

cobas[®] EBV

Количественный тест для определения нуклеиновых кислот в системах cobas[®] 5800/6800/8800

Для диагностики *in vitro*

cobas[®] EBV

P/N: 09040943190

Для использования в системе cobas[®] 5800

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

Для использования в системах cobas[®] 6800/8800

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 08688214190 или
P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190 или
P/N: 09051953190

Содержание

Назначение	4
Описание теста	4
Реагенты и материалы	8
Реагенты и контроли теста cobas® EBV	8
Реагенты cobas® omni для пробоподготовки	11
Требования к условиям хранения реагентов	12
Требования к условиям использования реагентов для системы cobas® 5800	12
Требования к условиям использования реагентов для систем cobas® 6800/8800	13
Дополнительные необходимые материалы для системы cobas® 5800	14
Дополнительные необходимые материалы для систем cobas® 6800/8800	14
Необходимое оборудование и программное обеспечение	15
Меры предосторожности и правила работы	16
Меры предосторожности	16
Обращение с реагентами	17
Надлежащая лабораторная практика	17
Сбор, транспортировка и хранение образцов	18
Образцы	18
Инструкция по работе с набором	19
Рекомендации по процедуре	19
Постановка теста cobas® EBV в системе cobas® 5800	20
Постановка теста cobas® EBV в системах cobas® 6800/8800	21
Результаты	22
Контроль качества и валидность результатов в системе cobas® 5800	22
Результаты тестирования контролей в системе cobas® 5800	22
Контроль качества и валидность результатов в системах cobas® 6800/8800	23
Флаги контролей в системах cobas® 6800/8800	23

Интерпретация результатов	24
Интерпретация результатов в системе cobas® 5800	25
Интерпретация результатов в системах cobas® 6800/8800	25
Ограничения процедуры	25
Доклинические испытания теста	26
Основные рабочие характеристики, определяемые в системах cobas® 6800/8800	26
Предел обнаружения (LoD)	26
Линейный диапазон	28
Внутрилабораторная воспроизводимость	28
Верификация генотипов	29
Специфичность	29
Аналитическая специфичность	30
Аналитическая специфичность: интерферирующие вещества	30
Корреляция методов	31
Системные ошибки	32
Перекрестная контаминация	32
Клинические испытания теста в системах cobas® 6800/8800	33
Воспроизводимость теста cobas® EBV	33
Испытание теста cobas® EBV	34
Эквивалентность/сравнение систем	36
Дополнительная информация	37
Основные характеристики теста	37
Условные обозначения	38
Техническая поддержка	39
Производитель и импортёр	39
Товарные знаки и патенты	39
Авторское право	39
Литература	40
Редакция документа	41

Назначение

Тест **cobas® EBV** является тестом *in vitro* для количественного определения ДНК вируса Эпштейна — Барр (ВЭБ) в образцах плазмы человека с ЭДТА методом амплификации нуклеиновых кислот в системах **cobas® 5800/6800/8800**.

Тест **cobas® EBV** предназначен для применения в качестве вспомогательного средства при диагностике и ведении ВЭБ-инфекции у пациентов, перенесших трансплантацию. У пациентов, которые проходят мониторинг ВЭБ-инфекции, для выявления потребности в потенциальных изменениях схемы лечения и определения ответа на противовирусную терапию могут применяться серийные измерения концентрации ДНК.

Результаты теста **cobas® EBV** необходимо интерпретировать в контексте всех клинических и лабораторных данных.

Описание теста

Введение

У реципиентов трансплантатов повышен риск многих вирусных и бактериальных инфекций, которые с большей вероятностью могут вызвать серьезные нежелательные последствия для здоровья в популяции пациентов, перенесших трансплантацию, по сравнению с общей здоровой популяцией. Этот повышенный риск отчасти объясняется снижением функции иммунной системы вследствие применения иммуносупрессивных препаратов, которые пациенты после трансплантации получают с целью уменьшения вероятности отторжения трансплантата ^{1,2}.

ВЭБ является членом семейства вирусов герпеса. Это оболочечный вирус с двухцепочечной дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК) (~172 кб). Два основных генотипа ВЭБ, тип 1 и тип 2, были определены на основе различий в гене EBNA-2. ВЭБ-инфекции у людей довольно распространены; инфицированы более 90 % взрослых, и латентная инфекция сохраняется в течение всей жизни. ВЭБ вызывает инфекционный мононуклеоз у некоторых недавно инфицированных подростков и взрослых и связан с несколькими типами рака, включая карциному носоглотки, лимфому Бёркитта и лимфому Ходжкина. ВЭБ может быть причиной развития лимфопролиферативных нарушений у лиц с врожденным или приобретенным иммунодефицитом, включая реципиентов трансплантатов и пациентов с вирусом иммунодефицита человека / синдромом приобретенного иммунодефицита (ВИЧ/СПИД) ³.

У реципиентов трансплантатов ВЭБ может вызывать заболевание либо путем реактивации латентного вируса в В-клетках памяти, либо путем развития новой первичной инфекции, особенно у ВЭБ-негативных реципиентов, которые получают трансплантаты от ВЭБ-позитивных доноров.³ У этих пациентов наиболее тяжелой формой заболевания, связанного с ВЭБ, является посттрансплантационное лимфопролиферативное расстройство (ПТЛР), которое возникает в результате неконтролируемой пролиферации лимфоцитов, обычно В-клеток ⁴. В целом, > 70 % случаев ПТЛР среди реципиентов трансплантатов связаны с ВЭБ-инфекцией. Наибольший риск возникновения ПТЛР наблюдается в течение первого года после трансплантации; > 90 % случаев ПТЛР, которые происходят в этот период, связаны с ВЭБ. До 20 % случаев ПТЛР, которые происходят после первого года после трансплантации, затрагивают ВЭБ-негативных реципиентов ^{4,5}.

Факторы риска раннего начала ПТЛР включают ВЭБ-негативный серостатус реципиента на момент трансплантации, более молодой возраст, воздействие антител, истощающих популяцию лимфоцитов, и тип трансплантируемого органа ^{5,6}.

Раннее выявление первичных ВЭБ-инфекций и мониторинг уровня ДНК могут помочь в оперативном терапевтическом вмешательстве для предотвращения прогрессирования заболевания, связанного с ВЭБ. В руководствах рекомендуется проводить регулярный мониторинг ВЭБ-инфекции с использованием количественных тестов для определения нуклеиновых кислот (НАТ), особенно у ВЭБ-негативных реципиентов трансплантатов, которые находятся в группе высокого риска ^{4,5}. Хотя точный порог обнаружения вируса, значимый с медицинской точки зрения, все еще является предметом дискуссий из-за вариабельности результатов между тестами, концепция критического порога представляется обоснованной и была обозначена в исследованиях естественного течения заболевания, показывающих, что более высокие уровни ДНК ВЭБ коррелируют с повышенным риском развития заболевания, связанного с ВЭБ, и ПТЛР ^{4,5,7}. Для тестирования на наличие ВЭБ используют образцы как плазмы, так и цельной крови, но факты свидетельствуют о том, что плазма более специфична для обнаружения ПТЛР ^{4,5,7,8}.

Общие терапевтические вмешательства для снижения уровня ДНК ВЭБ и предотвращения возникновения ПТЛР включают снижение доз иммуносупрессивных препаратов и лечение антителами, истощающими популяцию В-клеток ⁷. Превентивная терапия для снижения уровня ДНК ВЭБ успешна у большинства пациентов, хотя доля тех из них, у кого все же может развиться ПТЛР, составляет до 20 %, особенно среди лиц, прошедших трансплантацию более одного года назад ⁷.

Большинство лабораторных тестов, предназначенных для количественного определения ВЭБ, не стандартизированы, что привело к вариабельности результатов определения уровня ДНК между лабораториями и между тестами и исключает возможность сопоставления уровней ДНК, определенных в разных лабораториях и с помощью разных тестов ⁷. Для решения этой проблемы ВОЗ разработала Международный стандарт для количественного определения ВЭБ, позволяющий выражать определяемое с помощью стандартизированных тестов значение в МЕ/мл ⁹. Формальная оценка воспроизводимости и валидности уровней ДНК ВЭБ имеет решающее значение для обеспечения единообразных результатов в лабораториях с целью улучшения клинического ведения пациентов с повышенным риском развития заболеваний, связанных с ВЭБ, и ПТЛР.

Обоснование тестирования нуклеиновых кислот (НАТ)

С целью определения у пациента риска посттрансплантационных осложнений, связанных с ВЭБ, перед трансплантацией определяют серологический статус ВЭБ у донора и реципиента. Однако серологический тест недостаточно чувствителен или точен для мониторинга пациентов после трансплантации. Для получения результатов культуральных методов определения ВЭБ требуется много времени, и в этих условиях их прогностическая значимость невелика. Прямое обнаружение ДНК ВЭБ методом ПЦР в реальном времени обладает чрезвычайно широким динамическим диапазоном, воспроизводимостью, высокой чувствительностью и специфичностью.

Принципы теста

cobas® EBV — это количественный тест, проводимый в системах **cobas® 5800/6800/8800**. **cobas® EBV**, который позволяет осуществлять детекцию и количественное определение ДНК ВЭБ в плазме с ЭДТА от инфицированных пациентов. Количественное определение вирусной нагрузки проводится относительно количественного стандарта ДНК (DNA-QS), не являющейся ДНК ВЭБ, который вносится в каждый образец во время пробоподготовки. DNA-QS также используется как внутренний контроль для мониторинга всего процесса пробоподготовки и амплификации в ПЦР. Также в тесте применяются три внешних контроля: положительный высокотитражный, положительный низкотитражный и отрицательный. Положительный высокотитражный и положительный низкотитражный контроли получены путем разведения исходных материалов с концентрацией, прослеживаемой до международного стандарта ВОЗ для ВЭБ. Каждый лот набора для амплификации/детекции калибруется относительно международного стандарта ВОЗ для ВЭБ.

Процедуры, лежащие в основе теста

Тест **cobas® EBV** основан на полностью автоматизированной пробоподготовке (выделении и очистке нуклеиновых кислот) с последующей амплификацией в ПЦР и детекцией. Система **cobas® 5800** представляет собой один интегрированный прибор. Системы **cobas® 6800/8800** состоят из модуля подачи образцов, модуля переноса, модуля обработки и аналитического модуля. Автоматизированное управление данными осуществляется в программе системы **cobas® 5800** или **cobas® 6800/8800**, которая присваивает всем тестам следующие результаты: мишень не обнаружена, ДНК ВЭБ обнаружена на уровне $< \text{LLOQ}$ (нижний предел количественного определения), ДНК ВЭБ обнаружена на уровне $> \text{ULOQ}$ (верхний предел количественного определения) или указывает значение концентрации, которое находится в линейном диапазоне $\text{LLOQ} < x < \text{ULOQ}$. Результаты можно просматривать непосредственно на экране системы, экспортировать и распечатывать в виде отчета.

Нуклеиновые кислоты образца и вносимых в него молекул лямбды DNA-QS выделяются одновременно. Вирусные нуклеиновые кислоты освобождаются в результате внесения в образец протеазы и лизирующего реагента. Освободившаяся нуклеиновая кислота связывается с кремниевой поверхностью внесенных в образец магнитных стеклочастиц. Несвязавшиеся вещества и примеси, например денатурировавшие белки, клеточный дебрис, потенциальные ингибиторы ПЦР, удаляются на последующих этапах с помощью промывочного реагента, и очищенная нуклеиновая кислота элюируется со стеклочастиц буфером для элюции при повышенной температуре.

Избирательная амплификация нуклеиновой кислоты-мишени из образца достигается путем использования специфичной к вирусу двойной мишени из высококонсервативных участков генома ВЭБ, расположенных в гене EBNA-1 ВЭБ и гене BMRF ВЭБ. Избирательная амплификация DNA-QS достигается путем использования аллель-специфичных прямого и обратного праймеров, подобранных с учетом отсутствия гомологии с геномом ВЭБ. Термостабильный фермент ДНК-полимераза используется для амплификации. Последовательности-мишени и последовательности DNA-QS амплифицируются одновременно в ПЦР с единым профилем с заданными температурными этапами и числом циклов. В состав мастермикса входит трифосфат дезоксиуридина (dUTP) вместо трифосфата дезокситимидина (dTTP), который встраивается во вновь синтезируемые цепи ДНК (ампликон) ¹⁰⁻¹². Любые контаминирующие ампликоны из предыдущих постановок ПЦР разрушаются ферментом AmpErase, входящим в состав ПЦР-смеси, во время нагревания на первом этапе термоциклирования. Однако вновь синтезируемые ампликоны не элиминируются, поскольку фермент AmpErase инактивируется при нагревании выше 55 °C.

Мастермикс теста **cobas® EBV** содержит два зонда для детекции последовательностей-мишеней ВЭБ и один зонд для детекции DNA-QS. Каждый зонд мечен мишень-специфичным флуоресцентным репортерным красителем, что позволяет проводить одновременную детекцию мишени EBV и DNA-QS по двум разным целевым каналам^{13, 14}. Флуоресцентный сигнал интактного зонда подавляется гасителем. Во время этапа амплификации ПЦР зонды гибридизуются со специфичными матрицами одноцепочечной ДНК и разрушаются вследствие 5'-3'-нуклеазной активности ДНК-полимеразы. Это приводит к разделению репортерного и гасящего красителя и генерированию флуоресцентного сигнала. На каждом цикле ПЦР увеличивается количество разрушенных зондов и происходит кумулятивный рост сигнала от репортерного красителя. Детекция в режиме реального времени и дифференциация продуктов ПЦР происходит благодаря измерению флуоресцентного сигнала от репортерных красителей вирусной мишени и DNA-QS.

Реагенты и материалы

Реагенты и контроли теста cobas® EBV

Материалы, предоставляемые для теста cobas® EBV, перечислены в Табл. 1. Необходимые, но не предоставляемые материалы перечислены в Табл. 2 – Табл. 4 и в Табл. 8 – Табл. 9.

Информация о безопасном применении продукта представлена в разделе **Реагенты и материалы** и разделе **Меры предосторожности и правила работы с реагентами**.

Табл. 1 cobas® EBV

cobas® EBV

Хранить при температуре 2–8 °С

Кассета на 192 теста (P/N 09040943190)

Компоненты набора	Состав реагента	Количество в наборе 192 тестов
Раствор протеазы (PASE)	Трис буфер, < 0,05 % ЭДТА, хлорид кальция, ацетат кальция, 8 % протеиназа, глицерин EUN210: Паспорт безопасности предоставляется по запросу. EUN208: Содержит субтилизин, полученный из бактерий <i>Bacillus subtilis</i> . Может вызывать аллергическую реакцию.	22,3 мл
Количественный стандарт ДНК (DNA QS)	Трис буфер, < 0,05 % ЭДТА, < 0,001 % не относящийся к ВЭБ конструктор ДНК, содержащий не относящиеся к ВЭБ сайты посадки праймеров и уникального зонда (неинфекционная ДНК), < 0,002 % поли гА РНК (синтетическая), < 0,1 % азид натрия	21,2 мл
Буфер для элюции (EB)	Трис буфер, 0,2 % метил-4-гидроксibenзоат	21,2 мл
Мастермикс реагент 1 (MMX-R1)	Ацетат марганца, гидроксид калия, < 0,1 % азид натрия	7,5 мл
EBV мастермикс реагент 2 (EBV MMX-R2)	Трициновый буфер, ацетат калия, < 18 % диметилсульфоксид, глицерин, < 0,1 % Tween 20, ЭДТА, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP и dUTP, < 0,01 % прямые и обратные праймеры для ВЭБ, < 0,01 % прямые и обратные праймеры для количественного стандарта, < 0,01 % меченые флуоресцентным красителем зонды для ВЭБ и количественного стандарта ВЭБ, < 0,01 % олигонуклеотидный аптамер, < 0,01 % Z05D ДНК-полимераза, < 0,1 % фермент AmpErase (урацил-N-гликозилаза) (бактериальная), < 0,10 % азид натрия	9,7 мл

Табл. 2 Набор контролей cobas® EBV/BKV Control Kit**cobas® EBV/BKV Control Kit**

Хранить при 2–8 °С

Для использования в системе cobas® 5800 (P/N 09040951190)

Для использования в системах cobas® 6800/8800 (P/N 08688214190 или P/N 09040951190)

Компоненты набора	Состав реагента	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения *
Низкотитражный положительный контроль EBV/BKV (EBV/BKV L(+))C)	< 0,001 % синтетическая (плазмидная) ДНК ВЭБ в оболочечном белке бактериофага Лямбда, нормальная плазма человека, негативная по ДНК ВЭБ при тестировании методом ПЦР 0,1 % консервант ProClin® 300 **	4 мл (8 × 0,5 мл)	  ВНИМАНИЕ H317: При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию. H412: Вредно для водной флоры и фауны с долгосрочными последствиями. P261: Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/паров/аэрозолей. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Использовать защитные перчатки. P333 + P313: При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться за медицинской помощью. P362 + P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед использованием. P501: Утилизировать содержимое/контейнер в специализированном центре. 55965-84-9 Реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).
Высокотитражный положительный контроль EBV/BKV (EBV/BKV H(+))C)	< 0,001 % синтетическая (плазмидная) ДНК ВЭБ в оболочечном белке бактериофага Лямбда, нормальная плазма человека, негативная по ДНК ВЭБ при тестировании методом ПЦР 0,1 % консервант ProClin® 300 **	4 мл (8 × 0,5 мл)	  ВНИМАНИЕ H317: При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию. H412: Вредно для водной флоры и фауны с долгосрочными последствиями. P261: Избегать вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/паров/аэрозолей. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Использовать защитные перчатки. P333 + P313: При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться за медицинской помощью. P362 + P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед использованием. P501: Утилизировать содержимое/контейнер в специализированном центре. 55965-84-9 Реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).

* Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

** Опасное для здоровья вещество или смесь.

Табл. 3 Набор буферной отрицательной контроли **cobas®** Buffer Negative Control Kit**cobas® Buffer Negative Control Kit**

Хранить при 2–8 °C

Для использования в системе **cobas®** 5800 (P/N 09051953190)

Для использования в системах **cobas®** 6800/8800 (P/N 07002238190 или P/N 09051953190)

Компоненты набора	Состав реагента	Количество в наборе
Буферный отрицательный контроль cobas® (BUF (-) C)	Трис буфер, < 0,1 % азид натрия, ЭДТА, 0,002 % поли гА РНК (синтетическая)	16 мл (16 × 1 мл)

Реагенты cobas® omni для пробоподготовки

Табл. 4 Реагенты cobas® omni для пробоподготовки

Реагенты	Состав реагента	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения *
Реагент cobas® omni MGP Reagent (MGP) Хранить при 2–8 °C (P/N 06997546190)	Магнитные стеклочастицы, трис буфер, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат, < 0,1 % азид натрия	480 тестов	Неприменимо
Дилуэнт для образцов cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Хранить при 2–8 °C (P/N 06997511190)	Трис буфер, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат, < 0,1 % азид натрия	4 × 875 мл	Неприменимо
Лизирующий реагент cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Хранить при 2–8 °C (P/N 06997538190)	43 % (м/м) гуанидин тиоцианат **, 5 % (м/о) полидоканол **, 2 % (м/о) дитиотреитол **, дигидрат цитрата натрия	4 × 875 мл	 ОПАСНО H302 + H332: Вредно при проглатывании или вдыхании. H314: Вызывает серьезные ожоги кожи и повреждения глаз. H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями. EUN032: При контакте с кислотой выделяет особо токсичный газ. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Использовать перчатки, спецодежду и средства для защиты глаз/лица/органов слуха. P303 + P361 + P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой. P304 + P340 + P310: ПРИ ВДЫХАНИИ: вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту. P305 + P351 + P338 + P310: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту. P391: Ликвидировать просыпания/проливы/утечки. 593-84-0 Гуанидин тиоцианат 9002-92-0 Полидоканол 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-димеркаптобутан-2,3-диол
Промывочный реагент cobas® omni Wash Reagent (WASH) Хранить при 15–30 °C (P/N 06997503190)	Дигидрат цитрата натрия, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат	4,2 л	Неприменимо

* Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

** Опасное для здоровья вещество или смесь.

Требования к условиям хранения реагентов

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

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

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

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

Требования к условиям использования реагентов для системы cobas® 5800

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

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

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

* Реагенты для однократного применения.

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

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

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

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

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

* Реагенты для однократного применения.

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

Дополнительные необходимые материалы для системы cobas® 5800

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

Материал	P/N
Планшет для обработки образцов cobas® omni 24	08413975001
Амплификационный планшет cobas® omni 24	08499853001
Планшет для жидких отходов cobas® omni 24	08413983001
Наконечники CORE TIPS с фильтром, 1 мл	04639642001
Наконечники CORE TIPS с фильтром, 300 мкл	07345607001
Контейнер для жидких отходов cobas® omni	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Пакет для твердых отходов или Пакет для твердых отходов с вставкой	07435967001 или 08030073001
Вторичные пробирки cobas® omni 13 × 75 (опционально)*	06438776001

* Обратитесь в ваше региональное представительство Roche за подробным списком доступных для заказа штативов для образцов.

Дополнительные необходимые материалы для систем cobas® 6800/8800

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

Материал	P/N
Планшет для обработки образцов cobas® omni	05534917001
Амплификационный планшет cobas® omni	05534941001
Наконечники cobas® omni	05534925001
Контейнер для жидких отходов cobas® omni	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Пакет для твердых отходов и контейнер для твердых отходов или Пакет для твердых отходов с вставкой и выдвижным контейнером для твердых отходов	07435967001 и 07094361001 или 08030073001 и 08387281001

Необходимое оборудование и программное обеспечение

Программное обеспечение системы **cobas® 5800** и аналитический пакет **cobas® EBV** для системы **cobas® 5800** должны быть установлены на прибор **cobas® 5800**. Программное обеспечение для управления данными Data Manager и ПК для системы **cobas® 5800** поставляется вместе с системой.

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

Табл. 10 Приборы

Оборудование	P/N
Система cobas® 5800	08707464001
Система cobas® 6800 (опция — подвижная)	06379672001
Система cobas® 6800 (фиксированная)	05524245001
Система cobas® 8800	05412722001
Модуль подачи образцов	06301037001

См. дополнительную информацию в поддержке пользователя и (или) руководстве пользователя системы **cobas® 5800** или систем **cobas® 6800/8800**.

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

Меры предосторожности и правила работы

Меры предосторожности

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

- Только для диагностики *in vitro*.
- Тест **cobas® EBV** не валидирован для использования в качестве скринингового теста на наличие ВЭБ в крови и ее продуктах.
- Все образцы нужно рассматривать как потенциально инфекционные и соблюдать при работе с ними правила биологической безопасности, приведенные в документах Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories и CLSI Document M29-A4^{15, 16}. Только персонал, обученный работе с инфекционными материалами, а также работе с тестом **cobas® EBV** и системами **cobas® 5800/6800/8800**, может выполнять данную процедуру.
- Все материалы человеческого происхождения должны рассматриваться как потенциально инфекционные, работать с ними нужно с соблюдением стандартных мер предосторожности. При разливе материалов немедленно проведите дезинфекцию свежеприготовленным 0,6%-м раствором гипохлорита натрия или калия в дистиллированной или деионизованной воде или следуйте стандартным инструкциям, принятым в вашей организации.
- Набор контролей **cobas® EBV/BKV Control Kit** содержит плазму, полученную из крови человека. Исходный материал тестировался методами ПЦР, при этом обнаруживались приемлемые признаки низких уровней ДНК ВЭБ. Ни один из известных методов не может обеспечить полную гарантию отсутствия инфекционных агентов в продуктах крови человека.
- **Не замораживайте цельную кровь и другие образцы в первичных пробирках.**
- Для оптимального выполнения теста используйте только входящие в состав системы или рекомендованные для нее производителем расходные материалы.
- Паспорта безопасности материалов (SDS) доступны по запросу в вашем региональном представительстве компании Roche.
- Внимательно следуйте рекомендациям и инструкциям для корректного проведения теста. Любое отклонение от инструкции может повлиять на результаты теста.
- Ложноположительные результаты могут быть получены при отсутствии адекватного контроля перекрестных контаминаций образцов на этапах пробоподготовки.
- Поскольку > 90 % взрослых являются хроническими носителями ВЭБ и могут выделять до 10⁸ копий/мл ВЭБ со слюной, а также учитывая высокую чувствительность анализа, важно применять достаточные меры контроля контаминации в лабораториях¹⁷.
- О любых серьезных инцидентах, имевших место при работе с данным тестом, сообщайте в местный уполномоченный орган и производителю.

Обращение с реагентами

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

Надлежащая лабораторная практика

- Не пипетируйте ртом.
- Не ешьте, не пейте и не курите в рабочих лабораторных помещениях.
- Работайте со всеми реагентами и образцами в средствах для защиты глаз, лабораторном халате и одноразовых перчатках. Для предотвращения контаминации меняйте перчатки после работы с образцами и наборами **cobas® EBV**, EBV/BKV Low Positive Control (EBV/BKV L(+)C), EBV/BKV High Positive Control (EBV/BKV H(+)C), **cobas®** Buffer Negative Control (BUF (-) C) и реагентами **cobas® omni**. Не допускайте контаминации перчаток при работе с образцами и контролями.
- Тщательно мойте руки после работы с образцами и компонентами набора и после снятия перчаток.
- Тщательно очищайте и дезинфицируйте все рабочие поверхности в лаборатории свежеприготовленным 0,6%-м раствором гипохлорита натрия или калия в дистиллированной или деионизованной воде, затем протирайте их 70%-м этанолом.
- При разлитии материала в приборе **cobas® 5800** или **cobas® 6800/8800** проведите очистку и дезинфекцию поверхности прибора(ов) в соответствии с инструкциями в поддержке пользователя и/или руководстве пользователя систем **cobas® 5800** или **cobas® 6800/8800**.

Сбор, транспортировка и хранение образцов

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

Храните все образцы при рекомендованных температурах.

Стабильность образцов снижается при повышенных температурах.

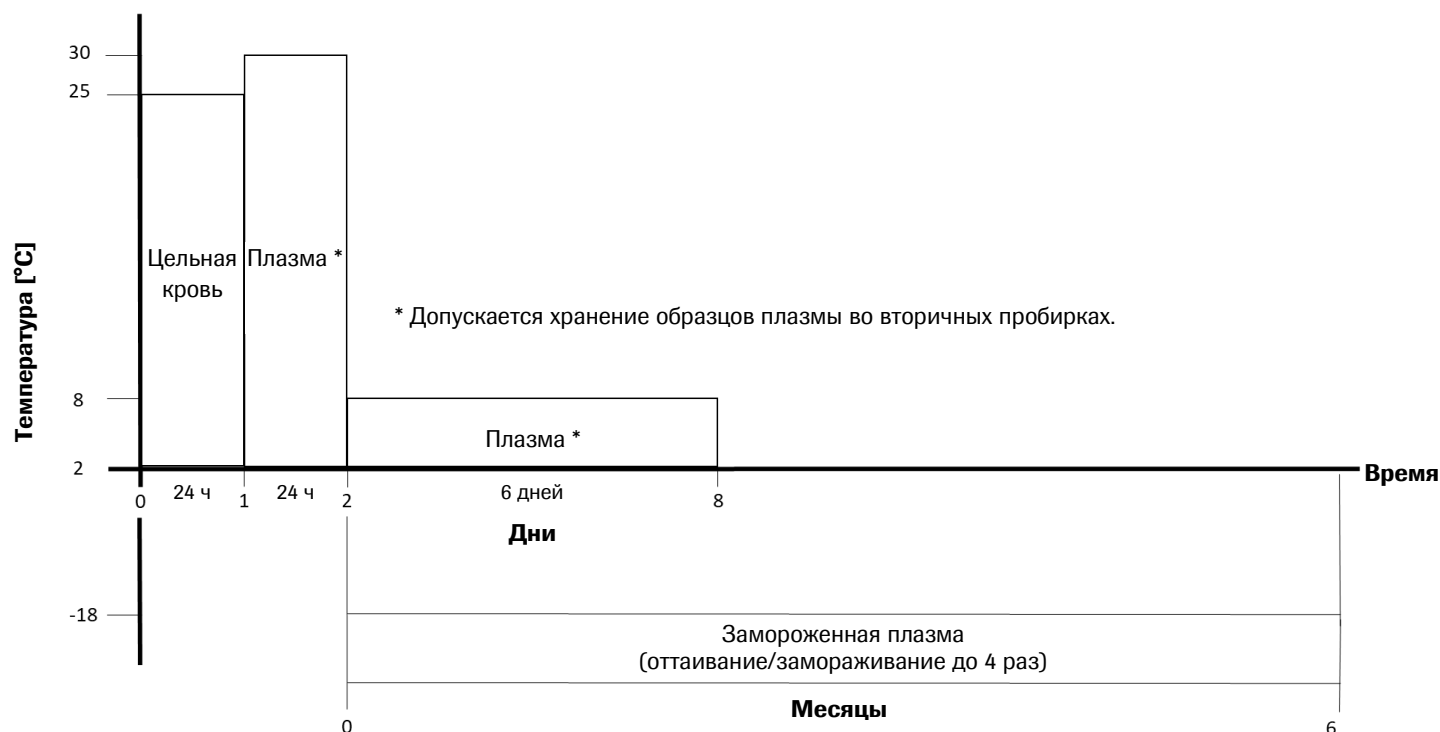
При работе с замороженными образцами во вторичных пробирках поместите образцы в условия комнатной температуры (15–30 °C) до полного оттаивания, затем быстро перемешайте (например, на вортексе в течение 3–5 секунд) и осадите в центрифуге весь объем образца на дно пробирки.

Если есть подозрение, что клетки в плазме ресуспендировались после центрифугирования, повторите центрифугирование перед обработкой на приборе.

Образцы

- Цельная кровь должна быть собрана в пробирки для отделения плазмы BD Vacutainer® PPT™ для молекулярной диагностики или в стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта. Следуйте инструкциям производителя пробирок. См. Рис. 1.
- Образцы цельной крови, собранные в пробирки для отделения плазмы BD Vacutainer® PPT™ для молекулярной диагностики или в стерильные пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта, могут храниться и (или) транспортироваться до 24 часов при температуре 2–25 °C до отделения плазмы. Центрифугирование необходимо проводить в соответствии с инструкциями производителя.
- После отделения плазмы образцы могут храниться до 24 часов при температуре 2–30 °C в первичных или вторичных пробирках, после чего следует соблюдать следующие условия:
 - Хранение в первичных или вторичных пробирках до 6 дней при температуре 2–8 °C.
 - Хранение во вторичных пробирках до 6 месяцев при температуре ≤ –18 °C.
- Образцы плазмы стабильны до четырех циклов оттаивания/замораживания при хранении при температуре ≤ –18 °C.

Рис. 1 Условия хранения образцов



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

Инструкция по работе с набором

Рекомендации по процедуре

- Не используйте реагенты набора **cobas® EBV**, набор контролей **cobas® EBV/BKV Control Kit**, набор буферных отрицательных контролей **cobas® Buffer Negative Control Kit** и реагенты **cobas® omni** после истечения их срока годности.
- Не используйте повторно расходные материалы. Они предназначены только для однократного применения.
- Инструкции по эксплуатации и обслуживанию приборов приведены в поддержке пользователя и (или) руководстве пользователя системы **cobas® 5800** или систем **cobas® 6800/8800**.

Постановка теста cobas® EBV в системе cobas® 5800

Тест cobas® EBV может быть проведен с минимальным объемом образца, равным 350 мкл, 200 мкл из которых обрабатываются. Процедура теста подробно описана в поддержке пользователя и (или) руководстве пользователя системы cobas® 5800. На Рис. 2 ниже приведена схема постановки теста.

Рис. 2 Процедура теста cobas® EBV в системе cobas® 5800

1	Войти в систему
2	Загрузка образцов в систему: • Загрузить штативы для образцов в систему • Система подготовится автоматически • Задать тесты
3	Пополнение реагентов и расходных материалов по запросу системы: • Загрузить тест-специфичную(ые) кассету(ы) реагентов • Загрузить мини-штативы контролей • Загрузить наконечники обработки • Загрузить наконечники элюата • Загрузить планшеты обработки • Загрузить планшеты для жидких отходов • Загрузить амплификационные планшеты • Загрузить кассету MGP • Пополнить дилуэнт для образцов • Пополнить лизирующий реагент • Пополнить промывочный реагент
4	Запустить постановку нажатием кнопки «Начать обработку» в пользовательском интерфейсе; все последующие постановки будут запускаться автоматически, если запуск не отложен вручную
5	Просмотр и экспорт результатов
6	Извлеките и закройте все пробирки с образцами, отвечающие требованиям к минимальному объему, если они необходимы для будущего использования Очистка прибора: • Выгрузить пустые мини-штативы контролей • Выгрузить пустую(ые) тест-специфичную(ые) кассету(ы) реагентов • Освободить секцию амплификационных планшето • Удалить жидкие отходы • Удалить твердые отходы

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

Тест cobas® EBV может быть проведен с минимальным объемом образца, равным 350 мкл, 200 мкл из которых обрабатываются. Процедура теста подробно описана в поддержке пользователя и (или) руководстве пользователя систем cobas® 6800/8800. На Рис. 3 ниже приведена схема постановки теста.

Рис. 3 Процедура теста cobas® EBV в системах cobas® 6800/8800

1	Войти в систему Нажать кнопку «Старт», чтобы подготовить систему Задать тесты
2	Пополнение реагентов и расходных материалов по запросу системы: • Загрузить тест-специфичную кассету реагентов • Загрузить кассеты с контролями • Загрузить наконечники для дозаторов • Загрузить планшеты обработки • Загрузить реагент MGP • Загрузить амплификационные планшеты • Пополнить дилуэнт для образцов • Пополнить лизирующий реагент • Пополнить промывочный реагент
3	Загрузка образцов в систему: • Загрузить штатив для образцов и штативы для засоренных наконечников в модуль подачи образцов • Подтвердить, что образцы были приняты в модуль переноса образцов
4	Начните постановку, нажав кнопку «Ручной старт» в пользовательском интерфейсе, в ином случае постановка начнется автоматически через 120 минут или если партия заполнена
5	Просмотр и экспорт результатов
6	Извлеките и закройте все пробирки с образцами, отвечающие требованиям к минимальному объему, если они необходимы для будущего использования Очистка прибора: • Выгрузить пустые кассеты для контролей • Освободить секцию амплификационных планшетов • Удалить жидкие отходы • Удалить твердые отходы

Результаты

Системы **cobas® 5800/6800/8800** автоматически определяют концентрацию ДНК ВЭБ в образцах и контролях. Концентрация ДНК ВЭБ выражается в Международных единицах на миллилитр (МЕ/мл).

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

- Один отрицательный контроль [(-) Ctrl] и два положительных контроля, низкотитражный положительный контроль [EBV/BKV L(+)C] и высокотитражный положительный контроль [EBV/BKV H(+)C], обрабатываются не реже, чем каждые 72 часа, и с каждым новым лотом набора. Положительные и (или) отрицательные контроли могут быть включены чаще на основе лабораторных правил и (или) местных нормативных требований.
- В программе системы **cobas® 5800** и (или) отчете проверьте наличие флагов и соответствующих им результатов для проверки валидности результатов.

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

ПРИМЕЧАНИЕ. Система **cobas® 5800** поставляется со стандартными настройками включения набора контролей (положительных и отрицательных) в каждую постановку, но может быть настроена на менее частое его включение с периодичностью до 72 часов в зависимости от лабораторных правил и (или) местных нормативных требований. Обратитесь к инженеру по обслуживанию Roche и (или) в службу технической поддержки Roche за дополнительной информацией.

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

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

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

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

- Один отрицательный контроль [(-) Ctrl] и два положительных контроля, низкотитражный положительный контроль [EBV/BKV L(+)]C и высокотитражный положительный контроль [EBV/BKV H(+)]C, присутствуют в каждой постановке.
- В программе cobas® 6800/8800 или отчете проверьте наличие флагов и соответствующих им результатов для проверки валидности постановки.
- Постановка признается валидной, если нет флагов ни для одного из трех контролей, включающих один отрицательный и два положительных: EBV/BKV L(+)]C, EBV/BKV H(+)]C. Результат отрицательного контроля отображается как (-) Ctrl, а результаты низкотитражного и высокотитражного положительных контролей отображаются как EBV/BKV L(+)]C и EBV/BKV H(+)]C.

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

Флаги контролей в системах cobas® 6800/8800

Табл. 11 Флаги отрицательного и положительных контролей

Отрицательный контроль	Флаг	Результат	Интерпретация
(-) Ctrl	Q02 (Невалидные результаты постановки для партии контролей)	Невалидно	Невалидный результат, или рассчитанный титр для отрицательного контроля не является негативным.
Положительный контроль	Флаг	Результат	Интерпретация
EBV/BKV L(+)]C	Q02 (Невалидные результаты постановки для партии контролей)	Невалидно	Невалидный результат, или рассчитанный титр для низкотитражного положительного контроля находится вне заданного диапазона.
EBV/BKV H(+)]C	Q02 (Невалидные результаты постановки для партии контролей)	Невалидно	Невалидный результат, или рассчитанный титр для высокотитражного положительного контроля находится вне заданного диапазона.

Если результаты постановки для партии контролей невалидны, повторите тестирование всех образцов из этой партии.

Интерпретация результатов

При получении валидных результатов постановки для партии проверьте наличие флагов для каждого отдельного образца в программах системы cobas® 5800 и систем cobas® 6800/8800 и (или) отчетах. Интерпретация результатов должна быть следующей:

- Валидная постановка может содержать как валидные, так и невалидные результаты для образцов.

Табл. 12 Интерпретация результатов по отдельным мишеням

Результаты	Интерпретация
Target Not Detected	ДНК ВЭБ не обнаружена. Интерпретируйте результат как «ВЭБ не обнаружен».
< Titer Min ^a	Рассчитанная концентрация ниже нижнего предела количественного определения (LLoQ) теста. Интерпретируйте результат как «ВЭБ обнаружен, менее (Titer Min)». Минимальная концентрация = 35,0 МЕ/мл.
Titer	Рассчитанная концентрация находится в пределах линейного диапазона теста: выше или равна минимальной концентрации и меньше или равна максимальной концентрации. Интерпретируйте результат как «(Titer) ВЭБ обнаружено».
> Titer Max ^b	Рассчитанная концентрация выше верхнего предела количественного определения (ULoQ) теста. Интерпретируйте результат как «ВЭБ обнаружен, более (Titer Max)». Максимальная концентрация = 1,0E+08 МЕ/мл.

^a Результаты образца < Titer Min (мишень обнаружена на уровне < LLoQ [нижний предел количественного определения]) должны интерпретироваться с учетом других клинических данных и не должны быть единственным основанием для принятия решений о лечении.

^b Результат образца > Titer Max указывает на выявление образца, положительного по ВЭБ в концентрации, превышающей верхний предел количественного определения теста (ULoQ). Если нужно получить количественный результат, исходный образец следует развести негативной по ВЭБ плазмой человека с ЭДТА и повторить тестирование. Затем умножьте полученный результат на коэффициент разведения.

Интерпретация результатов в системе cobas® 5800

Результаты образцов отображаются в программе cobas® 5800 в приложении «Результаты».

При получении валидных результатов постановки для партии контролей проверьте наличие флагов для каждого отдельного образца в программе системы cobas® 5800 и (или) отчете. Интерпретация результатов должна быть следующей:

- Образцы, связанные с валидной постановкой для партии контролей, отображаются как «Валидно» в колонке «Результат контроля», если все результаты для мишеней контроля признаны валидными. Образцы, связанные с невалидной постановкой для партии контролей, отображаются как «Невалидно» в колонке «Результат контроля», если все результаты для мишеней контроля признаны невалидными.
- Если связанные с результатом образца контроля невалидны, к результату будет добавлен соответствующий флаг из перечисленных ниже.
 - Q05D: валидность результата не подтверждена из-за наличия невалидного положительного контроля.
 - Q06D: валидность результата не подтверждена из-за наличия невалидного отрицательного контроля.
- Значения в колонке «Результаты» для результата отдельной мишени образца следует интерпретировать как показано в Табл. 11 выше.

Если одна или несколько мишеней образца отмечены как «Невалидно», в программе cobas® 5800 отобразится флаг в колонке «Флаги». Дополнительные сведения о том, почему мишени образца отображаются невалидными, включая информацию о флаге, доступны в подробном представлении.

Интерпретация результатов в системах cobas® 6800/8800

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

- Образцы получают отметку «Да» в колонке «Валидно», если все требуемые результаты для мишеней признаны валидными. Для образцов с отметкой «Нет» в колонке «Валидно» могут потребоваться дополнительные сведения и действия.
- Значения для результата отдельной мишени образца должны быть интерпретированы как показано в Табл. 12 выше.

Ограничения процедуры

- Тест cobas® EBV валидирован только для работы с набором контролей cobas® EBV/BKV Control Kit, набором буферной отрицательной контроли cobas® Buffer Negative Control Kit, реагентом cobas® omni MGP Reagent, лизирующим реагентом cobas® omni Lysis Reagent, дилуэнт для образцов cobas® omni Specimen Diluent и промывочным реагентом cobas® omni Wash Reagent в системах cobas® 5800/6800/8800.
- Надежность результатов теста зависит от адекватности сбора, хранения и обработки образцов.
- Данный тест валидирован только для тестирования образцов плазмы человека с ЭДТА. Тестирование в cobas® EBV образцов другого типа может привести к неверным результатам теста. Значения вирусной нагрузки в образцах плазмы не могут сравниваться напрямую со значениями, полученными для образцов другого типа.

- Количественное определение ДНК ВЭБ зависит от методов сбора образцов, факторов пациента (например, наличие симптомов) и /или стадии инфекции.
- Как и при проведении любого молекулярного теста, мутации в участках вирусного генома, являющихся мишенями теста **cobas® EBV**, могут препятствовать связыванию праймеров или зондов и в результате приводить к заниженной оценке вирусной концентрации или неспособности обнаружить вирус.
- Вследствие естественных различий между технологиями пользователю рекомендуется, прежде чем заменить одну технологию на другую, провести корреляционные испытания для двух методов, чтобы оценить возможные различия между технологиями. Пользователи должны следовать политике и процедурам, принятым в их учреждении.
- Тест **cobas® EBV** не предназначен для применения в качестве скринингового теста на наличие ВЭБ в крови или ее продуктах.

Доклинические испытания теста

Основные рабочие характеристики, определяемые в системах **cobas® 6800/8800**

Предел обнаружения (LoD)

Международный стандарт ВОЗ

Предел обнаружения теста **cobas® EBV** определяли методом анализа серии разведений 1-го Международного стандарта ВОЗ для вируса Эпштейна — Барр для методов амплификации нуклеиновых кислот (1-й Международный стандарт ВОЗ для ВЭБ), полученного от NIBSC (NIBSC 09/260), в ВЭБ-негативной плазме человека с ЭДТА. Панели из шести концентраций, а также пустую пробу тестировали с использованием трех лотов наборов реагентов **cobas® EBV** в нескольких постановках в течение нескольких дней несколькими операторами на нескольких приборах.

Результаты для образцов плазмы с ЭДТА приведены в Табл. 13 – Табл. 15. Полученные результаты продемонстрировали, что при использовании наименее чувствительного лота при тестировании плазмы с ЭДТА концентрация, для которой ожидается частота выявления 95 % по PROBIT, составила 18,8 МЕ/мл; при этом 95%-й доверительный интервал составил 14,5–27,5 МЕ/мл. Наиболее низкая концентрация в образцах плазмы с ЭДТА при частоте выявления ≥ 95 % составила 20,0 МЕ/мл.

Табл. 13 Предел обнаружения для образцов плазмы с ЭДТА, лот 1

Номинальная концентрация (ДНК ВЭБ, МЕ/мл)	Число валидных повторов	Число позитивных повторов	Частота выявления, %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	62	98,4
20,0	63	61	96,8
10,0	63	53	84,1
5,0	63	37	58,7
2,5	63	26	41,3
0,0	63	0	0,0
Предел обнаружения по PROBIT при частоте выявления 95 %	18,8 МЕ/мл Доверительный интервал 95 %: 14,5–27,5 МЕ/мл		

Табл. 14 Предел обнаружения для образцов плазмы с ЭДТА, лот 2

Номинальная концентрация (ДНК ВЭБ, МЕ/мл)	Число валидных повторов	Число позитивных повторов	Частота выявления, %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	58	92,1
5,0	63	35	55,6
2,5	63	20	31,8
0,0	63	0	0,0
Предел обнаружения по PROBIT при частоте выявления 95 %	12,4 МЕ/мл Доверительный интервал 95 %: 10,0–17,0 МЕ/мл		

Табл. 15 Предел обнаружения для образцов плазмы с ЭДТА, лот 3

Номинальная концентрация (ДНК ВЭБ, МЕ/мл)	Число валидных повторов	Число позитивных повторов	Частота выявления, %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	63	100,0
20,0	63	62	98,4
10,0	63	48	76,2
5,0	63	38	60,3
2,5	63	26	41,3
0,0	63	0	0,0
Предел обнаружения по PROBIT при частоте выявления 95 %	18,6 МЕ/мл Доверительный интервал 95 %: 14,4–27,1 МЕ/мл		

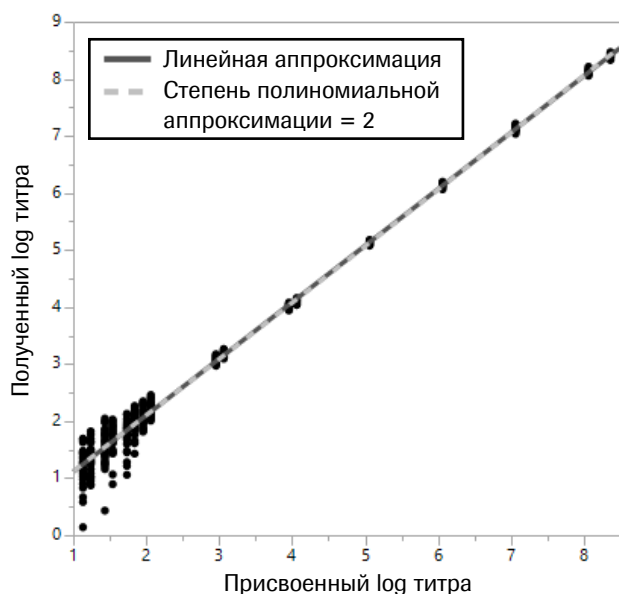
Линейный диапазон

Линейность теста **cobas® EBV** определяли с использованием серии разведений, состоящей из 17 образцов панели с ДНК ВЭБ генотипа 1, перекрывающих линейный диапазон теста. Одиннадцать образцов панели, перекрывающих весь линейный диапазон, готовили из высокотитражной стоковой концентрации ДНК Лямбда. Клинический образец использовали для приготовления 6 образцов панели, покрывающих средний и нижний уровни линейного диапазона.

Тестирование проводили в 36 повторях для каждой концентрации с тремя лотами набора реагентов **cobas® EBV**, результаты представлены на Рис. 4.

Линейный диапазон теста **cobas® EBV** при тестировании плазмы человека с ЭДТА составил от $1,40 \times 10^1$ МЕ/мл до $2,30 \times 10^8$ МЕ/мл при абсолютном отклонении от оптимальной нелинейной регрессии менее или равном $\pm 0,1 \log_{10}$ (см. Рис. 4). В пределах линейного диапазона точность теста составляет $\pm 0,2 \log_{10}$.

Рис. 4 Линейный диапазон определения в плазме с ЭДТА



Внутрилабораторная воспроизводимость

Воспроизводимость теста **cobas® EBV** определяли методом анализа серии разведений высокотитражной ДНК ВЭБ (генотип 1) в ВЭБ-негативной плазме с ЭДТА. Всего тестировали шесть разведений в 72 повторях для каждого разведения с тремя лотами набора реагентов **cobas® EBV** на трех приборах с участием трех операторов на протяжении 12 дней. Каждый образец проходил полную постановку теста **cobas® EBV** в полностью автоматизированных системах **cobas® 6800/8800**. Таким образом, данные по воспроизводимости отражают все аспекты тестирования. Полученные результаты приведены в Табл. 16.

Тест **cobas® EBV** продемонстрировал высокую воспроизводимость для трех лотов набора реагентов, тестируемых в диапазоне концентраций от $1,08 \times 10^2$ МЕ/мл до $5,40 \times 10^7$ МЕ/мл.

Табл. 16 Внутрिलाбораторная воспроизводимость теста cobas® EBV

Номинальная концентрация [МЕ/мл]	Определенная концентрация [МЕ/мл]	Плазма с ЭДТА			
		Лот 1	Лот 2	Лот 3	Все лоты
		CO	CO	CO	Общее CO
5,00E+07	5,40E+07	0,03	0,04	0,04	0,04
1,00E+06	1,08E+06	0,02	0,03	0,02	0,02
1,00E+05	1,08E+05	0,02	0,02	0,03	0,02
1,00E+04	1,08E+04	0,04	0,02	0,03	0,03
1,00E+03	1,08E+03	0,05	0,05	0,05	0,05
1,00E+02	1,08E+02	0,17	0,18	0,15	0,17

Верификация генотипов

Способность теста cobas® EBV выявлять генотип 2 ВЭБ определяли указанными ниже методами:

- Верификация предела обнаружения
- Верификация линейного диапазона

Верификация предела обнаружения для генотипа 2

ДНК ВЭБ генотипа 2 разводили до трех разных концентраций в ВЭБ-негативной плазме с ЭДТА. Частоту выявления определяли при тестировании в 63 повторях для каждой концентрации. Тестирование проводили с использованием трех лотов набора реагентов теста cobas® EBV в нескольких постановках в течение нескольких дней несколькими операторами на нескольких приборах. Результаты подтверждают, что тест cobas® EBV позволяет обнаружить ДНК ВЭБ генотипа 2 в концентрации, равной 18,8 МЕ/мл, с частотой выявления ≥ 95 %.

Верификация линейного диапазона для генотипа 2

Для верификации линейности теста cobas® EBV для разных генотипов вируса использовали серии разведений, состоящие из восьми образцов панели, перекрывающих линейный диапазон теста. Тестирование проводили с тремя лотами набора реагентов cobas® EBV; каждую концентрацию тестировали в образцах плазмы с ЭДТА в 12 повторях.

Линейный диапазон теста cobas® EBV был подтвержден для генотипа 2.

Специфичность

Специфичность теста cobas® EBV определяли методом тестирования ВЭБ-негативных образцов плазмы с ЭДТА от индивидуальных доноров. Всего тестировали 101 индивидуальный образец плазмы с ЭДТА с использованием трех лотов набора реагентов cobas® EBV. Все образцы оказались отрицательными по ДНК ВЭБ. При тестировании данной панели образцов специфичность теста cobas® EBV составила 100 % (нижний предел одностороннего 95%-го доверительного интервала: 97,08 %).

Аналитическая специфичность

Аналитическую специфичность теста cobas® EBV определяли путем разведения панели образцов микроорганизмов до концентрации 1,00E+06 единиц/мл (клеток/мл, КОЕ/мл, ИЕ/мл, ЦОЕ/мл) для бактерий и грибов и от 3,00E+05 до 1,00E+06 единиц/мл (МЕ/мл, копий/мл, клеток/мл, ИТД₅₀/мл) для вирусов с плазмой с ЭДТА, положительной по ДНК ВЭБ, и плазмой с ЭДТА, отрицательной по ДНК ВЭБ. Тестировавшиеся микроорганизмы приведены в Табл. 17. Каждый образец панели тестировали в тесте cobas® EBV. Ни один из тестировавшихся патогенов, не относящихся к ВЭБ, не оказывал интерферирующего влияния на результаты теста.

Табл. 17 Микроорганизмы, тестировавшиеся для определения перекрестной реактивности

Вирусы	Бактерии	Дрожжи
Аденовирус типа 5	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Полиомавирус ВК	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Цитомегаловирус	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Вирус гепатита В	<i>Clostridium perfringens</i>	-
Вирус гепатита С	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
Вирус простого герпеса типа 1	<i>Escherichia coli</i>	-
Вирус простого герпеса типа 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
Вирус герпеса человека типа 6	<i>Listeria monocytogenes</i>	-
Вирус герпеса человека типа 7	<i>Mycobacterium avium</i>	-
Вирус герпеса человека типа 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
Вирус иммунодефицита человека 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Вирус иммунодефицита человека 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Папилломавирус человека	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
Вирус JC (Джона Каннингема)	<i>Salmonella enterica</i>	-
Парвовирус В19	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Обезьяний вирус sv40		
Вирус варицелла зостер	-	-

Аналитическая специфичность: интерферирующие вещества

Образцы с повышенными уровнями триглицеридов (33,0 г/л), прямого билирубина (0,2 г/л), непрямого билирубина (0,2 г/л), альбумина (60,0 г/л), гемоглобина (2,0 г/л) и ДНК человека (2 мг/л) тестировали в присутствии и в отсутствие ДНК ВЭБ. Было показано, что протестированные эндогенные вещества не оказывали интерферирующего влияния на результаты теста cobas® EBV.

Кроме того, лекарственные препараты, приведенные в Табл. 18, тестировали в концентрациях, превышающих в три раза C_{max} , в присутствии и в отсутствие ДНК ВЭБ.

Все потенциально интерферирующие препараты не оказывали интерферирующего влияния на результаты теста.

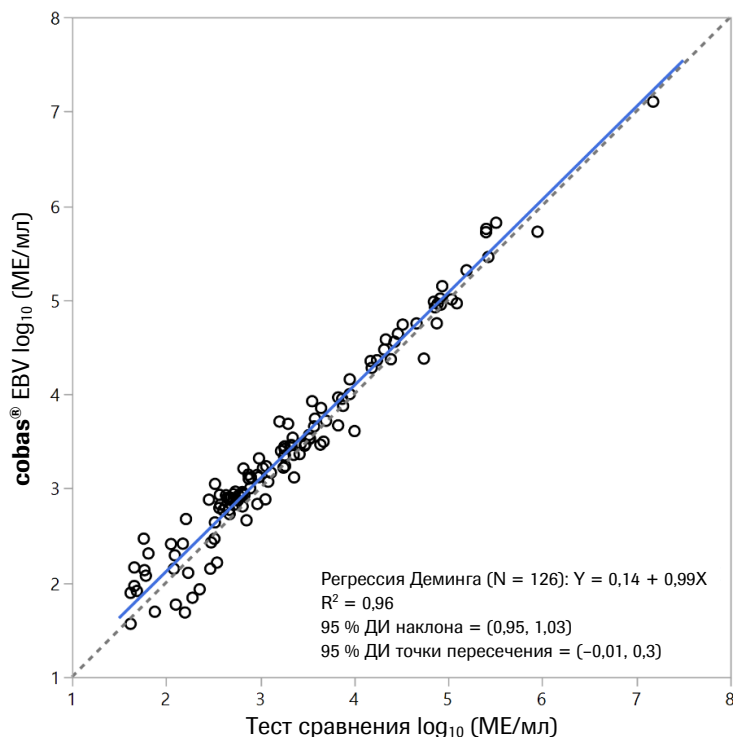
Табл. 18 Лекарственные препараты, тестируемые для выявления интерферирующего влияния на количественное определение ДНК ВЭБ в тесте **cobas® EBV**

Класс лекарственного препарата	Международное непатентованное название препарата	
Антимикробный препарат	Цефотетан	Сульфометоксазол
	Калия клавуланат	Двунариевый тикарциллин
	Флуконазол	Триметоприм
	Пиперациллин	Ванкомицин
	Натрия тазобактам	Микафунгин
Препараты для лечения герпетических инфекций	Ганцикловир	Цидофовир
	Валганцикловир	Фоскарнет
	Ацикловир	Летермовир
Иммунодепрессант	Азатиоприн	Преднизон
	Циклоспорин	Сиролимус
	Эверолимус	Такролимус
	Мофетила микофенолат	Микофеноловая кислота

Корреляция методов

Сравнительный анализ характеристик теста **cobas® EBV** и теста сравнения проводили методом анализа образцов плазмы с ЭДТА от ВЭБ-инфицированных пациентов. Образцы плазмы с ЭДТА, значения уровней ДНК вируса в которых находились в пределах диапазона количественного определения обоих тестов, тестировали в одном повторе. Для полученных результатов был проведен регрессионный анализ методом Деминга.

Результаты анализа методом регрессии Деминга приведены на Рис. 5.

Рис. 5 Регрессионный анализ результатов теста cobas® EBV и теста сравнения

Системные ошибки

Частоту системной ошибки для теста cobas® EBV определяли при тестировании в 100 повторах образцов плазмы с ЭДТА, в которую вносили положительный по ВЭБ клинический образец. Полученные образцы тестировали в концентрации $3 \times \text{LoD}$.

Результаты исследования показали, что все повторы дали валидный результат, положительный по ВЭБ, при этом частота системной ошибки составила 0 % (верхний предел одностороннего 95%-го доверительного интервала: 2,95 %).

Перекрестная контаминация

Частоту перекрестной контаминации в тесте cobas® EBV определяли при тестировании ВЭБ-негативного матрикса в 240 повторах и высокотитражного образца ВЭБ с приблизительным титром $2,00\text{E}+07$ МЕ/мл в 225 повторах. Всего было проведено пять постановок, в которых положительные и отрицательные образцы были расставлены в шахматном порядке.

Все 240 повторов отрицательных образцов дали отрицательный результат, таким образом, частота перекрестной контаминации составила 0 % (верхний предел одностороннего 95%-го доверительного интервала: 1,24 %).

Клинические испытания теста в системах cobas® 6800/8800

Воспроизводимость теста cobas® EBV

Воспроизводимость теста cobas® EBV была оценена по множеству факторов (лот набора реагентов, лаборатория, постанова и дни тестирования), которые могли повлиять на полученные результаты рутинного клинического тестирования. Оценка проводилась в 3 испытательных лабораториях с использованием 3 лотов набора реагентов панели из положительных и отрицательных образцов, в результате чего общее количество тестов составляло 270 (не включая контроли). Панели были приготовлены с использованием плазмы с ЭДТА, не содержащей IgG к VCA ВЭБ, протестированы на ВЭБ методом NAT для плазмы в соответствии с протоколом, после чего в них внесли международный стандарт ВОЗ для ВЭБ, супернатант клеточной культуры ВЭБ или фага лямбда с ДНК ВЭБ. Два оператора в каждой лаборатории тестировали каждый лот набора реагентов на протяжении 5 дней. Ежедневно каждый оператор выполнял две постановки (1 тест = 1 постанова; 1 постанова = 1 панель + 3 контроля) с 3 повторами для каждого образца панели при каждой постановке. Результаты оценки приведены в Табл. 19.

Табл. 19 Процентные доли общей дисперсии (%ОВ), стандартное отклонение (СО) общей воспроизводимости и логнормальный КВ (%) концентрации ДНК ВЭБ ($\log_{10}$ МЕ/мл) положительного образца панели

Ожидаемая концентрация ДНК ВЭБ ($\log_{10}$ МЕ/мл)	Наблюдаемая сред. ^a концентрация ДНК ВЭБ ($\log_{10}$ МЕ/мл)	Количество тестов ^b	Лот %ОВ ^b (КВ, %) ^c	Лаборатория %ОВ ^b (КВ, %) ^c	День/оператор %ОВ ^b (КВ, %) ^c	Постановка %ОВ ^b (КВ, %) ^c	Внутри постановки %ОВ ^b (КВ, %) ^c	Общая воспроизводимость СО ^a	Общая воспроизводимость КВ (%) ^c
2,02	2,09	270	11 % (11,97)	2 % (5,30)	0 % (0,00)	3 % (6,34)	84 % (34,25)	0,158	37,56
3,70	3,68	270	43 % (10,07)	15 % (5,92)	0 % (0,00)	16 % (6,23)	26 % (7,81)	0,067	15,43
4,70	4,68	270	39 % (8,54)	10 % (4,24)	0 % (0,00)	24 % (6,63)	28 % (7,18)	0,059	13,70
5,70	5,50	268	7 % (11,39)	58 % (34,36)	0 % (0,00)	21 % (20,18)	15 % (17,08)	0,191	46,16
7,70	7,76	270	27 % (8,63)	15 % (6,52)	0 % (0,88)	13 % (6,01)	45 % (11,26)	0,073	16,83

^a Рассчитано с использованием процедуры SAS MIXED.

^b Количество валидных тестов с детектируемым уровнем ДНК.

^c %ОВ = процентный вклад в общую дисперсию.

^c КВ % = логнормальный процентный коэффициент вариации = кор. кв. $(10^{[CO^2 \times \ln(10)]} - 1) \times 100$.

^a С учетом общей вариации, полученной в ходе процедуры SAS MIXED.

Примечание. В таблице представлены только результаты с детектируемым уровнем ДНК. СО — стандартное отклонение.

КВ — коэффициент вариации; ВЭБ — вирус Эпштейна — Барр.

Тест cobas® EBV показал приемлемую воспроизводимость в клинических условиях при соответствующей сопоставимой концентрации. Кроме того, система обнаружила 100 % образцов с концентрацией $3 \times LLoQ$. Обе системы, cobas® 6800 и cobas® 8800, имеют модульную конструкцию и продемонстрировали эквивалентность при использовании теста cobas® EBV. Все оцениваемые значения 95%-го доверительного интервала (ДИ) различий между 2 измерениями образцов от одного и того же субъекта находились в диапазоне $\pm 0,53 \log_{10}$ МЕ/мл, и это указывает на то, что с помощью теста можно оценить изменения уровней ДНК ВЭБ, которые считаются клинически значимыми.

Из 270 валидных тестов для отрицательных образцов панели, выполненных в системах cobas® 6800/8800, для 14 образцов (5,19 %) были обнаружены положительные результаты при < LLoQ. Результаты не были связаны с конкретным прибором/лабораторией или лотом набора реагентов. Полутнездовая ПЦР и секвенирование ДНК подтвердили наличие ДНК ВЭБ в этих образцах.

Испытание теста cobas® EBV

Клиническое испытание теста cobas® EBV было дополнительно проведено в трех лабораториях путем измерения уровней ДНК ВЭБ в клинических образцах (как неразведенных, так и разведенных) инфицированных и не инфицированных ВЭБ пациентов и в искусственных образцах плазмы с ЭДТА, в которые вносили культивированный вирус ВЭБ, в сравнении с хорошо зарекомендовавшим себя лабораторным тестом на нуклеиновые кислоты (LDT) (тест сравнения EBV LDT). Из всех образцов, протестированных с использованием cobas® EBV и теста сравнения EBV, в общей сложности 464 образца (439 неразведенных или разведенных клинических образцов от 72 субъектов после трансплантации и 25 искусственных образцов) были признаны валидными в ходе обоих тестов и подходящими для клинического анализа согласованности.

Табл. 20 Анализ согласованности теста cobas® EBV и теста сравнения LDT по результатам определения уровня ДНК ВЭБ для всех образцов

cobas® EBV (log ₁₀ МЕ/мл)	Тест сравнения EBV LDT (log ₁₀ МЕ/мл) Target Not Detected	Тест сравнения EBV LDT (log ₁₀ МЕ/мл) < LLoQ (< 2)	Тест сравнения EBV LDT (log ₁₀ МЕ/мл) От 2 до < 2,6	Тест сравнения EBV LDT (log ₁₀ МЕ/мл) От 2,6 до < 3,2	Тест сравнения EBV LDT (log ₁₀ МЕ/мл) От 3,2 до 3,8	Тест сравнения EBV LDT (log ₁₀ МЕ/мл) > 3,8	Всего
Target Not Detected	95	17	17	0	0	0	129
< LLoQ (< 2)	39	46	75	11	0	0	171
От 2 до < 2,6	1	2	16	37	6	0	62
От 2,6 до < 3,2	1	0	5	15	30	1	52
От 3,2 до 3,8	0	0	0	0	9	11	20
> 3,8	0	0	0	0	1	29	30
Всего	136	65	113	63	46	41	464
Согласованность в колонке (%)	(134/136) 98,5 %	(65/65) 100 %	(96/113) 85,0 %	(52/63) 82,5 %	(40/46) 87,0 %	(40/41) 97,6 %	-
(95 % ДИ) ^a	(94,8 %, 99,6 %)	(94,4 %, 100 %)	(77,2 %, 90,4 %)	(71,4 %, 90,0 %)	(74,3 %, 93,9 %)	(87,4 %, 99,6 %)	-

Примечание. LLoQ — нижний предел количественного определения теста сравнения EBV LDT (100 МЕ/мл).

Стандартное отклонение для теста сравнения EBV LDT оценивается как 0,3 log₁₀ МЕ/мл (исследование аналитической воспроизводимости теста EBV LDT).

В эту таблицу были включены парные образцы, подходящие для клинического анализа согласованности.

^a Предполагаемая независимость между всеми образцами.

ДИ = доверительный интервал.

В ходе секвенирования ДНК на репрезентативных образцах субъектов, результаты которых последовательно покрывались уровнем ДНК более чем 1 log₁₀ МЕ/мл, не было выявлено несовпадений последовательностей для каких-либо праймеров или зондов-мишеней теста cobas® EBV.

Противоречивые результаты определялись как те, которые отстоят от диагонали более чем на один квадрат (обозначены затенением). Для согласованности в колонке «Target Not Detected» (Мишень не выявлена) для теста LDT ячейки «Target Not Detected» (Мишень не выявлена) и «< LLoQ (< 2)» для теста cobas® EBV были объединены. Обоснование добавления смежных ячеек < LLoQ и TND для колонки TND заключается в том, что разница между TND и < LLoQ не имеет клинического значения и что с точки зрения аналитики они находятся в нижней части диапазона измерения, на который может повлиять случайная ошибка.

Из 43 образцов, отрицательных по результатам теста сравнения EBV LDT, которые были собраны для оценки процента согласованности отрицательных результатов (ПСО) с тестом cobas® EBV, 41 образец был отрицательным по результатам теста cobas® EBV, таким образом, значение ПСО составило 95,4 % при точном 95 % ДИ от 84,2 % до 99,4 %. Два образца, отрицательных по результатам теста сравнения EBV LDT, оказались положительными (< LLoQ) по результатам теста cobas® EBV и сероположительными по IgG к VCA ВЭБ и IgG к EBNA-1 в дополнительном серологическом тестировании.

Согласованность между тестом cobas® EBV и тестом сравнения EBV LDT также была оценена с использованием различных клинических пороговых значений.

Табл. 21 Обобщенные результаты оценки согласованности теста cobas® EBV и теста сравнения EBV LDT с использованием различных пороговых значений для всех образцов

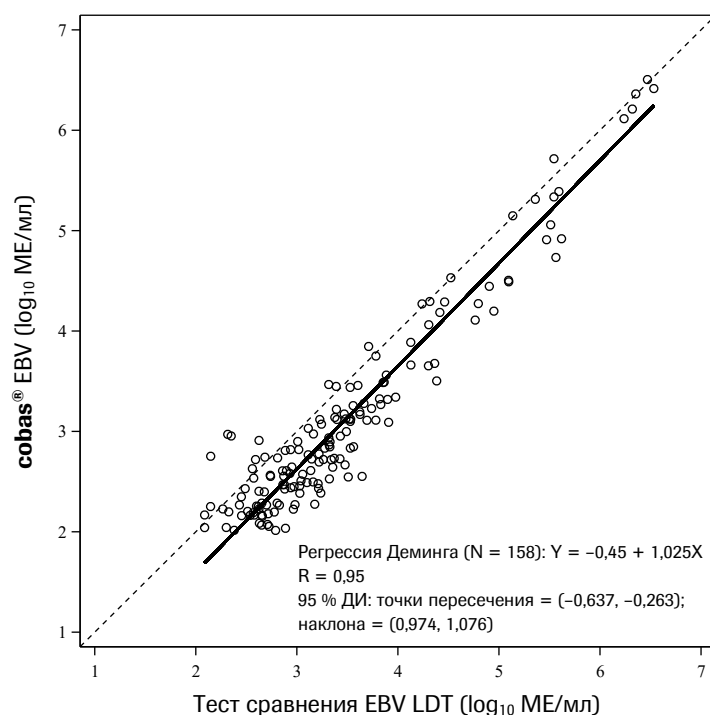
	Процент согласованности < порогового значения 95 % ДИ ⁶ (n/N)	Процент согласованности ≥ порогового значения 95 % ДИ ⁶ (n/N)
Target Not Detected	98,5 % (134/136) (94,8 %, 99,6 %)	89,6 % (294/328) (85,9 %, 92,5 %)
LLoQ ^a (2,0 log ₁₀ МЕ/мл)	98,0 % (197/201) (95,0 %, 99,2 %)	60,8 % (160/263) (54,8 %, 66,5 %)
3,0 log ₁₀ МЕ/мл	100,0 % (363/363) (99,0 %, 100,0 %)	64,4 % (65/101) (54,6 %, 73,0 %)
4,0 log ₁₀ МЕ/мл	100,0 % (431/431) (99,1 %, 100,0 %)	84,8 % (28/33) (69,1 %, 93,3 %)

^a LLoQ — нижний предел количественного определения теста сравнения EBV LDT (100 МЕ/мл).

⁶ ДИ — доверительный интервал.

Из всех образцов, протестированных с использованием cobas® EBV, которые были признаны положительными по ВЭБ при использовании теста сравнения EBV, было обнаружено 158 образцов (139 неразведенных или разведенных клинических образцов от 28 субъектов после трансплантации и 19 искусственных образцов), подходящих для корреляционного анализа в трех лабораториях.

Рис. 6 Корреляция между тестом **cobas® EBV** и тестом сравнения EBV LDT для всех образцов: график линейной регрессии Деминга для уровней ДНК ($\log_{10}$ МЕ/мл)



Дополнительный анализ графика расхождений для уровней ДНК показал систематическое различие между обоими тестами, которое является постоянным в пределах перекрывающегося линейного диапазона. 95 % ДИ точки пересечения рассчитанной линии на графиках расхождений составил от $-0,456$ до $0,104$, что находится в пределах $\pm 0,6 \log_{10}$ МЕ/мл (± 2 -кратное стандартное отклонение аналитической воспроизводимости теста сравнения EBV LDT).

Кроме того, среднее расхождение оценивалось как $-0,364 \log_{10}$ МЕ/мл, а систематическая разница между обоими тестами составляла $-0,352 \log_{10}$ МЕ/мл и $-0,376 \log_{10}$ МЕ/мл для образцов с уровнями ДНК 3 и 4 $\log_{10}$ МЕ/мл соответственно.

Эквивалентность/сравнение систем

Эквивалентность систем **cobas® 5800**, **cobas® 6800** и **cobas® 8800** была подтверждена исследованиями рабочих характеристик. Результаты, приведенные в инструкциях по применению, подтверждают одинаковые рабочие характеристики для всех систем.

Дополнительная информация

Основные характеристики теста

Тип образцов	Плазма с ЭДТА
Минимальный необходимый объем образца	350 мкл*
Обрабатываемый объем образца	200 мкл
Аналитическая чувствительность	18,8 МЕ/мл
Линейный диапазон	35,0 МЕ/мл – 1E+08 МЕ/мл
Специфичность	100 %
Выявляемые генотипы	Генотипы 1 и 2 ВЭБ

* Для вторичных пробирок cobas® omni определен мертвый объем 150 мкл. У других пробирок, используемых для тестирования, может быть иной мертвый объем, и требуемый минимальный объем может быть больше или меньше. Обратитесь к местному представителю сервисной службы Roche за дополнительной информацией.

Условные обозначения

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

Табл. 22 Символы, применяемые для маркировки продукции для ПЦР-диагностики компании Roche

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

Техническая поддержка

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

Производитель и импортёр

Табл. 23 Производитель и импортёр



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

Сделано в США



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Товарные знаки и патенты

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

Авторское право

© Roche Molecular Systems, Inc., 2023.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Литература

1. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplant recipients: a global perspective. Preface. *Bone Marrow Transplant*. 2009;44:453-5. PMID: 19861977.
2. Green M. Introduction: Infections in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:3-8. PMID: 23464993.
3. Cohen JL. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med*. 2000;343:481-92. PMID: 10944566.
4. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, et al. Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematologica*. 2016;101:803-11. PMID: 27365460.
5. Allen UD, Preiksaitis JK. Epstein-Barr virus and posttransplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:107-20. PMID: 23465004.
6. San-Juan R, Comoli P, Caillard S, et al. Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20 Suppl 7:109-18. PMID: 24475976.
7. Nijland ML, Kersten MJ, Pals ST, Bemelman FJ, Ten Berge IJ. Epstein-Barr virus-positive posttransplant lymphoproliferative disease after solid organ transplantation: Pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, and management. *Transplant Direct*. 2016;2:e48. PMID: 27500242.
8. Tsai DE, Douglas L, Andreadis C, et al. EBV PCR in the diagnosis and monitoring of posttransplant lymphoproliferative disorder: Results of a two-arm prospective trial. *Am J Transplant*. 2008;8:1016-24. PMID: 18312608.
9. Fryer JF, Heath AB, Wilkinson DE, Minor PD. A collaborative study to establish the 1st WHO International Standard for Epstein-Barr virus for nucleic acid amplification techniques. *Biologicals*. 2016;44:423-33. PMID: 27461128.
10. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8. PMID: 2227421.
11. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93. PMID: 7845459.
12. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: Structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78. PMID: 7697717.
13. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7. PMID: 1368485.
14. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. PMID: 8908518.
15. 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.
16. 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.
17. Hadinoto V, Shapiro M, Sun CC, Thorley-Lawson DA. The dynamics of EBV shedding implicate a central role for epithelial cells in amplifying viral output. *PLoS Pathog*. 2009;5:e1000496. PMID: 19578433.

Редакция документа

Сведения о редакции документа	
Doc Rev. 2.0 09/2022	На титульный лист и в таблицы 2 и 3 добавлены новые P/N наборов контролей. Обновлен раздел Товарные знаки и патенты , в том числе ссылка. В случае возникновения вопросов свяжитесь с местным представительством компании Roche.
Doc Rev. 3.0 05/2023	Минимальный объем образца возвращен к исходному уровню в Инструкции по применению и в разделе Основные характеристики теста . Обновлена рекомендация по обращению в местный уполномоченный орган. Обновлено фирменное оформление cobas® . Незначительные лексические правки. В случае возникновения вопросов свяжитесь с местным представительством компании Roche.

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