Értelmezés
WNV (+) C	Q02	Invalid	Az egész mintacsoport érvénytelen, ha a WNV (+) C eredménye érvénytelen.

Ha a mintacsoport érvénytelen, ismételje meg az egész csoport (mind a minták, mind a kontrollok) tesztelését.

Eredmények értelmezése

Érvényes mintacsoport esetén ellenőrizze az egyes minták jelzőit a **cobas®** 6800/8800 szoftverben és/vagy jelentésben. Az eredményeket így kell értelmezni:

- Egy érvényes mintacsoport mind érvényes, mind érvénytelen donorminta-eredményeket tartalmazhat attól függően, hogy az egyes minták milyen jelzéseket kaptak.
- A minták eredménye csak akkor érvényes, ha a megfelelő pozitív kontrollok és a mintacsoport negatív kontrollja is érvényesek.

A teszt két paramétert mér egyszerre minden mintánál: A WNV nukleinsavat és a belső kontrollt. A **cobas®** WNV teszt végső mintaeredményeit a szoftver jelenti. Az összesített eredményeken kívül az egyes targetek eredményei megjelennek a **cobas®** 6800/8800 szoftverben. Ezek értelmezése:

10. táblázat Az egyes targetek eredményének értelmezése

Target eredménye	Értelmezés
WNV Non-Reactive	Nincs WNV targetre utaló jel, és az IC jele kimutatható.
WNV Reactive	WNV targetre utaló jel van, és az IC jele vagy kimutatható, vagy nem.
Invalid	Nem kimutatható a target és a belső kontroll jele.

A **cobas® Synergy** szoftver használatakor a végső eredmények számításának áttekintését a **cobas® Synergy** szoftverrel végezze.

Egyes minták ismételt tesztelése

Ha egy mintacső végső eredménye „Invalid” (Érvénytelen) a targetre, újra kell tesztelni.

Ha 600 g sebességgel centrifugálást végez 5 percen át, csökkentheti az ismételt érvénytelen eredmények előfordulását az EDTA antikoagulánsba, Becton-Dickinson EDTA plazma-előkészítő csövekbe (BD PPT™) vagy Greiner Vacuette® K2EDTA plazmaszeparáló géles csövekbe vett vér esetében.

Az eljárással kapcsolatos korlátozások

- A **cobas®** WNV tesztet a pozitívkontroll-készlet **cobas®** WNV Control Kit, a puffer negatívkontroll-készlet **cobas®** NHP Negative Control Kit, a reagens **cobas omni** MGP Reagent, a lízisreagens **cobas omni** Lysis Reagent, a mintaoldószer **cobas omni** Specimen Diluent és a mosóreagens **cobas omni** Wash Reagent használatával értékelték ki a **cobas®** 6800/8800 rendszereken.
- A megbízható eredmény a megfelelő mintalevételen, -tároláson és -kezelési eljárásokon múlik.
- Ne használjon heparinos plazmát ehhez a teszthez, mert a heparinról kimutatták, hogy gátolja a PCR-t.
- A WNV RNS kimutatása a mintában lévő víruspartikulumok számától függ, ezért befolyásolhatják a mintalevételi módszerek, a tárolás és kezelés, a betegétezők (azaz a kor vagy a tünetek) és/vagy a fertőzés stádiuma, valamint az egyesített minták száma.
- Ritkán bár, de előfordulhat, hogy a **cobas®** WNV teszt által lefedett virális genom nagy fokban konzervált régiókban lévő mutációk hatással vannak a primerek és/vagy próbák kötődésére, és így nem sikerül kimutatni a vírus jelenlétét.
- A technológiák különbözősége miatt javasolt, hogy az egyik technológiáról a másikra áttéréskor a felhasználók végezzenek korrelációs laboratóriumi vizsgálatokat, hogy a technológiák közötti különbség minősíthető legyen. A felhasználóknak a helyi specifikus irányelveket/eljárásokat kell követniük.

A nem klinikai teljesítmény értékelése

A legfontosabb teljesítményjellemzők – élődonor-minták

Kimutatási határ (LoD)

Roche másodlagos standard / vírusizolátum

A cobas® WNV teszt kimutatási határát (*Limit of Detection*, LoD) a WNV 1. és 2. vonala RNS-ére a következő standard használatával határozták meg:

- Roche másodlagos standard a WNV 1. vonalához, amelynek a kalibrálása a kanadai WNV referenciastandardhoz (Infectious Diseases, Canadian Blood Services, 1800 Alta Vista, Ottawa, Ontario, K1G 4J5) képest történt.
- A National Centre for Immunobiologicals Research and Evaluation, Istituto Superiore di Sanità (ISS, Olaszország, Róma) által biztosított WNV 2. vonal ISS0513 izolátum.⁴¹

A Roche másodlagos standard esetében a WNV 1. vonalából három független hígítási sorozatot készítettek normál, (WNV) vírusra negatív humán EDTA-s plazmával. Mindegyik hígítási sorozatot három különböző gyártási tételű cobas® WNV tesztkészlettel tesztelték gyártási tételenként 21 ismételtsben, ami összesen 189 ismételést eredményezett koncentrációnként.

A WNV 2. vonal izolátuma esetén úgy készítettek paneleket, hogy törzsanyagot hígítottak normál, (WNV) vírusra negatív humán EDTA-s plazmával. Mindegyik hígítási sorozatot három különböző gyártási tételű cobas® WNV tesztkészlettel tesztelték gyártási tételenként nyolc ismételtsben, ami összesen 72 ismételést eredményezett koncentrációnként.

A LoD értékét, valamint az alsó és felső 95%-os konfidenciahatárokat a WNV 1. és 2. vonalához tartozó vírusok esetében a hígítási sorozatokból és a különböző gyártási tételekből vett reagensekből származó adatok 95%-os PROBIT analízisével (11. táblázat) és 50%-os PROBIT analízisével (12. táblázat) becsülték meg. Az 1. és 2. vonalhoz tartozó vírusok LoD-vizsgálataiban megfigyelt reaktivitási arányokat a 13. táblázat és a 14. táblázat foglalja össze.

11. táblázat Az EDTA-s plazmában lévő vírusstandardok LoD-adatairól készült 95%-os PROBIT analízis eredményei

Analit	Mértékegységek	LoD	Alsó 95%-os konfidenciahatár	Felső 95%-os konfidenciahatár
WNV, 1. vonal	kópia/ml	12,9	10,8	16,3
WNV, 2. vonal	kópia/ml	6,2	4,8	8,9

12. táblázat Az EDTA-s plazmában lévő vírusstandardok LoD-adatairól készült 50%-os PROBIT analízis eredményei

Analit	Mértékegységek	LoD	Alsó 95%-os konfidenciahatár	Felső 95%-os konfidenciahatár
WNV, 1. vonal	kópia/ml	2,1	1,9	2,4
WNV, 2. vonal	kópia/ml	1,1	0,8	1,3

Az átalakítási tényező 0,47 IU/kópia. Ez a nyugat-nílusi vírus (WNV) 1. WHO nemzetközi standardja RNS-ére vezethető vissza (NIBSC-kód: 18/206). Az átalakítási tényezőt a Roche másodlagos standardja alapján állapították meg, és alkalmazható az 1. vonalra és a 2. vonalra.

13. táblázat WNV, 1. vonal EDTA-s plazmában – a reaktivitási arányok összegzése

WNV RNS-koncentráció (kópia/ml)	Reaktívák száma	Érvényes ismétlések száma	Reaktívák %-os aránya	95%-os alsó konfidenciahatár (egyoldali)
18,0	187	188	99,5%	97,5%
9,0	173	188	92,0%	88,0%
4,5	139	188	73,9%	68,1%
2,7	93	189	49,2%	43,0%
0,9	53	189	28,0%	22,7%

14. táblázat WNV, 2. vonal EDTA-s plazmában – a reaktivitási arányok összegzése

WNV RNS-koncentráció (kópia/ml)	Reaktívák száma	Érvényes ismétlések száma	Reaktívák %-os aránya	95%-os alsó konfidenciahatár (egyoldali)
22,8	72	72	100,0%	95,9%
15,2	72	72	100,0%	95,9%
7,6	69	72	95,8%	89,6%
3,8	64	72	88,9%	80,8%
2,3	53	72	73,6%	63,7%
0,8	30	72	41,7%	31,8%

Reprodukálhatóság

A **cobas**® WNV teszt reprodukálhatóságát a **cobas**® 6800/8800 rendszereken a Roche másodlagos standardjával határozták meg a WNV 1. vonalához. A vizsgálatban három WNV-panelt teszteltek, amelyek koncentrációja mintegy 18, 9 és 4,5 kópia/ml volt. A tesztelésnél a következő elemek variabilitását vizsgálták:

- a napok közötti különbségek három nap alatt
- a gyártási tételek közötti különbségek a **cobas**® WNV teszt három különböző reagenstételénél
- a készülékek közötti különbségek három különböző **cobas**® 8800 rendszerénél

Huszonegy ismétléssel tesztelték mind a három panelt, ami összesen 189 ismétlést jelentett mindegyik reagenstételnél. Minden érvényes reprodukálhatósági adatot úgy értékelték ki, hogy minden koncentrációszinthez kiszámították a reaktív vizsgálati eredmények százalékos arányát az összes változó elemre.

Az egyes reaktivitási arányokhoz a WNV mindhárom koncentrációjánál kiszámították a kétoldali 95%-os konfidenciaintervallum határait, és a tesztelést három napon, három reagenstétellel és három különböző **cobas**® 8800 rendszeren végezték. A **cobas**® WNV teszt több napon, több reagenstétellel és több eszközön végzett tesztelés esetén reprodukálható. A 15. táblázat a reagenstételek közötti variabilitási adatok összefoglalását tartalmazza.

15. táblázat A **cobas**® WNV tesztreagensek gyártási tételei közötti reprodukálhatóság összefoglalása

Analit	Koncentráció (kópia/ml)	Reagens- tétel	Reaktívok (reaktív/érvényes ismétlések) százalékos aránya	A 95%-os konfidenciaintervallu m alsó határa	A 95%-os konfidenciaintervallu m felső határa
WNV	18,0	1	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
		2	100% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100% (63/63)	94,2%	100,0%
	9,0	1	92,1% (58/63)	82,4%	97,4%
		2	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
		3	85,5% (53/62)	74,2%	93,1%
	4,5	1	64,5% (40/62)	51,3%	76,3%
		2	77,8% (49/63)	65,5%	87,3%
		3	79,3% (50/63)	67,3%	88,5%

Inkluzivitás

Azt, hogy a **cobas® WNV** teszt milyen teljesítménnyel mutatja ki a WNV flavivírus-variánsait, az egyes variánsok egyedi, tenyésztett izolátumainak tesztelésével határozták meg. Összesen 10 egyedi, a WNV 1. vonalába tartozó, pozitív izolátumkultúrát teszteltek, amelyeket normál, (WNV) vírusra negatív humán EDTA-s plazmával hígítottak mintegy 36 kópia/ml koncentrációra. A teszt kimutatta mind a 10 tenyésztett mintát (16. táblázat).

A WNV-vel rokonságban álló, a Flavivirus nemzetségbe tartozó vírusok közül a japán encephalitisvírus (*Japanese Encephalitis Virus*, JEV) összesen 2 pozitív izolátumkultúráját tesztelték 4 ismétlésben. A hígítást normál, (WNV) vírusra negatív humán EDTA-s plazmával végezték. Összesen egy pozitív izolátumkultúrát teszteltek a Saint Louis encephalitis-vírusból (SLEV), a Murray Valley encephalitisvírusból (MVEV) és a Kunjin vírusból (KUNV). Logaritmikus hígításokat készítettek normál, (WNV) vírusra negatív, citrátos plazmával, majd az egyes izolátumok négy ismétlését használták a tesztekhez. A teszt kimutatta az összes izolátumkultúrát (17. táblázat).

16. táblázat A WNV 1. vonalának izolátumkultúrái

Flavivírus-variánsok	Koncentráció (kópia/ml)	Reaktívak százalékos aránya (reaktívak/teszteltek száma)
WNV 1	36	100,0% (10/10)

17. táblázat Rokon flavivírusok izolátumkultúrái

A minták hígítása	Reaktívok (reaktív/érvényes teszteredményű ismétlések) százalékaránya			
	JEV	SLEV	MVEV	KUNV
1:1,00E+02	100% (8/8)	100% (4/4)	100% (4/4)	100% (4/4)
1:1,00E+03	100% (8/8)	100% (4/4)	100% (4/4)	100% (4/4)
1:1,00E+04	100% (8/8)	100% (4/4)	100% (4/4)	100% (4/4)
1:1,00E+05	100% (8/8)	100% (4/4)	100% (4/4)	100% (4/4)
1:1,00E+06	100% (8/8)	100% (4/4)	100% (4/4)	100% (4/4)
1:1,00E+07	100% (8/8)	100% (4/4)	100% (4/4)	100% (4/4)

Az Usutu vírus izolátumkultúráját normál, (WNV) vírusra negatív humán EDTA-s plazmával hígították 1,0E+06 kópia/ml koncentrációra, majd 3 ismétléssel tesztelték. A teszt kimutatta mind a három ismétlést.

Analitikai specificitás

A **cobas®** WNV teszt analitikai specificitását 27 mikroorganizmussal való keresztreaktivitás tekintetében 10^6 részecskével, kópiával vagy PFU/ml-rel értékelték ki, amelyek között 19 vírusizolátum, hat baktériumtörzs és egy élesztőizolátum szerepelt (18. táblázat). A mikroorganizmusokat normál, a (WNV) vírusra negatív humán EDTA-s plazmához adták, és WNV hozzáadásával (a **cobas®** WNV teszt kimutatási határa (LoD-ja) kb. 3-szorosának megfelelő koncentrációban), valamint nélküle tesztelték. A vizsgált mikroorganizmusok nem mutattak keresztreakciót vagy interferenciát a **cobas®** WNV teszttel.

18. táblázat Az analitikai specificitás vizsgálatára használt mikroorganizmusok

Vírusok	Flavivírus	Baktériumok	Sarjadzógomba
Adenovírus 5	1-es típusú dengue vírus	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovírus		<i>Propionibacterium acnes</i>	
Epstein-Barr-vírus		<i>Staphylococcus aureus</i>	
<i>Herpes simplex</i> vírus, 1-es típus		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
<i>Herpes simplex</i> vírus, 2-es típus		<i>Streptococcus viridans</i>	
Hepatitis A vírus		<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
Hepatitis B vírus			
Hepatitis C vírus			
Hepatitis E vírus			
Hepatitis G vírus			
Humán immundeficiencia-vírus (HIV-1, M csoport)			
Humán immundeficiencia vírus (HIV-2)			
I. típusú humán T-sejtes lymphotrop vírus			
II. típusú humán T-sejtes lymphotrop vírus			
Humán herpeszvírus 6 B			
Influenzavírus A			
Chikungunya vírus			
Varicella-zoster vírus			

Egyes betegségekben (19. táblázat) szenvedőktől származó plazmamintákat WNV vírus hozzáadásával (a **cobas®** WNV kimutatási határa (LoD) kb. 3-szorosának megfelelő koncentrációban), valamint nélküle tesztelték. Ezek a kóros állapotok nem mutattak keresztreakciót vagy interferenciát a **cobas®** WNV teszttel.

19. táblázat Az analitikai specificitás vizsgálatára használt kóros állapotokból vett minták

Kóros állapot		
Adenovírus, 5-es típus	Hepatitis A vírus	II. típusú humán T-sejtes lymphotrop vírus
Cytomegalovírus	Hepatitis B vírus	<i>Herpes simplex</i> vírus, 1-es típus
Dengue vírus	Hepatitis C vírus	<i>Herpes simplex</i> vírus, 2-es típus
Epstein-Barr-vírus	I. típusú humán T-sejtes lymphotrop vírus	Humán immundeficiencia vírus (HIV-1)

Analitikai specificitás – zavaró anyagok

Zavaró endogén anyagok

Egyes anyagokból abnormálisan magas szintet mutató (trigliceridek: $\leq 35,3$ g/l, hemoglobin: $\leq 4,7$ g/l, nem konjugált bilirubin: $\leq 0,21$ g/l, albumin: $\leq 61,3$ g/l és humán DNS: $\leq 0,004$ g/l) plazmamintákat vizsgáltak WNV hozzáadásával (a cobas® WNV teszt kimutatási határa (LoD-ja) kb. 3-szorosának megfelelő koncentrációban), valamint nélküle. Az ezeket az endogén anyagokat tartalmazó minták nem zavarták a cobas® WNV teszt szenzitivitását vagy specificitását.

Zavaró exogén anyagok

Egyes gyógyszerekből (20. táblázat) abnormálisan magas szintet mutató normál, (WNV) vírusra negatív humán EDTA-s plazmamintákat vizsgáltak WNV hozzáadásával (a cobas® WNV teszt kimutatási határa (LoD-ja) 3-szorosának megfelelő koncentrációban), valamint nélküle. Ezek az exogén anyagok nem zavarták a cobas® WNV teszt szenzitivitását, illetve specificitását.

20. táblázat Gyógyszerekkel tesztelt klinikai minták

A tesztelt gyógyszer neve	Koncentráció
Acetaminofen	1324 $\mu\text{mol/l}$
Acetilszalicilsav	3620 $\mu\text{mol/l}$
Aszkorbinsav	342 $\mu\text{mol/l}$
Atorvasztatin	600 $\mu\text{g ekv./l}$
Fluoxetin	11,2 $\mu\text{mol/l}$
Ibuprofen	2425 $\mu\text{mol/l}$
Loratadin	0,78 $\mu\text{mol/l}$
Nadolol	3,88 $\mu\text{mol/l}$
Naproxén	2170 $\mu\text{mol/l}$
Paroxetin	3,04 $\mu\text{mol/l}$
Fenilefrin-HCl	491 $\mu\text{mol/l}$
Szertralin	1,96 $\mu\text{mol/l}$

Korreláció

A cobas® WNV teszt és a cobas® TaqScreen WNV teszt hatékonyságának összehasonlítása

A cobas® WNV teszt és a cobas® TaqScreen WNV teszt teljesítményét 100-100 egyéni NAT-pozitív EDTA-s plazma-mintával tesztelték mind hígítatlanul, mind 1:6 arányban hígítva. Ezenfelül 100 WNV-negatív EDTA-s plazmamintát teszteltek hígítatlanul mindkét módszerrel.

A WNV-negatív minták 100%-os specificitást mutattak, mert 100 közül 100 nem reaktív eredmény keletkezett mindkét módszerrel.

A pozitív mintáknál a két módszer eredménye egyezett a McNemar-féle teszt szerint, azaz a cobas® WNV teszt és a cobas® TaqScreen WNV teszt teljesítménye egyformának bizonyult (21. táblázat).

21. táblázat Pozitív minták korrelációja

Módszerek		WNV-eredmények	
cobas® TaqScreen WNV teszt	cobas® WNV	Hígítatlan	1:6 arányban hígítva
Nem reaktív	Nem reaktív	0	0
Reaktív	Nem reaktív	0	1*
Nem reaktív	Reaktív	0	1*
Reaktív	Reaktív	100	98
Összesen		100	100
McNemar-teszt, p-érték (kétoldalú, $\alpha = 0,05$)		1,0	1,0

* Ugyanaz a hígítatlanul tesztelt minta (< 100 kópia/ml a National Genetic Institute szerint a WNV RNA SuperQuant Assay teszttel) volt reaktív mindkét teszt szerint.

Teljes rendszerhiba

A cobas® WNV teszt teljes rendszerhibaarányát WNV-vel EDTA-s plazma 100 ismételéssel határozták meg. Ezeket a mintákat a kimutatási határ mintegy háromszorosával ($3 \times \text{LoD}$) megegyező célkoncentrációnál vizsgálták egytagú egyesített mintaként (hígítatlanul). A vizsgálatot a cobas® 8800 rendszeren folytatták a cobas p 680 eszközzel (pipettázás és minták egyesítése).

A vizsgálat eredményei szerint az összes ismételés reaktív volt WNV-re, vagyis a teljes rendszerhiba aránya 0% volt. A kétoldalú 95%-os pontos konfidenciaintervallum 0% volt az alsó határra, és 3,62% a felső határra [0%: 3,62%].

A legfontosabb teljesítményjellemzők – kadáverminták

Érzékenység

A **cobas®** WNV teszt klinikai érzékenységét a WNV RNS-ére úgy értékelték ki, hogy összesen 60 különálló, a vírusra negatív kadávermintát teszteltek, amelyek közül 35 minta mérsékelten volt hemolizált (szalmaszín/rózsaszín), 25 pedig nagy fokban (vörös/barna). Ezen felül 60 különálló, a vírusokra negatív, élő donortól származó mintát is vizsgáltak. Az összes kadáver- és élődonor-mintát 12 mintából álló csoportokra osztották a reagensek három gyártási tétele és a klinikai minták ötféle (WNV) oltottsági szintje szerint. Minden kadáver- és élődonor-mintához egyedi (WNV) klinikai mintákat adtak az adott minta kimutatási határa (LoD-ja) mintegy 5-szörösének eléréséhez. Mindegyik kadáver mintát 1:5,6 arányban hígították mintahígítóval **cobas omni** Specimen Diluent a készülékben, és a kadáverminta-tesztelő eljárással tesztelték.

Az összes kadáver és élődonor-minta reaktivitási aránya 100%-os volt (95%-os konfidenciaintervallum: 94,0–100%). A kadáver mintáknál megfigyelt klinikai érzékenység megfelelt az élődonor-mintáknál megfigyelt Fisher-egzakt teszt szerinti érzékenységnek. Ezek összegzését a 22. táblázat tartalmazza.

22. táblázat A reaktivitási arányok összegzése EDTA-s plazmában vizsgált kadáver és élődonor-minták esetén

Analit	Kadáver minta	Élődonor-minta
	Reaktívak százalékos aránya (reaktívak száma/tesztelt minták száma)	Reaktívak százalékos aránya (reaktívak száma/tesztelt minták száma)
WNV	100% (60/60)	100% (60/60)
Fisher-egzakt teszt, p-érték ($\alpha = 0,05$)	Nincs szignifikáns eltérés a reaktivitási arányban ($p = 1,000$)	

Specifititás

A **cobas®** WNV teszt specifitását kadáver EDTA-s plazma- és szérumminták esetében úgy vizsgálták és hasonlították össze az élődonor-minták specifitásával, hogy 64 egyéni kadáver EDTA-s plazmaminta egyetlen ismétlését tesztelték, amelyek közül 40 egyéni donorminta mérsékelten volt hemolizált (szalmaszín/rózsaszín), 24 pedig nagy fokban (vörös/barna), valamint 62 egyéni kadáver szérummintát, amelyek közül 42 egyéni minta mérsékelten volt hemolizált, 20 pedig nagy fokban, valamint 60 egyéni szeronegatív élődonor-plazmát és 60 egyéni élődonor-szérummintát. A vizsgálatot három független **cobas®** WNV reagenstétellel végezték. Mindegyik kadáver mintát 1:5,6 arányban hígították mintahígítóval **cobas omni** Specimen Diluent a készülékben, és a kadáverminta-tesztelő eljárással tesztelték. Az EDTA-s plazmából és szérumból származó összes kadáver és élődonor-minta nem reaktívnak bizonyult, ami 100%-os specifitást jelez. A kadáver mintáknál megfigyelt specifitás megegyezett az élődonor-minták Fisher-egzakt teszt szerinti specifitásával ($\alpha = 0,05$). Ezek összegzését a 23. táblázat tartalmazza.

23. táblázat A specificitás összegzése EDTA-s plazmában és szérumban vizsgált kadáver és élődonor-minták esetén

Mátrixok	Mintatípus	Nem reaktívok száma	Érvényes minták száma	Nem reaktívok százalékos aránya	Kétoldali 95%-os konfidenciaintervallum
EDTA-s plazma	Kadáver donor	64	64	100%	94,4–100%
	Élő donor	60	60	100%	94,0–100%
Szérum	Kadáver donor	62	62	100%	94,2–100%
	Élő donor	60	60	100%	94,0–100%
A Fisher-egzakt teszt szerinti eredmények összegzése ($\alpha = 0,05$)		A kadáver minták és az élődonor-minták specificitása megegyezik: Fisher-egzakt teszt, $p = 1,000$			

Reprodukálhatóság

A **cobas® WNV** teszt reprodukálhatóságát a **cobas® 6800/8800** rendszereken 20 db (mérsékelt vagy nagy fokban hemolizált) EDTA-s plazmaminta tesztelésével határozták meg, amelyeket a Roche WNV RNS másodlagos standardjával oltottak a **cobas® WNV** teszt kimutatási határának (LoD-jának) mintegy 5-szörösére. Az eredményeket egy olyan teszt eredményeivel hasonlították össze, ahol 20 élő donortól származó EDTA-s plazmamintába oltottak a Roche másodlagos standardból a **cobas® WNV** teszt kimutatási határának (LoD-jának) körülbelül 5-szörösére.

A tesztelésnél a teszt következő elemei változtak:

- a napok közötti különbségek 6 nap alatt
- a gyártási tételek közötti különbségek a **cobas® WNV** teszt három különböző reagenstételénél

Egy ismétlést a 3 reagenstétel mindegyikével teszteltek 6 napon át, ami összesen 18-18 ismétlést jelentett a kadáver és az élődonor-mintáknál. Mindegyik kadáver mintát 1:5,6 arányban hígították mintahígítóval **cobas omni** Specimen Diluent a készülékben, és a kadáverminta-tesztelő eljárással tesztelték. Minden reprodukálhatósági adatot úgy értékelték ki, hogy a változó elemek minden kombinációja mellett összehasonlították az élődonor- és a kadáverminták reaktivitási arányát (kétoldali 95%-os konfidenciaintervallum). A kadáver és élődonor-minták reaktivitási aránya közötti különbség statisztikai jelentőségének megállapítása céljából kiszámították a Fisher-féle pontos p-értéket. Nem tapasztaltak szignifikáns eltéréseket.

A **cobas® WNV** teszt a több napon és reagenstétellel végzett tesztelés során kadáver és élődonor-mintákra reprodukálhatónak bizonyult. A 24. táblázat a reagenstételek közötti variabilitási adatok összefoglalását tartalmazza.

24. táblázat A **cobas® WNV** teszt gyártási tételei közötti reprodukálhatóság összegzése kadáver és élődonor-minták esetén

Analit	Reagens-tétel	Mintatípus	Reaktívok (reaktív/érvényes ismétlések) százalékos aránya	A 95%-os konfidencia-intervallum alsó határa	A 95%-os konfidencia-intervallum felső határa	Szignifikáns különbség a Fisher-egzakt teszt szerint ($\alpha = 0,05$)
WNV	1	Kadáver	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	p-érték = 1,0000
		Élő donor	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	2	Kadáver	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	p-érték = 1,0000
		Élő donor	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	3	Kadáver	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	p-érték = 1,0000
		Élő donor	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	

Klinikai teljesítmény értékelése

Klinikai érzékenység – az ismerten WNV-pozitív minták klinikai érzékenységének vizsgálata

A cobas® WNV teszt klinikai érzékenységét 530 olyan egyedi klinikai minta tesztelésével állapították meg, amelyek NAT-tesztelés alapján pozitívak voltak. A vizsgálatot négy laboratóriumban végezték. Az egyes helyszíneken körülbelül 135 mintát teszteltek hígítatlanul és 1:6 arányban hígítva a cobas® WNV teszt három különböző készlettel. Az 530 egyedi klinikai minta közül tizenhetet a protokollnak megfelelően kizártak a statisztikai elemzésekből, mert nem feleltek meg a WNV-koncentrációra vonatkozó feltételeknek. Így az elemzésben 513 minta vett részt, azonban két hígítatlan mintánál nem keletkezett érvényes eredmény, és az elemzésben 511 hígítatlan eredmény maradt. Mind az 513 hígított mintánál érvényes eredmény keletkezett.

A cobas® WNV érzékenysége e szerint a vizsgálat szerint a hígítatlan mintáknál 100% volt (95%-os konfidencia-intervallum: 99,3–100%), az (1:6 arányban) hígított mintáknál pedig 98,8% (95%-os konfidenciaintervallum: 97,5–99,5%) (25. táblázat). A hat nem-reaktív hígítatlan minta a hígítatlan, alacsony víruskoncentrációjú mintákból származott.

25. táblázat Az ismerten WNV-pozitív minták klinikai érzékenysége

	Vizsgált minták száma	Vizsgált reaktív minták száma	Vizsgált nemreaktív minták száma	Érzékenység (%)	Érzékenység (95%-os konfidenciaintervallum)	
					Alsó határ	Felső határ
Hígítatlan	511*	511	0	100	99,3	100
1:6	513	507	6	98,8%	97,5	99,5

* Két hígítatlan mintánál nem keletkezett érvényes eredmény.

Klinikai specificitás

A cobas® WNV teszt klinikai specificitását véletlenszerűen kiválasztott véradási mintákon vizsgálták négy külső laboratóriumi helyszínen. Különálló mintákat és hat mintából álló csoportokat vizsgáltak. Ehhez a vizsgálatához a cobas® WNV teszt három különböző reagenstételét használták. A cobas® WNV teszt klinikai specificitásának mérőszáma az olyan WNV-negatív státuszú donorok százalékaránya volt (95%-os kétoldali konfidenciaintervallum mellett), akinél a cobas® WNV teszt nem-reaktív eredményt adott. 63 243 értékelhető véradási minta volt a csoportos tesztelésből, és 10 823 értékelhető véradási minta a minták egyenkénti teszteléséből.

A csoportos vizsgálat eredményei

A 26. táblázatban szerepelnek a cobas® WNV teszt klinikai specificitási számításai a csoportos tesztelés 63 243 értékelhető donorára. A cobas® WNV teszt klinikai specificitása a csoportos tesztelés alapján 100,000% (63 243/63 243; 95%-os konfidenciaintervallum: 99,994–100,000%) volt ebben a vizsgálatban.

26. táblázat A cobas® WNV teszt klinikai specifikitása – csoportos tesztelés

cobas® WNV eredménye	Véradási minta státusza a WNV szerint*		Összesen
	Pozitív	Negatív	
WNV-reaktív	0	0	0
Nem WNV-reaktív	0	63 243	63 243
Összesen	0	63 243	63 243
Klinikai specifikitás (95% konfidenciaintervallum)	-	100,000% (99,994%, 100,000%)	-

* A „WNV-donor állapota” kategóriába sorolás programozottan történt a vizsgálat reaktivitási törvényszerűségei alapján; a donoroktól elsőként levett mintát vizsgálták, és ha volt(ak) későbbi vérvétel(ek), az(oka)t is.

A cobas® WNV csoportosan végzett teszt specifikitása az első vérvételek alapján 100,000% (10 573/10 573; 95%-os konfidenciaintervallum: 99,964–100,000%) volt. A 10 573 db hattagú mintacsoportok egyike sem volt reaktív a cobas® WNV teszten. A belső kontroll vagy a készülék hibája miatt 1,6% lett az érvénytelen eredmények aránya a csoportos minták eredményeinél.

A mintánkénti vizsgálat eredményei

A 27. táblázatban szerepelnek a cobas® WNV teszt klinikai specifikitási számításai a mintánkénti tesztelés 10 823 értékelhető donorára. A cobas® WNV teszt klinikai specifikitása a mintánkénti tesztelés alapján 100,000% (10 823/10 823; 95%-os konfidenciaintervallum: 99,965–100,000%) volt ebben a vizsgálatban. A mintánként tesztelés során az érvénytelenek aránya 0,3% volt a belső kontrollok, a készülék hibája, a protokolltól való eltérés és az egyes minták tesztelésekor megfigyelt más események miatt.

27. táblázat A cobas® WNV teszt klinikai specifikitása – különálló tesztelés

cobas® WNV eredménye	Véradási minta státusza a WNV szerint*		Összesen
	Pozitív	Negatív	
WNV-reaktív	0	0	0
Nem WNV-reaktív	0	10 823	10 823
Összesen	0	10 823	10 823
Klinikai specifikitás (95% konfidenciaintervallum)		100,000% (99,965%, 100,000%)	

* A „WNV-donor állapota” kategóriába sorolás programozottan történt a vizsgálat reaktivitási törvényszerűségei alapján; a donoroktól elsőként levett mintát vizsgálták, és ha volt(ak) későbbi vérvétel(ek), az(oka)t is.

Reprodukálhatóság

A **cobas**® 6800/8800 rendszereken használt **cobas**® WNV teszt reprodukálhatóságát nyolctagú panellel vizsgálták.

A paneltagok két negatív plazmaminta, valamint két, három különböző (a **cobas**® WNV teszt kimutatási határa (LoD-ja) kb. 0,5-szeresének, 1,0-szeresének és 3,0-szorosának megfelelő) koncentrációjú, WNV-re pozitív minta voltak.

A kezelők a három helyszínen mindegyikén a **cobas**® 8800 rendszeren ötnapos tesztelést végeztek a **cobas**® WNV teszt három gyártási tételének mindegyikével és két érvényes panelfuttatással (vagyis két darab, egy panelből és két kontrollból álló mintacsoportot teszteltek). Ez összesen legfeljebb 180 tesztet jelentett a WNV-pozitív paneltagokra mindhárom koncentrációnál.

Minden érvényes mintacsoportot és teszteredményt úgy értékelték, hogy kiszámították valamennyi paneltag esetében a reaktív vizsgálati eredmények százalékos arányát (28. táblázat). A vizsgálat során a **cobas**® 6800/8800 rendszereken használt **cobas**® WNV teszt reprodukálható teljesítményt mutatott a WNV kimutatásában a kiértékelt változók (gyártási tétel, helyszín/készülék, nap, mintacsoport és mintacsoporton belüli reprodukálhatóság) mellett.

28. táblázat Teszteredmények helyszín, gyártási tétel, nap és futtatás alapján összegezve (pozitív paneltagok)

Vírus- target	Vírus- koncentráció	Hely		Tétel		Nap		Futás	
		ID	pozitív eredmények %-a	ID	pozitív eredmények %-a	ID	pozitív eredmények %-a	ID	pozitív eredmények %-a
WNV	0,5 × LoD	1	86,7% (52/60)	1	85,0% (51/60)	1	94,4% (34/36)	1	81,1% (73/90)
		2	90,0% (54/60)	2	91,7% (55/60)	2	72,2% (26/36)	2	91,1% (82/90)
		3	81,7% (49/60)	3	81,7% (49/60)	3	88,9% (32/36)	-	-
		-	-	-	-	4	86,1% (31/36)	-	-
		-	-	-	-	5	88,9% (32/36)	-	-
	1,0 × LoD	1	95,0% (57/60)	1	96,7% (58/60)	1	86,1% (31/36)	1	93,3% (83/89)
		2	100,0% (59/59)	2	88,3% (53/60)	2	94,4% (34/36)	2	92,2% (83/90)
		3	83,3% (50/60)	3	93,2% (55/59)	3	94,3% (33/35)	-	-
		-	-	-	-	4	94,4% (34/36)	-	-
		-	-	-	-	5	94,4% (34/36)	-	-
	3,0 × LoD	1	98,3% (59/60)	1	98,3% (59/60)	1	100,0% (36/36)	1	98,9% (89/90)
		2	100,0% (60/60)	2	100,0% (60/60)	2	100,0% (36/36)	2	100,0% (90/90)
		3	100,0% (60/60)	3	100,0% (60/60)	3	97,2% (35/36)	-	-
		-	-	-	-	4	100,0% (36/36)	-	-
		-	-	-	-	5	100,0% (36/36)	-	-

További információk

A teszt legfontosabb tulajdonságai

Mintatípus	Plazma és szérum
Az élő donortól minimálisan szükséges minta térfogata	1000 µl*
Az élő donornál feldolgozott minta térfogata	850 µl
A kadáver donortól minimálisan szükséges minta térfogata	300 µl*
A kadáver donornál feldolgozott minta térfogata	150 µl

* A teszthez használt csöveknek eltérő holt térfogata lehet, és a minimális térfogat is eltérhet. További információkért forduljon a Roche helyi szervizképviselőjéhez.

Szimbólumok

A Roche PCR diagnosztikai termékek jelölésére a következő szimbólumokat használják.

29. táblázat A Roche PCR diagnosztikai termékek címkéjén használt szimbólumok

Age/DOB Kor vagy születési dátum	 Nem a beteg közelében használható teszteszköz	QS IU/PCR QS-IU-k száma PCR-reakciónként; használja a QS-IU-k (nemzetközi egységek) reakciónkénti számát az eredmények számításához.
 Segédsoftver	 Nem öntesztelő eszköz	SN Sorozatszám
Assigned Range [copies/mL] Megadott tartomány (kópia/ml)	 Forgalmazó (Megjegyzés: Az alkalmazandó ország/régió a szimbólum alatt jelölhető meg)	Site Hely
Assigned Range [IU/mL] Megadott tartomány (IU/ml)	 Ne használja újra	Procedure Standard Szokásos eljárás
EC REP Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben	 Nő	STERILE EO Etilén-oxiddal sterilizálva
 Vonalkód-adatlap	 Csak IVD teljesítmény értékelésre	 Sötétben tárolandó
LOT Mintacsoportkód	GTIN Globális kereskedelmi cikkszám	 Hőmérsékletkorlát
 Biológiai veszély	 Importőr	 Vizsgálatdefiníciós fájl
REF Katalógusszám	IVD <i>In vitro</i> diagnosztikai felhasználásra	 Felfelé nézzen
 CE megfelelési jelzés: ez az eszköz megfelel az <i>in vitro</i> diagnosztikai felhasználású orvostechnikai eszközök CE jelölésére vonatkozó előírásoknak	LLR Megadott tartomány alsó határa	Procedure UltraSensitive Ultraérzékeny eljárás
Collect Date Adatgyűjtés	 Férfi	UDI Egyedi eszközazonosítás
 Olvassa el a használati útmutatót	 Gyártó	ULR Megadott tartomány felső határa
 Tartalma <n> vizsgálathoz elegendő	CONTROL - Negatív kontroll	Urine Fill Line Eddig töltendő vizelettel
CONTENT A készlet tartalma	 Nem steril	Rx Only Csak az USA-ban: Az USA szövetségi törvényei értelmében az eszköz csak orvos részére vagy rendelvényére adható ki.
CONTROL Kontroll	 Beteg neve	 Lejárat dátuma
 Gyártás napja	 Beteg száma	
 Beteg közelében használható teszteszköz	 Itt válassza le	
 Öntesztelő eszköz	CONTROL + Pozitív kontroll	
	QS copies / PCR QS-kópiák száma PCR-reakciónként; használja a QS-kópiák reakciónkénti számát az eredmények számításához.	

Technikai segítségnyújtás

Technikai segítségnyújtásért (segítségért) forduljon a helyi kirendeltséghez:

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

Gyártó és importőr

30. táblázat Gyártó és importőr



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

Készült az USA-ban



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Védjegyek és szabadalmak

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

Szerzői jogok

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Hivatkozások

1. Petersen LR, Brault AC, Nasci RS. West Nile virus: review of the literature. *JAMA*. 2013;310:308-315.
2. Gray TJ, Webb CE. A review of the epidemiological and clinical aspects of West Nile virus. *Intl J Gen Med*. 2014;7:193-203.
3. Kuno G, Chang GJ, Tsuchiya KR, Karabatsos N, Cropp CB. Phylogeny of the genus Flavivirus. *J Virol*. 1998;72:73-83.
4. Burke DS, Monath TP. Flavirviruses. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, et al. editors, *Fields' Virology*, vol. 1. 4th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2001:pp. 1043-1126.
5. Mackenzie JS, Gubler DJ, Petersen LR. Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile, and dengue viruses. *Nat Med*. 2004;10 Suppl 12:S98-S109.
6. Beasley DW, Davis CT, Whiteman M, Granwehr B, Kinney RM, Barrett AD. Molecular determinants of virulence of West Nile virus in North America. *Arch Virol Suppl*. 2004;18:35-41.
7. Papa A, Xanthopoulou K, Gewehr S, Mourelatos S. Detection of West Nile virus lineage 2 in mosquitoes during a human outbreak in Greece. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17:1176-1180.
8. Sambri V, Capobianchi M, Charrel R, et al. West Nile virus in Europe: emergence, epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19:699-704.
9. Petersen LR, Busch MP. Transfusion-transmitted arboviruses. *Vox Sang*. 2010;98:495-503.
10. Artsob H, Gubler DJ, Enria DA, et al. West Nile Virus in the New World: trends in the spread and proliferation of West Nile Virus in the Western Hemisphere. *Zoonoses Public Health*. 2009;56:357-369.
11. May FJ, Davis CT, Tesh RB, Barrett AD. Phylogeography of West Nile virus: from cradle of evolution in Africa to Eurasia, Australia, and the Americas. *J Virol*. 2011;85:2964-2974.
12. Petersen LR, Hayes EB. West Nile virus in the Americas. *Med Clin North Am*. 2008;92:1307-1322.
13. Nash D, Mostashari F, Fine A, et al.; 1999 West Nile Outbreak Response Working Group. The outbreak of West Nile virus infection in the New York area 1999. *N Engl J Med*. 2001;344:1807-1814.
14. Pealer LN, Marfin AA, Petersen LR, et al and the West Nile Virus Transmission Investigation Team. Transmission of West Nile Virus through blood transfusion in the United States in 2002. *N Engl J Med*. 2003;349:1236-1245.
15. Harrington T, Kuehnert MJ, Kamel H, et al. West Nile virus infection transmitted by blood transfusion. *Transfusion*. 2003;43:1018-1022.
16. Nett RJ, Kuehnert MJ, Ison MG, Orlowski JP, Fischer JM, Staples JE. Current practices and evaluation of screening solid organ donors for West Nile virus. *Transpl Infect Dis*. 2012;14:268-277.
17. Biggerstaff BJ, Petersen LR. Estimated risk of West Nile virus transmission through blood transfusion during an epidemic in Queens, New York City. *Transfusion*. 2002;42:1019-1026.
18. Custer B, Kamel H, Kiely NE, et al. Associations between West Nile virus infection and symptoms reported by blood donors identified through nucleic acid test screening. *Transfusion*. 2009;49:278-288.
19. Busch MP, Wright DJ, Custer B, et al. West Nile virus infections projected from blood donor screening data, United States, 2003. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:395-402.
20. Sejvar JJ, Haddad MB, Tierney BC, et al. Neurologic manifestations and outcome of West Nile virus infection. *JAMA*. 2003;290:511-515.
21. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Fatal West Nile Virus infection after probable transfusion-associated transmission-Colorado, 2012. *MMWR*. 2013;62(31):622-624.

22. Kamar N, Bendell R, Legrand-Abravanel F, et al. Hepatitis E. *Lancet*. 2012;379:2477-2488.
23. AABB website; West Nile Virus Vigilance Network (for West Nile virus 2006-2010). Data compiled by Susan L. Stramer, American Red Cross, available at <http://www.aabb.org/research/hemovigilance/Pages/wnv.aspx>.
24. Zou S, Foster GA, Dodd RY, Petersen LR, Stramer SL. West Nile fever characteristics among viremic persons identified through blood donor screening. *J Infect Dis*. 2010;202:1354-1361.
25. Mostashari F, Bunning ML, Kitsutani PT, et al. Epidemic West Nile encephalitis, New York, 1999: results of a household-based seroepidemiological survey. *Lancet*. 2001;358:261-264.
26. Sejvar JJ, Curns AT, Welburg L, et al. Neurocognitive and functional outcomes in person recovering from West Nile virus illness. *J Neuropsychol*. 2008;2(pt.2):477-499.
27. Burton JM, Kern RZ, Halliday W, et al. Neurological manifestations of West Nile virus infection. *Can J Neurol Sci*. 2004;31:185-193.
28. Robinson RL, Shahida S, Madan N, Rao S, Khardori N. Transient parkinsonism in West Nile virus encephalitis. *Am J Med*. 2003;115:252-253.
29. Sejvar JJ, Bode AV, Marfin AA, et al. West Nile virus-associated flaccid paralysis. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:1021-1027.
30. Leis AA, Stokic DS. Neuromuscular manifestations of west nile virus infection. *Front Neurol*. 2012;3:37.
31. Emig M, Apple DJ. Severe West Nile virus disease in healthy adults. *Clin Infect Dis*. 2004;38:289-292.
32. Sadek JR, Pergam SA, Harrington JA, et al. Persistent neuropsychological impairment associated with West Nile virus infection. *J Clin Exp Neuropsychol*. 2010;32:81-87.
33. Lindsey NP, Staples JE, Lehman JA, Fischer M; Center for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for human West Nile virus disease. *MMWR Surveill Summ*. 2010;59:1-17.
34. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-128.
35. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-493.
36. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-878.
37. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY)*. 1992;10:413-417.
38. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-994.
39. Center 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.
40. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.
41. Pisani G, Pupella S, Cristiano K, et al. Detection of West Nile virus RNA (lineages 1 and 2) in an external quality assessment programme for laboratories screening blood and blood components for West Nile virus by nucleic acid amplification testing. *Blood Transfus*. 2012;10: 515-520.

Dokumentumverzió

Dokumentum verzióinformációi	
Doc Rev. 1.0 05/2023	Első közzététel. Javított betűhibák (M/N) a 2. táblázatban.

A biztonsági és teljesítményjelentés összegzését a következő hivatkozáson találja: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>