

cobas[®] HSV 1 and 2 Test

na použitie v systéme cobas[®] 4800

Na diagnostické použitie in vitro



cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit	240 Tests 960 Tests	P/N: 05235782190 P/N: 05235804190
cobas[®] 4800 System Lysis Kit 1	240 Tests 960 Tests	P/N: 06768253190 P/N: 06768270190
cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit	240 Tests 960 Tests	P/N: 05235863190 P/N: 05235871190
cobas[®] 4800 System Internal Control Kit 1	20 Runs	P/N: 06768318190
cobas[®] 4800 HSV 1 and 2 Amplification/Detection Kit	80 Tests	P/N: 06768199190
cobas[®] 4800 HSV 1 and 2 Controls and Cofactor Kit	10 Runs	P/N: 06768296190

OBSAH

Účel použitia

Súhrn a vysvetlenie testu/princípy postupu

Základné informácie: Skrining HSV-1 a HSV-2	4
Vysvetlenie testu	5
Princípy procedúry	5
Príprava vzorky	5
Amplifikácia PCR a detekcia TaqMan®	5
Selektívna amplifikácia	5

Materiály, činidlá a vzorka

Poskytované materiály a činidlá	7
Skladovanie činidiel a manipulácia s nimi	13
Ďalšie vyžadované materiály	13
Voliteľné materiály	14
Vyžadované zariadenia a softvér, ktoré nie sú súčasťou dodávky	14

Preventívne opatrenia a požiadavky na manipuláciu

Výstrahy a preventívne opatrenia	14
Vhodné laboratórne postupy	15
Kontaminácia	15
Integrita	15
Likvidácia	15
Rozliate látky a čistenie	16
Odber, preprava a skladovanie vzoriek	16
Odber vzoriek	16
Skladovanie a stabilita vzoriek počas prepravy	16

Návod na použitie

Spustenie testu	17
Pracovný postup	17
Postup testovania	17

Výsledky

Kontrola kvality a platnosť výsledkov	21
Pozitívna kontrolná vzorka	22
Negatívna kontrolná vzorka	22
Vnútoraná kontrolná vzorka	22
Interpretácia výsledkov	22
Zoznam príznakov výsledkov	24
Procedurálne obmedzenia	24

Hodnotenie neklinickej účinnosti	25
Analytická citlivosť	25
Detekcia kmeňov HSV-1 a HSV-2	26
Presnosť	26
Kompetitívna inhibícia	27
Analytická špecifickosť	28
Interferencia	29
Ďalšie informácie	33
Kľúčové funkcie analýzy	33
Symboly	34
Technická podpora	36
Ak potrebujete technickú podporu (pomoc), obráťte sa na miestne zastúpenie:	36
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm	36
Výrobca a dovozca	36
Autorské práva	36
Literatúra	37
Revízia dokumentu	38

Účel použitia

Test **cobas**® HSV 1 a 2 v systéme **cobas**® 4800 je automatizovaný in vitro diagnostický test, ktorý využíva polymerázovú reťazovú reakciu v reálnom čase (PCR) na priamu detekciu a typizáciu DNA vírusu Herpes simplex 1 a 2 (HSV-1 a HSV-2) v rámci lekárskom odobratých vzoriek z anogenitálnej lézie od symptomatických pacientov (mužov a žien). Test **cobas**® HSV 1 a 2 je určený na použitie ako pomôcka pri diagnostike anogenitálnych infekcií HSV-1 a HSV-2 u symptomatických pacientov.

Súhrn a vysvetlenie testu/princípy postupu

Základné informácie: Skrining HSV-1 a HSV-2

Genitálny herpes je sexuálne prenosné ochorenie (STD) spôsobené HSV-1 a HSV-2, t. j. všadeprítomnými vírusmi s neurotropickou DNA s dvojítm reťazcom rodu Herpesviridae.¹ Po primárnej infekcii prostredníctvom sekrétov tento vírus pretrváva po celý život. Vírus môže ostať v latentnom stave dlhodobo alebo môže spôsobovať opakujúce sa epizódy reaktivovaného symptomatického ochorenia, pričom počet výskytov sa s postupujúcimi rokmi obvykle znižuje. Väčšina genitálnych herpesov je spôsobená vírusom HSV-2. Vírus HSV-1 môže spôsobiť genitálny herpes, väčšinou však spôsobuje infekcie úst a pier. Prenos genitálneho herpesu vo všeobecnosti spôsobujú jednotlivci, ktorí si nie sú vedomí svojej infekcie alebo osoby s asymptomatickými infekciami.² Prenatálny alebo perinatálny prenos HSV na novorodenca môže viesť k závažnému ochoreniu alebo smrti.

Infekcia genitálneho herpesu je rozšírená v Spojených štátoch, kde bol pozorovaný výskyt HSV-2 v sére až u 30 % gravidných žien a táto hodnota môže byť vyššia než 50 % vo vysokorizikových skupinách vrátane jednotlivcov infikovaných vírusom HIV a u komerčných sexuálnych pracovníkov.² Výskyt HSV-2 v sére bol u dospelých jedincov pozorovaný až v 80 %³, výskyt v sére u žien je v porovnaní s mužmi až dvojnásobne vyšší a jeho miera sa zvyšuje spolu s vekom.^{4,5}

Príznaky a symptómy súvisiace s genitálnym herpesom sa môžu odlišovať a u významného počtu⁶ infikovaných jednotlivcov infekcia prebieha asymptomaticky alebo nie je diagnostikovaná. Spravidla 4 až 7 dní po sexuálnom kontakte dochádza k miestnej bolesti alebo páleniu. Následne dochádza k obojstrannej tvorbe červených pupienkov a pľuzgierikov na externých genitáliách² a v perianálnej oblasti sa môžu vytvárať aj lézie. Súčasne sa môže vyskytnúť horúčka, bolesť hlavy, malátnosť a trieslová lymfadenopatia. Na základe klinických kritérií nie je možné odlíšiť primárnu infekciu HSV-1 od primárnej infekcie HSV-2. Približne u 70 % až 90 % osôb so symptomatickou infekciou HSV-2 a u približne 20 % až 50 % osôb so symptomatickou genitálnou infekciou HSV-1 dochádza k opakovanému výskytu v priebehu prvého roka.⁷⁻⁹ Definitívna diagnóza infekcie a typizácia vírusu sú preto mimoriadne dôležité na začatie liečby a ďalšiu správu pacientov.¹⁰

Diagnózu genitálneho herpesu je možné zhotoviť testovaním tampónovej vzorky odobratej z anogenitálnych lézií pomocou kultúry a následnou typovo špecifickou imunofluorescenciou, alebo pomocou molekulárných postupov. Analýzy založené na polymerázovej reťazovej reakcii (PCR) v sebe kombinujú vyššiu citlivosť a kratšiu dobu do získania výsledku testu v porovnaní s kultiváciou.^{11,12} Testy na detekciu protilátok sa používajú na diagnostiku latentných infekcií HSV. Rýchle podanie antivírusovej terapie infikovaným osobám pomáha minimalizovať prenos HSV a výskyt komplikácií súvisiacich s infekciou HSV.

Test **cobas**® HSV 1 a 2 slúži na spracovanie vzoriek z tampónových vzoriek z anogenitálnej lézie zhromaždených pomocou súpravy na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek COPAN MSwab. Tieto

primárne vzorky sa vkladajú do systému **cobas**® 4800 a následne automaticky dochádza k extrakcii nukleovej kyseliny a reakcii PCR. Následný proces PCR v reálnom čase deteguje a typizuje vo vzorke cieľovú DNA špecifickú pre HSV-1 a HSV-2 (ak je prítomná). Tento test je možné spúšťať spolu s testami **cobas**® Cdiff a **cobas**® MRSA/SA v zmiešanej dávke v rámci jedného cyklu. Všetky tri testy používajú rovnaký automatizovaný proces extrakcie vzorky a profil PCR na amplifikáciu a detekciu.

Vysvetlenie testu

Test **cobas**® HSV 1 a 2 sa skladá z dvoch hlavných procesov: (1) automatizovaná príprava vzorky na extrakciu nukleových kyselín zo vzoriek z anogenitálnej lézie, (2) súbežná amplifikácia PCR cieľových sekvencií DNA s použitím primerov špecifických pre HSV-1 a HSV-2 a detekcia v reálnom čase zameraná na rozštiepené a fluorescenčne označené oligonukleotické detekčné sondy špecifické pre HSV-1 a HSV-2. Vnútna kontrolná vzorka obsahujúca nesúvisiacu randomizovanú sekvenciu DNA sa pridáva ku všetkým vzorkám pred automatizovanou prípravou vzoriek a deteguje sa súčasne s každou vzorkou za účelom monitorovania celého procesu.

Princípy procedúry

Príprava vzorky

Príprava vzoriek pre test **cobas**® HSV 1 a 2 je automatizovaná s použitím prístroja **cobas x 480**. Vírusy vo vzorkách z anogenitálnej lézie sa rozložia pomocou chaotropického činidla, proteinázy K a činidiel SDS. Uvoľnené nukleové kyseliny spolu s pridanou vnútornou kontrolnou DNA sa naviažu na magnetické sklenené častice. Vymyjú sa a následne sa vylúhujú do pufra s malým objemom. Zariadenie následne prevezme pomernú časť vylúhovaného materiálu a nastaví reakciu PCR s aktivovanou hlavnou zmesou.

Amplifikácia PCR a detekcia TaqMan®

Kroky cyklu PCR a detekcia cieľového signálu sa vykonávajú v analyzátore **cobas z 480**. Hlavná zmes obsahuje primerové páry a sondy pre päť cieľov: DNA-polymerázovú oblasť B a tymidín-kinázovú oblasť C HSV-1, koncovú oblasť glykoproteínu B 3' a tymidín-kinázovú oblasť C HSV-2 a vnútornú kontrolnú vzorku. Systém duálneho cieľa pre vírusy HSV-1 a HSV-2 zlepšuje odolnosť analýzy. Ak sú prítomné sekvencie cieľovej nukleovej kyseliny, amplifikácia s použitím príslušných primerov sa uskutoční v tepelne stabilnej DNA polymeráze, čím sa vytvoria produkty PCR (amplikóny). Tieto produkty sa detegujú pomocou špecifických sond TaqMan, ktoré obsahujú fluorescenčné farbivo a tlmiace farbivo. Tlmiace farbivo obvykle potláča fluorescenciu farbiva. Ak je však prítomný produkt PCR, sonda sa hybridizuje do produktu a rozštiepi sa 5' až 3' aktivitou nukleázy polymerázy. Z tohto dôvodu sa z farbiva emituje fluorescencia a zaznamenáva sa signál v reálnom čase počas každého cyklu PCR v analyzátore **cobas z 480**. Signál interpretuje systémový softvér **cobas**® 4800 a vykazuje sa ako záverečné výsledky.

Selektívna amplifikácia

Selektívna amplifikácia cieľovej nukleovej kyseliny zo vzorky sa dosiahne v rámci testu **cobas**® HSV 1 a 2 použitím enzýmu AmpErase (uracil-N-glykosyláza) a deoxyuridín-trifosfátu (dUTP). Enzým AmpErase rozpoznáva a katalyzuje rozpad reťazcov DNA obsahujúcich deoxyuridín¹³, nie však DNA, ktorá obsahuje deoxytymidín. Deoxyuridín sa v bežne existujúcej DNA nevyskytuje, vždy sa však vyskytuje v amplikóne a to v dôsledku použitia deoxyuridín trifosfátu namiesto thymidín trifosfátu ako jedného z dNTP v Hlavnom činidle; preto deoxyuridín obsahuje iba amplikón. Deoxyuridín spôsobuje

citlivosť kontaminujúceho amplikóna na zničenie pomocou enzýmu AmpErase ešte pred amplifikáciou cieľovej DNA. Enzým AmpErase, ktorý je súčasťou Hlavného činidla, katalyzuje štiepenie DNA obsahujúcej deoxyuridín vo zvyškoch deoxyuridínu prostredníctvom otvorenia reťazca deoxyribózy v mieste C1. Pri zahriatí v rámci prvého kroku tepelného cyklu pri alkalickom pH hlavnej zmesi sa reťazec DNA amplikóna rozdelí v mieste deoxyuridínu, čím spôsobí to, že DNA sa nedá amplifikovať. Enzým AmpErase je neaktívny pri teplotách nad 55 °C, t. j. v priebehu jednotlivých krokov tepelného cyklu, a preto nedochádza k zničeniu cieľového amplikóna. Bolo preukázané, že test **cobas**® HSV 1 a 2 inaktivuje najmenej 1 000 kópií amplikóna HSV 1 a 2 obsahujúceho deoxyuridín na jednu reakciu PCR.

Materiály, činidlá a vzorka

Poskytované materiály a činidlá

Súprava/kazety	Súčasti a zložky činidiel	Množstvo na jeden test	Bezpečnostný symbol a varovanie*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Súprava systému cobas® 4800 na prípravu vzoriek) 240 testov (P/N: 05235782190)	MGP (Magnetické sklenené častice systému cobas® 4800) magnetické sklenené častice 93 % izopropanol**	10 × 4,5 ml	 NEBEZPEČENSTVO H225 Veľmi horľavá kvapalina a pary. H319 Spôsobuje vážne podráždenie očí. H336 Môže spôsobiť ospalosť alebo závraty. P210 Uchovávať mimo dosahu tepla, horúcich povrchov, iskier, otvoreného ohňa a iných zdrojov zapálenia. Nefajčiť. P233 Nádobu uchovávať tesne uzavretú. P261 Zabráňte vdychovaniu prachu/dymu/plynu/hmly/pár/aerosólov. P280 Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre. P303 + P361 + P353 PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Všetky kontaminované časti odevu okamžite vyzlečte. Pokožku opláchnite vodou. P370 + P378 V prípade požiaru: Na hasenie použite suchý piesok, suchú chemikáliu alebo penu odolnú voči alkoholu. 67-63-0 Propan-2-ol
	EB (Elučný pufer systému cobas® 4800) Pufer Tris 0,09 % Azid sodný	10 × 18 ml	nedostupné

Súprava/kazety	Súčasti a zložky činidiel	Množstvo na jeden test	Bezpečnostný symbol a varovanie*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Súprava systému cobas® 4800 na prípravu vzoriek) 960 testov (P/N: 05235804190)	MGP (Magnetické sklenené častice systému cobas® 4800) magnetické sklenené častice 93 % izopropanol**	10 × 13,5 ml	 NEBEZPEČENSTVO H225 Veľmi horľavá kvapalina a pary. H319 Spôsobuje vážne podráždenie očí. H336 Môže spôsobiť ospalosť alebo závraty. P210 Uchovávať mimo dosahu tepla, horúcich povrchov, iskier, otvoreného ohňa a iných zdrojov zapálenia. Nefajčite. P233 Nádobu uchovávať tesne uzavretú. P261 Zabráňte vdychovaniu prachu/dymu/plynu/hmly/pár/aerosólov. P280 Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre. P303 + P361 + P353 PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Všetky kontaminované časti odevu okamžite vyzlečte. Pokožku opláchnite vodou. P370 + P378 V prípade požiaru: Na hasenie použite suchý piesok, suchú chemikáliu alebo penu odolnú voči alkoholu. 67-63-0 Propan-2-ol
	EB (Elučný pufer systému cobas® 4800) Pufer Tris 0,09 % Azid sodný	10 × 18 ml	nedostupné

Súprava/kazety	Súčasti a zložky činidiel	Množstvo na jeden test	Bezpečnostný symbol a varovanie*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 (Dezintegračná súprava 1 systému cobas® 4800) 240 testov (P/N: 06768253190)	LYS-1 (Dezintegračný pufer 1 systému cobas® 4800) Citran sodný 5 % polydocanol** 42,6 % guanidínium-tiokyanát** Ditiotreitol**	10 × 10 ml	 NEBEZPEČENSTVO H302 + H332 Zdraviu škodlivý pri požití alebo vdýchnutí. H314 Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí. H412 Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. EUH032 Pri kontakte s kyselinami uvoľňuje veľmi toxický plyn. P261 Zabráňte vdychovaniu prachu/dymu/plynu/hmly/pár/aerosólov. P273 Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P280 Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre. P303 + P361 + P353 PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Všetky kontaminované časti odevu okamžite vyzlečte. Pokožku opláchnite vodou. P304 + P340 + P310 PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. P305 + P351 + P338 + P310 PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. 593-84-0 Guanidinium thiocyanate 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 (Dezintegračná súprava 1 systému cobas® 4800) 240 testov (P/N: 06768253190)	PK (Proteináza K systému cobas® 4800) Pufer Tris EDTA Chlorid vápenatý Octan vápenatý < 2,0 % proteináza K** Glycerine	10 × 0,9 ml	 NEBEZPEČENSTVO H317 Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu. H334 Pri vdýchnutí môže vyvolať alergiu alebo príznaky astmy, alebo dýchacie ťažkosti. P261 Zabráňte vdychovaniu prachu/dymu/plynu/hmly/pár/aerosólov. P280 Používajte ochranné rukavice. P284 Používajte ochranu dýchacích ciest. P304 + P340 PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. P333 + P313 Ak sa prejaví podráždenie pokožky alebo sa vytvoria vyrážky: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. P342 + P311 Pri sťaženom dýchaní: Volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. 39450-01-6 proteináza, tritirachium album serín

Súprava/kazety	Súčasti a zložky činidiel	Množstvo na jeden test	Bezpečnostný symbol a varovanie*
	SDS (SDS činidlo systému cobas® 4800) Pufer Tris Dodecylsulfát sodný 0,09 % Azid sodný	10 × 3 ml	nedostupné
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 (Dezintegračná súprava 1 systému cobas® 4800) 960 testov (P/N: 06768270190)	LYS-1 (Dezintegračný pufer 1 systému cobas® 4800) Citran sodný 5 % polydocanol** 42,6 % guanidínium-tiokyanát** Ditiotreitol**	10 × 36 ml	 NEBEZPEČENSTVO H302 + H332 Zdraviu škodlivý pri požití alebo vdýchnutí. H314 Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí. H412 Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. EUH032 Pri kontakte s kyselinami uvoľňuje veľmi toxický plyn. P261 Zabráňte vdychovaniu prachu/dymu/plynu/hmly/pár/aerosólov. P273 Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P280 Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre. P303 + P361 + P353 PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Všetky kontaminované časti odevu okamžite vyzlečte. Pokožku opláchnite vodou. P304 + P340 + P310 PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. P305 + P351 + P338 + P310 PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. 593-84-0 Guanidinium thiocyanate 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol

Súprava/kazety	Súčasti a zložky činidiel	Množstvo na jeden test	Bezpečnostný symbol a varovanie*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 (Dezintegračná súprava 1 systému cobas® 4800) 960 testov (P/N: 06768270190)	PK (Proteináza K systému cobas® 4800) Pufer Tris EDTA Chlorid vápenatý Octan vápenatý < 2,0 % proteináza K** Glycerine	20 × 1,2 ml	 NEBEZPEČENSTVO H317 Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu. H334 Pri vdýchnutí môže vyvolať alergiu alebo príznaky astmy, alebo dýchacie ťažkosti. P261 Zabráňte vdychovaniu prachu/dymu/plynu/hmly/pár/aerosólov. P280 Používajte ochranné rukavice. P284 Používajte ochranu dýchacích ciest. P304 + P340 PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. P333 + P313 Ak sa prejaví podráždenie pokožky alebo sa vytvoria vyrážky: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. P342 + P311 Pri sťaženom dýchaní: Volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. 39450-01-6 proteináza, tritirachium album serín
	SDS (SDS činidlo systému cobas® 4800) Pufer Tris Dodecylsulfát sodný 0,09 % Azid sodný	10 × 9 ml	
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Súprava vymývacích pufrov systému cobas® 4800) 240 testov (P/N: 05235863190)	WB (Vymývací pufer systému cobas® 4800) Dihydrát citronanu sodného 0,05 % N-Metylizotiazolon HCl	10 × 55 ml	nedostupné
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Súprava vymývacích pufrov systému cobas® 4800) 960 testov (P/N: 05235871190)	WB (Vymývací pufer systému cobas® 4800) Dihydrát citronanu sodného 0,05 % N-Metylizotiazolon HCl	10 × 200 ml	nedostupné
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 (Súprava vnútornej kontroly 1 systému cobas® 4800) 20 cyklov (P/N: 06768318190)	IC-1 (cobas® 4800 IC-1) Pufer Tris EDTA < 0,01 % Poly rA RNA (syntetická) 0,05 % azid sodný < 0,01 % neinfekčná syntetická DNA pre vnútornú kontrolu uzavretá v obalovom proteíne bakteriofágu Lambda	20 × 0,5 ml	nedostupné

Súprava/kazety	Súčasti a zložky činidiel	Množstvo na jeden test	Bezpečnostný symbol a varovanie*
cobas® 4800 HSV 1 and 2 Amplification/ Detection Kit (Amplifikačná/detekčná súprava cobas® 4800 HSV 1 a 2) 80 testov (P/N: 06768199190)	HSV MMX (Master Mix cobas® HSV 1 a 2) Pufer Tricín EDTA Octan draselný Hydroxid draselný Tween 20 Glycerol < 0,19 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01 % antimediátorové a mediátorové HSV-1, HSV-2 a primery pre vnútornú kontrolu < 0,01 % fluorescenčne označené HSV-1, HSV-2 a sondy pre vnútornú kontrolu < 0,01 % Oligonukleotid aptamér < 0,01 % polymeráza DNA Z05 (mikrobiálna) < 0,02 % Enzým AmpErase (uracil-N-glykozyláza) (mikrobiálna) 0,09 % Azid sodný	10 × 0,3 ml	nedostupné
	HSV (+) C (Pozitívna kontrolná vzorka cobas® HSV 1 a 2) Pufer Tris EDTA < 0,01 % Poly rA RNA (syntetická) 0,05 % Azid sodný < 0,01 % neinfekčná plazmidová DNA (mikrobiálna) obsahujúca sekvenciu HSV 1 < 0,01 % neinfekčná plazmidová DNA (mikrobiálna) obsahujúca sekvenciu HSV 2	10 × 0,5 ml	nedostupné
	(-) C (Negatívna kontrolná vzorka systému cobas® 4800) Pufer Tris EDTA 0,05 % Azid sodný < 0,01 % Poly rA RNA (syntetická)	10 × 0,5 ml	nedostupné
cobas® 4800 HSV 1 and 2 Controls and Cofactor Kit (Súprava kontrol a kofaktora cobas® 4800 HSV 1 a 2) 10 cyklov (P/N: 06768296190)	Cofactor-2 (Kofaktor 2 cobas® 4800) Octan manganatý Octan horečnatý 0,09 % Azid sodný	10 × 1,7 ml	nedostupné

* Označovanie bezpečnosti produktu vyplýva hlavne z nariadenia EÚ o systéme GHS.

** Nebezpečná látka

Skladovanie činidiel a manipulácia s nimi

Činidlo	Teplota skladovania	Doba skladovania
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Súprava systému cobas® 4800 na prípravu vzoriek)	2 – 8 °C	Stabilná až do vyznačeného dátumu expirácie
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 (Dezintegračná súprava 1 systému cobas® 4800)	2 – 8 °C	Stabilná až do vyznačeného dátumu expirácie
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 (Súprava vnútornej kontroly 1 systému cobas® 4800)	2 – 8 °C	Stabilná až do vyznačeného dátumu expirácie
cobas® 4800 HSV 1 and 2 Amplification/Detection Kit (Amplifikačná/detekčná súprava cobas® 4800 HSV 1 a 2)	2 – 8 °C	Stabilná až do vyznačeného dátumu expirácie
cobas® 4800 HSV 1 and 2 Controls and Cofactor Kit (Súprava kontrol a kofaktora cobas® 4800 HSV 1 a 2)	2 – 8 °C	Stabilná až do vyznačeného dátumu expirácie
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Súprava vymývacích pufrov systému cobas® 4800)	15 – 25 °C	Stabilná až do vyznačeného dátumu expirácie

Poznámka: Činidlá nezmrazujte.

Dátum expirácie činidla vychádza z koordinovaného svetového času (UTC). Miestny čas expirácie činidla môže byť posunutý o plus alebo mínus 12 hodín v závislosti od miestneho časového pásma vzhľadom na čas UTC.

Ďalšie vyžadované materiály

Materiály	P/N
Špičky CORE, 1 000 µl, stojan na 96 ks	04639642001
Nádoba na činidlo, 50 ml	05232732001
Nádoba na činidlo, 200 ml	05232759001
Extrakčná platňa systému cobas® 4800 (hlboké jamky)	05232716001
Platňa AD (mikrotitračná) 0,3 ml systému cobas® 4800 a tesniaca fólia	05232724001
Aplikátor na tesniacu fóliu	04900383001
Nosič s 32 polohami	04639529001
Vrecko na tuhý odpad	05530873001 (malé) alebo 04691989001 (veľké)
Plastový žliabok Hamilton STAR	04639669001
Systém na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek MSwab	7007248190 alebo COPAN 404C.R
Jednorazové rukavice (bez púdru)	Môžete použiť akékoľvek jednorazové rukavice bez púdru.
Vortex (jedna skúmavka)	Môžete použiť akýkoľvek vortex.

Ďalšie informácie o osobitne predávaných materiáloch získate od miestneho zástupcu spoločnosti Roche.

Voliteľné materiály

Materiály	P/N
Kryt na platňu s hlbokými kalíškami	Hamilton 6474-01
Viečka, biela farba (na zatvorenie primárnych vzoriek po dokončení cyklu)	07033893001 alebo COPAN 2U008N100.R

Ďalšie informácie o voliteľných materiáloch získate od miestneho zástupcu spoločnosti Roche.

Vyžadované zariadenia a softvér, ktoré nie sú súčasťou dodávky

Vyžadované zariadenia a softvér (nie sú súčasťou dodávky)
Systém cobas® 4800 Prístroj cobas x 480 Analyzátor cobas z 480 Riadiaca jednotka
Systém cobas® 4800 – softvér cobas® HSV 1 a 2 AP , verzia 1.0.0 alebo novšia
Aplikačný (základný) softvér systému cobas® 4800 , verzia 2.2.0 alebo novšia

Ďalšie informácie o osobitne predávaných materiáloch získate od miestneho zástupcu spoločnosti Roche.

Preventívne opatrenia a požiadavky na manipuláciu

Výstrahy a preventívne opatrenia

Tak, ako pri každom testovaní, aj v tomto prípade platí, že základom správneho vykonania tejto analýzy je správny laboratórny postup. Vzhľadom na vysokú analytickú citlivosť tohto testu je potrebné v maximálnej miere dbať na to, aby nedošlo ku kontaminácii činidiel, vzoriek a amplifikačných zmesí.

- Iba na diagnostické použitie in vitro.
- Dávajte pozor, aby nedošlo k mikrobiálnej kontaminácii činidiel a vzoriek a takisto zabráňte kontaminácii kyselinou DNA.
- Karty bezpečnostných údajov (SDS) sú k dispozícii na požiadanie od miestneho zastúpenia spoločnosti Roche.
- Činidlo LYS-1 obsahuje guanidín-tiocyanát. Dbajte na to, aby nedošlo k priamemu kontaktu guanidín-tiocyanátu a chlórnanu sodného (bielidlo) alebo iných vysoko reaktívnych činidiel, akými sú napríklad kyseliny alebo zásady. Tieto zmesi môžu uvoľňovať škodlivý plyn.
- MGP obsahuje izopropanol a je veľmi horľavá. Držte ju preč od otvoreného plameňa a od prostredia, ktoré môže produkovať iskry.
- Produkty EB, HSV 1 a 2 MMX, SDS, Cofactor-2, (–)C, HSV 1 a 2 (+)C a IC-1 obsahujú azid sodný.
- Ďalšie výstrahy, preventívne opatrenia a postupy na obmedzenie rizika kontaminácie prístroja **cobas x 480** alebo analyzátoru **cobas z 480** nájdete v používateľskej príručke k systému **cobas® 4800**. Ak máte podozrenie na kontamináciu, vykonajte čistenie a týždennú údržbu uvádzanú v príslušnej používateľskej príručke pre systém **cobas® 4800**.

- Informujte miestny kompetentný orgán o všetkých závažných udalostiach, ktoré sa môžu vyskytnúť pri používaní tejto analýzy.

Poznámka: *Špecifické pokyny nájdete v časti „Odber, preprava a skladovanie vzoriek“.*

Vhodné laboratórne postupy

- Pipetu nenapĺňajte pomocou úst.
- V pracovných oblastiach laboratória nejedzte, nepite ani nefajčite.
- Po ukončení práce so vzorkami a testovacími činidlami si dôkladne umyte ruky.
- Pri práci s každým činidlom používajte vhodné prostriedky na ochranu očí, laboratórne plášte a jednorazové rukavice. Zabráňte kontaktu týchto materiálov s kožou, očami a sliznicami. Ak dôjde ku kontaktu, zasiahnuté miesto ihneď umyte veľkým množstvom vody. V prípade neošetrenia môžu vzniknúť popáleniny. Ak dôjde k rozliatiu týchto činidiel, pred ich utretím do sucha ich zriedte vodou.
- Všetky pracovné povrchy v laboratóriu dôkladne vyčistite a vydezinfikujte pomocou čerstvo pripraveného 0,5 % roztoku chlórnanu sodného v deionizovanej alebo destilovanej vode (bežné domáce bielidlo zriedené v pomere 1:10). Následne pracovné povrchy utrite utierkou namočenou do 70 % etanolu.

Kontaminácia

- Je nevyhnutné nosiť rukavice a rukavice je medzi manipuláciami s jednotlivými vzorkami a činidlami testu **cobas®** HSV 1 a 2 nutné meniť, aby nedošlo ku kontaminácii. Pri manipulácii so vzorkami a kontrolnými vzorkami dbajte na to, aby nedošlo ku kontaminácii rukavíc. Pri manipulácii so vzorkami a činidlami súpravy používajte laboratórne rukavice, laboratórne plášte a ochranné prostriedky na oči.
- Dbajte na to, aby nedošlo k mikrobiálnej a ribonukleázovej kontaminácii činidiel.
- Ak počas manipulácie so vzorkami nezabráňte vzájomnej kontaminácii vzoriek, hrozí riziko nesprávnych pozitívnych výsledkov.
- So vzorkami je potrebné manipulovať ako s infekčným materiálom a je potrebné používať bezpečné laboratórne postupy, napríklad postupy uvádzané v dokumente *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁴ a v dokumente CLSI M29-A3.¹⁵

Integrita

- Nepoužívajte súpravy po uplynutí dátumu expirácie.
- Činidlá nemiešajte.
- Jednorazové položky nepoužívajte po uplynutí ich dátumu expirácie.
- Všetky jednorazové položky sú určené na jedno použitie. Nepoužívajte ich opätovne.
- Všetko zariadenie sa musí riadne udržiavať podľa pokynov príslušných výrobcov.
- Nepoužívajte reagenty ani nádoby, ktoré sú viditeľne poškodené alebo vykazujú známky únikov.

Likvidácia

- Činidlá systému **cobas®** 4800 a špecifické činidlá testu **cobas®** HSV 1 a 2 obsahujú azid sodný (prečítajte si časť „Výstrahy a preventívne opatrenia“). Azid sodný môže reagovať s olovenými

a medenými rozvodmi a môže dochádzať k tvorbe vysoko výbušných kovových azidov. Ak vylievate roztoky obsahujúce azid sodný do laboratórnych drezov, vypláchnite odpadové potrubia veľkým množstvom vody, aby ste predišli usadzovaniu azidov.

- Pri likvidácii nepoužitých činidiel a odpadu postupujte v súlade s platnými štátnymi a miestnymi predpismi.

Poznámka: *Informácie o likvidácii tekutého odpadu nájdete v používateľskej príručke k systému cobas® 4800.*

Rozliate látky a čistenie

- Činidlo LYS-1 obsahuje guanidín-tiocyanát. Ak dôjde k rozliatiu tekutiny, ktorá obsahuje guanidín-tiocyanát, vyčistite zasiahnuté miesto vhodným laboratórnym detergentom a vodou. Ak rozliata kvapalina obsahuje potenciálne infekčné látky, zasiahnuté miesto NAJSKÔR vyčistite laboratórnym detergentom a vodou a potom 0,5 % roztokom chlórnanu sodného.
- Ak dôjde k rozliatiu/rozsypaniu materiálu na prístroj **cobas® 4800**, pri čistení postupujte podľa pokynov v používateľskej príručke k systému **cobas® 4800**.
- Nepoužívajte roztok chlórnanu sodného (bielidla) na čistenie prístroja **cobas x 480** ani analyzátor **cobas z 480**. Prístroj **cobas x 480** alebo analyzátor **cobas z 480** čistíte podľa postupov uvedených v používateľskej príručke k systému **cobas® 4800**.

Odber, preprava a skladovanie vzoriek

Poznámka: *So všetkými vzorkami narábajte ako so vzorkami schopnými prenášať zdroje infekcií.*

Odber vzoriek

Tampónové vzorky z anogenitálnych lézií odoberané pomocou systému na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek MSwab boli schválené na používanie s testom **cobas® HSV 1 a 2**. Vzorky je potrebné odberať pomocou postupu uvádzaného v časti „Postup odberu vzoriek“ a v súlade so štandardnými prevádzkovými postupmi vašej inštitúcie.

Skladovanie a stabilita vzoriek počas prepravy

Tampónové vzorky z anogenitálnych lézií odobraté pomocou systému na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek MSwab sú stabilné počas prepravy a skladovania pri teplote 2 – 30 °C po dobu 4 dní, pri teplote 2 – 8 °C po dobu 14 dní a v zmrazenom stave sú stabilné najmenej 30 dní pred ich testovaním v systéme **cobas® 4800** (bolo to dokázané formou testovania vzoriek po kontinuálnom skladovaní pri teplote 31 ±1 °C po dobu 4 dní, potom po skladovaní pri teplote 2 – 8 °C po dobu 14 dní a následne po skladovaní pri teplote –20 °C po dobu 30 dní).

Preprava vzoriek HSV 1 a 2 musí spĺňať štátne, federálne a miestne predpisy týkajúce sa prepravy etiologických látok.

Návod na použitie

Spustenie testu

Pracovný postup

Obrázok 1: pracovný postup cobas® HSV 1 a 2

1	Spustíte systém.
2	Vykonajte údržbu prístroja.
3	Vyberte vzorky a činidlá z priestoru, v ktorom ich uchováate.
4	Spustíte cyklus: • Vložte stojany so vzorkami.
5	V prípade práce so systémom LIS: potvrdíte objednávku práce. Bez použitia systému LIS: vytvoríte objednávku práce.
6	Vložte spotrebný materiál (platňu s hlbokými kalíškami, mikrotitračnú platňu, stojany na hroty) a činidlá.
7	Spustíte cyklus prípravy vzorky.
8	Vyberte mikrotitračnú platňu a utesnite ju.
9	Vyberte vzorky, použité činidlá a platňu s hlbokými kalíškami.
10	Do analyzátoru vložte mikrotitračnú platňu.
11	Skontrolujte výsledky.
12	V prípade použitia systému LIS: odošlite výsledky do systému LIS.
13	Vyberte položky z analyzátoru.

Postup testovania

Postup odberu vzoriek

Na dosiahnutie optimálnych výsledkov je veľmi dôležitý správny odber vzorky od pacienta. Špecifické pokyny týkajúce sa odberu vzoriek a detekcie vírusov nájdete v publikovaných referenčných príručkách (CLSI M41-A).¹⁷

Na dosiahnutie optimálnych výsledkov je vzorky pre test **cobas®** HSV 1 a 2 potrebné odobrať v akútnej fáze ochorenia (vždy, keď je to možné), podľa možnosti v rozsahu 3 až 7 dní po vypuknutí ochorenia (výron lézií).

Vzorky je potrebné odoberať v súlade so štandardnými prevádzkovými pokynmi vašej inštitúcie a podľa štádia ochorenia:

A. Prítomné pľuzgieriky (pľuzgier naplnený čírou tekutinou)

1. Umyte alebo utrite povrch lézie sterilným fyziologickým roztokom.
2. Opatrne prepichnete pľuzgier pomocou tampónovej tyčinky FLOQSwab (odporúčaný postup), ihly alebo skalpela a odoberte tekutinu pomocou tampónovej tyčinky FLOQSwab.
3. Rovnakou tampónovou tyčinkou FLOQSwab dôkladne pretrite spodok, aby ste odobrali bunky zo stredu lézie.
4. Preneste tampónovú tyčinku naspäť do prepravnej skúmavky MSwab. Pritlačením tampónovej tyčinky na okraj skúmavky zlomte tyčinku vo vyznačenom bode.

5. Riadne uzavrite uzáver a dbajte na to, aby sa horný koniec drieku tampónovej tyčinky nachádzal v strede uzáveru.

B. Pľuzgiere neexistujú (prasknutý vytekajúci pľuzgier alebo vred s chrastou)

1. Ak nie je prítomná chrasta (prasknutý alebo vytekajúci pľuzgier)
 - a. Pomocou suchej tampónovej tyčinky FLOQSwab alebo tampónovej tyčinky navlhčenej jednou alebo dvoma kvapkami sterilného fyziologického roztoku odoberte bunky dôkladným pretretím stredu lézie.
 - b. Preneste tampónovú tyčinku naspäť do prepravnej skúmavky MSwab. Pritlačením tampónovej tyčinky na okraj skúmavky zlomte tyčinku vo vyznačenom bode.
 - c. Riadne uzavrite uzáver a dbajte na to, aby sa horný koniec drieku tampónovej tyčinky nachádzal v strede uzáveru.
2. Ak je na lézii chrasta (vred s chrastou)
 - a. Opatrne odstráňte chrastu pomocou tampónovej tyčinky FLOQSwab navlhčenej sterilným fyziologickým roztokom.
 - b. Odoberte vzorku dôkladným pretretím stredu lézie.
 - c. Taktiež môžete abrazívnym pohybom skalpela alebo ihly pohybovať po lézii dovtedy, kým z nej nezačne vytekať sérová tekutina (dbajte na to, aby nedošlo ku krvácaniu). Následne odoberte vzorku pomocou navlhčenej tampónovej tyčinky FLOQSwab dôkladným pretretím stredu pľuzgiera.
 - d. Preneste tampónovú vzorku naspäť do prepravnej skúmavky MSwab. Pritlačením tampónovej tyčinky na okraj skúmavky zlomte tyčinku vo vyznačenom bode.

Označte vzorku a odošlite ju do testovacieho laboratória v súlade so štandardnými prevádzkovými pokynmi vašej inštitúcie (prečítajte si aj časť „Odber, preprava a skladovanie vzoriek“). Informácie o poznámkach ku vzorkám nájdete v časti „Pracovný postup“.

Všetky činidlá okrem HSV 1 a 2 MMX a Cofactor-2 musia mať teplotu okolia pred ich vložením do prístroja **cobas x 480**. Činidlá HSV 1 a 2 MMX a Cofactor-2 je možné priamo vybrať z priestoru skladovania s teplotou 2 – 8 °C, pretože sa ich teplota vyrovná teplote okolia priamo v prístroji **cobas x 480**, než sa budú používať v rámci procesu analýzy.

Poznámka: *Pozrite si používateľskú príručku k systému **cobas® 4800** s podrobnými pracovnými pokynmi.*

Veľkosť cyklu

Systém **cobas® 4800** dokáže spracovať rôzne testy v jednom cykle testov **cobas® HSV 1 a 2**, **cobas® Cdiff** a **cobas® MRSA/SA**. Všeobecná súprava na prípravu vzoriek v systéme **cobas® 4800**, všeobecná dezintegračná súprava 1 systému **cobas® 4800** a všeobecná súprava vymývacích pufrov **cobas® 4800** sú k dispozícii v dvoch veľkostiach, pričom každá postačuje na 10 cyklov s 24 alebo 96 vzorkami vrátane kontrolných vzoriek a vzoriek na všetky analýzy, ktoré chcete vykonať. Amplifikačná/detekčná súprava **cobas® 4800 HSV 1 a 2** je k dispozícii v dvoch veľkostiach, z ktorých každá postačuje na testovanie 80 alebo 240 vzoriek vrátane kontrolných vzoriek a vzoriek HSV 1 a 2 na testovanie. V rámci jedného cyklu je možné použiť viacero fľaštičiek s hlavnou zmesou **cobas® 4800 HSV 1 a 2** (ak pochádzajú zo súpravy rovnakej veľkosti). Všeobecná súprava vnútornej kontroly 1 systému **cobas® 4800** a súprava kontrolných vzoriek a súčiniteľa HSV 1 a 2 **cobas® 4800** sú k dispozícii v jednej veľkosti, ktorá postačuje na 20 a 10 cyklov a sú vhodné pre všetky konfigurácie cyklu. V rámci každého cyklu obsahujúceho vzorky HSV 1 a 2 je potrebné použiť jednu pozitívnu kontrolnú vzorku **cobas® 4800 HSV 1 a 2** a jednu negatívnu kontrolnú vzorku systému **cobas® 4800** (prečítajte si časť „Kontrola kvality“). Pokiaľ ide o cyklus s jedným testom, maximálny povolený počet je 94 vzoriek a 2 kontrolné vzorky.

Poznámka: *I keď použitie činidiel nebude optimálne, všeobecné činidlo na 96 testov je možné použiť na cyklus obsahujúci 1 – 22 vzoriek. Rôzne veľkosti súpravy vymývacieho pufra systému cobas® 4800 (WB), súpravy na prípravu vzoriek v systéme cobas® 4800 a dezintegračnej súpravy 1 systému cobas® 4800 nie je možné používať spolu. Ak napríklad na začiatku cyklu naskenujete fľašu s činidlom WB na 96 testov, je nevyhnutné použiť činidlá na 96 testov z ďalších dvoch súprav.*

Poznámka: *I keď použitie činidiel nebude optimálne, zmes cobas® 4800 HSV 1 a 2 na 24 testov je možné použiť v rámci cyklu obsahujúceho 1–6 vzoriek HSV. Podrobnosti o zmene veľkosti súpravy nájdete v používateľskej príručke pre systém cobas® 4800.*

Pracovný postup

Test cobas® HSV 1 a 2 sa vykonáva použitím úplného pracovného postupu v softvéri cobas® 4800. Skladá sa z prípravy vzorky v prístroji cobas x 480 a z amplifikácie/detekcie v analyzátore cobas z 480. Cyklus sa môže skladať iba z testu HSV 1 a 2 alebo môže ísť o mix testov cobas® Cdiff alebo cobas® MRSA/SA. Podrobnosti nájdete v používateľskej príručke k systému cobas® 4800.

Vzorky

Poznámka: *Test cobas® HSV 1 a 2 bol schválený na použitie so systémom na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek MSwab. Nepoužívajte žiadne iné zariadenia s tampónovými tyčinkami na odber ani iné typy médií.*

Poznámka: *Správne odobratá tampónová vzorka z anogenitálnej lézie by mala mať jeden tampón FLOQ s driekom tyčinky zachyteným v uzávere. Vzorky bez tampónov alebo s viac než jedným tampónom nebolí odobraté podľa pokynov a nesmú sa testovať.*

Poznámka: *Nespracúvajte tampónové vzorky z anogenitálnej lézie, ktoré sú krvavé alebo majú tmavohnedú farbu.*

Poznámka: *Vzorky sa musia nachádzať v nádobách na primárne vzorky so správnym čiarovým kódom na spracovanie v prístroji cobas x 480. Prečítajte si používateľskú príručku k systému cobas® 4800, v ktorej nájdete správne postupy označovania čiarovými kódmi a zoznam prijateľných čiarových kódov pre systém cobas® 4800.*

Poznámka: *Aby sa predišlo krížovej kontaminácii, odporúčame, aby ste primárne skúmavky spracovali v systéme cobas® 4800 pred ich ďalším spracovaním a testovaním.*

Poznámka: *Aby sa predišlo krížovej kontaminácii spracovaných vzoriek, je potrebné na zatvorenie vzoriek po spracovaní použiť ďalšie viečka na nádobu so vzorkou MSwab s inou farbou (bielou, prečítajte si časť „Voliteľné materiály“).*

Poznámka: *Tampónové vzorky z anogenitálnej lézie odobraté pomocou systému na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek MSwab obsahujú dostatočný objem na dvojnásobné testovanie v systéme cobas® 4800. Minimálny objem vzorky na spustenie cyklu cobas® HSV 1 a 2 je 700 µl v nádobe s primárnou vzorkou MSwab.*

Výkon testu cobas® HSV 1 a 2

Poznámka: *K dispozícii je možnosť realizácie zmiešaných cyklov s testami cobas® HSV 1 a 2 a cobas® Cdiff alebo cobas® MRSA/SA. Viac podrobností nájdete v používateľskej príručke pre systém cobas® 4800.*

1. Vykonajte procedúry spustenia systému a údržby v súlade s pokynmi v používateľskej príručke k systému cobas® 4800.

2. Pripravte si všetky potrebné činidlá a spotrebný materiál. Činidlá musia mať v čase spustenia cyklu izbovú teplotu s výnimkou činidiel **cobas®** HSV 1 a 2 MMX a Cofactor-2.

Poznámka: Všetky činidlá a zásobníky na činidlá majú čiarové kódy a sú určené na jednorazové použitie. Softvér cobas® 4800 sleduje použitie činidiel a nádob na činidlá a odmieta použiť už použité činidlá alebo nádoby na činidlá.

3. Skontrolujte vzhľad tampónových vzoriek z anogenitálnych lézií odobratých do média MSwab a overte, či spĺňajú požiadavky uvádzané v časti „Vzorky“. Overte, či sú všetky uzávery riadne dotiahnuté. Premiešajte vzorku vo vírivke po dobu najmenej 5 sekúnd. Otvorte skúmavku (horná časť tampónovej tyčinky by mala byť zachytená v uzávere) a vírivým pohybom tampónovej tyčinky okolo vnútornej steny skúmavky odstráňte nadbytočnú tekutinu. Uzáver spolu s tampónovou tyčinkou zlikvidujte bezprostredne pred vložením do systému **cobas®** 4800. Uistite sa, že ste spolu s uzáverom vybrali aj tampónovú tyčinku. Tampónová tyčinka ponechaná vo fľaštičke so vzorkou naruší priebeh testu **cobas®** HSV 1 a 2.
4. Spustíte nový cyklus a definujete pracovnú objednávku pre cyklus. Na vytvorenie pracovnej objednávky sú k dispozícii tri spôsoby:
- Použitím editora vzoriek pred vložením stojana na vzorky do prístroja **cobas x 480** (tlačidlo „Editor“ v pravej časti hlavnej ponuky). Pracovné objednávky je možné uložiť, upraviť a podľa potreby znova načítať.
 - Pomocou softvérového sprievodcu novým cyklom a vložením vzoriek do prístroja **cobas x 480** po zobrazení systémovej výzvy. Čiarové kódy vzoriek sa automaticky naskenujú a následne bude potrebné definovať požadované výsledky pre každú vzorku.
 - Použitím systému LIS vo vašej inštitúcii.
- Viac podrobností nájdete v používateľskej príručke k systému **cobas®** 4800. Počas výberu požadovaných výsledkov začiarknite políčko „HSV 1 and 2“.
5. Vložte vzorky a definujte alebo vyberte pracovnú objednávku, prípadne použite systém LIS. Možnosť „Unload sample carriers after transferring to deep well plate“ bude predvolene vybratá. Takto bude môcť operátor načítať zvyšné vzorky čo najskôr po ich rozdelení na spracovanie prístrojom **cobas x 480**. Nádoby so vzorkou je potrebné uzavrieť novým uzáverom (pozrite časť „Voliteľné materiály“) v prípade, ak sa vyžaduje ich ďalšie uskladnenie.
6. Spotrebný materiál vkladajte podľa pokynov softvérového sprievodcu. Nevkladajte ani nevyberajte jednotlivé hroty v čiastočne využitom stojane na hroty, pretože softvér sleduje počet zostávajúcich hrotov. Ak nie je k dispozícii dostatok hrotov na spustenie cyklu, softvér používateľa na túto skutočnosť upozorní.
7. Činidlá na prípravu vzoriek vložte do zásobníkov s činidlami označenými čiarovými kódmi. Zásobníky na činidlá sa dodávajú v dvoch veľkostiach: 200 ml a 50 ml. Pri výbere vhodných veľkostí zásobníka s činidlom postupujte podľa pokynov softvérového sprievodcu. Čiarové kódy zásobníkov s činidlami musia smerovať napravo od nosiča. Počas načítania činidiel na prípravu vzoriek použite metódu postupu „skenovanie – skenovanie – naliatie – vloženie“:
- Naskenujte čiarový kód fľašky s činidlom
 - Naskenujte čiarový kód zásobníka s činidlom
 - Nalejte činidlo do zásobníka
 - Umiestnite zásobník naplnený činidlom na označené miesto v nosiči činidiel

Poznámka: Systém cobas® 4800 má vnútorné hodiny na sledovanie doby vloženia činidiel v zariadení. Po naskenovaní WB je nutné do 1 hodiny dokončiť proces vkladania a kliknúť na tlačidlo „Start“. Na karte „Workplace“ sa zobrazujú odpočítavacie hodiny. Systém neumožní spustiť cyklus v prípade, ak túto dobu prekročíte.

Poznámka: Na zabezpečenie správnosti prenosu MGP fláštičku s MGP premiešajte alebo dôkladne pretrepte bezprostredne pred dávkovaním do zásobníka s činidlom.

8. Amplifikačné/detekčné činidlá (HSV 1 a 2 MMX a Cofactor-2), proteínázu K (PK) a kontrolné vzorky [HSV 1 a 2 (+) C, IC a (–) C] vložte priamo do nosičov na činidlá. Aby sa zabránilo kontaminácii, po dokončení manipulácie s pozitívnymi kontrolnými vzorkami sa vyžaduje výmena rukavíc.

Poznámka: Softvérový sprievodca vypočíta optimálny počet a veľkosť objemu použitého činidla cobas® HSV 1 a 2 MMX. Tieto informácie budú uvedené v stĺpci „Kit size“ na obrazovke vkladania činidiel MMX a Co-factor. Ak chcete použiť inú veľkosť činidla cobas® HSV 1 a 2 MMX, kliknite na tlačidlo „Change kit size“.

9. Prípravu vzorky začnite kliknutím na položku „Start run“.
 10. Po úspešnom dokončení cyklu prípravy vzorky budú k dispozícii tlačidlá „Sample Preparation results“ a „Unload“. Podľa potreby stlačte tlačidlo „Sample Preparation results“ a overte výsledky, a potom stlačte tlačidlo „Unload“ na vytiahnutie nosiča platne. Taktiež môžete stlačiť tlačidlo „Unload“ a vytiahnuť nosič platne bez kontroly výsledkov. Pozrite si používateľskú príručku k systému cobas® 4800.
 11. Podľa pokynov v používateľskej príručke k systému cobas® 4800 uzavrite mikrotitračnú platňu, preneste ju do analyzátora cobas z 480 a spustíte cyklus amplifikácie a detekcie.
- Poznámka:** Systém cobas® 4800 má vnútorné hodiny na sledovanie dĺžky času po pridaní pripravených vzoriek do aktivovanej hlavnej zmesi. Amplifikáciu a detekciu je potrebné začať čo najskôr, nie však neskôr ako 90 minút po ukončení cyklu v prístroji cobas x 480. Na karte „Workplace“ sa zobrazujú odpočítavacie hodiny. Systém zruší cyklus v prípade, ak uplynul čas počítadla.
12. Po ukončení cyklu amplifikácie a detekcie vyberte mikrotitračnú platňu z analyzátora cobas z 480.
 13. Pri kontrole a akceptácii výsledkov postupujte podľa pokynov v používateľskej príručke k systému cobas® 4800.

Výsledky

Kontrola kvality a platnosť výsledkov

Súčasťou každého cyklu je jedna súprava pozitívnej a negatívnej kontrolnej vzorky testu cobas® HSV 1 a 2. V rámci každého cyklu je nevyhnutné získať platné výsledky pozitívnej a negatívnej kontrolnej

vzorky, aby softvér **cobas®** 4800 zobrazil vykazovateľné výsledky testu **cobas®** HSV 1 a 2 pre daný cyklus.

Pozitívna kontrolná vzorka

Kontrolná vzorka HSV 1 a 2 (+) obsahuje neinfekčnú plazmidovú DNA HSV-1 a HSV-2. Kontrolná vzorka HSV 1 a 2 (+) monitoruje kroky extrakcie, amplifikácie a detekcie nukleovej kyseliny v rámci daného testovacieho cyklu. Výsledok kontrolnej vzorky HSV 1 a 2 (+) musí byť „Valid“. Ak kontrolná vzorka HSV 1 a 2 (+) neustále vykazuje neplatné výsledky, obráťte sa na miestne zastúpenie spoločnosti Roche a požiadajte o technickú pomoc.

Negatívna kontrolná vzorka

Výsledok kontrolnej vzorky (–) musí byť „Valid“. Ak kontrolná vzorka (–) neustále vykazuje neplatné výsledky, obráťte sa na miestne zastúpenie spoločnosti Roche a požiadajte o technickú pomoc.

Vnúťorná kontrolná vzorka

Vnúťorná kontrolná vzorka je molekula bakteriofágu lambda, ktorá obsahuje randomizované sekvencie a ciele pre primery a sondu (špecifické pre vnúťornú kontrolnú vzorku). Vnúťorná kontrolná vzorka sa pridáva do všetkých vzoriek a pozitívnych/negatívnych kontrolných vzoriek počas prípravy vzoriek v prístroji **cobas x 480**. Vnúťorná kontrolná vzorka monitoruje kroky extrakcie, amplifikácie a detekcie nukleovej kyseliny pre danú vzorku. Vnúťorná kontrolná vzorka sa vyžaduje aj na overenie kontrolných vzoriek cyklu.

Interpretácia výsledkov

Poznámka: Overenie všetkých analýz a cyklov vykonáva softvér **cobas®** 4800.

Poznámka: Platný (validný) cyklus môže zahŕňať platné aj neplatné výsledky vzoriek.

Pri platnom cykle sa výsledky vzoriek interpretujú v súlade s výsledkami, ktoré uvádza Tabuľka 1.

Tabuľka 1: Interpretácia výsledkov testu **cobas®** HSV 1 a 2

Test cobas® HSV 1 a 2	Hlásenia a interpretácia výsledkov
POS HSV 1, POS HSV 2	Pozitívne na HSV-1, pozitívne na HSV-2 Vzorka je pozitívna na prítomnosť DNA HSV-1 a HSV-2.
NEG HSV 1, NEG HSV 2	Negatívne na HSV-1*, negatívne na HSV-2* Možnú prítomnosť DNA HSV-1 ani HSV-2 nebolo možné detegovať.
NEG HSV 1, POS HSV 2	Negatívne na HSV-1*, pozitívne na HSV-2 Možnú prítomnosť DNA HSV-1 nebolo možné detegovať. Vzorka je pozitívna na prítomnosť DNA HSV-2.
POS HSV 1, NEG HSV 2	Pozitívne na HSV-1, negatívne na HSV-2* Vzorka je pozitívna na prítomnosť DNA HSV-1. Možnú prítomnosť DNA HSV-2 nebolo možné detegovať.
Invalid HSV 1, NEG HSV 2	Neplatné HSV-1, negatívne na HSV-2* Výsledok HSV-1 je neplatný. Pôvodnú vzorku je potrebné testovať znova a získať platný výsledok HSV-1. Možnú prítomnosť DNA HSV-2 nebolo možné detegovať.

Test cobas® HSV 1 a 2	Hlásenia a interpretácia výsledkov
NEG HSV 1, Invalid HSV 2	Negatívne na HSV-1*, neplatné HSV-2 Možnú prítomnosť DNA HSV-1 nebolo možné detegovať. Výsledok HSV-2 je neplatný. Pôvodnú vzorku je potrebné testovať znova a získať platný výsledok HSV-2.
Invalid HSV 1, Invalid HSV 2	Neplatné HSV-1, neplatné HSV-2 Výsledky HSV-1 aj HSV-2 sú neplatné. Pôvodnú vzorku je potrebné testovať znova a získať platné výsledky HSV-1 a HSV-2.
Invalid HSV 1, POS HSV 2	Neplatné HSV-1, pozitívne na HSV-2 Výsledok HSV-1 je neplatný. Pôvodnú vzorku je potrebné testovať znova a získať platný výsledok HSV-1. Vzorka je pozitívna na prítomnosť DNA HSV-2.
POS HSV 1, Invalid HSV 2	Pozitívne na HSV-1, neplatné HSV-2 Vzorka je pozitívna na prítomnosť DNA HSV-1. Výsledok HSV-2 je neplatný. Pôvodnú vzorku je potrebné testovať znova a získať platný výsledok HSV-2.
Failed	Žiadne výsledky vzorky Prečítajte si používateľskú príručku k systému cobas® 4800 a zamerajte sa na pokyny týkajúce sa kontroly príznakov cyklu a odporúčané kroky. Pôvodnú vzorku je potrebné premiešať vo vírivke po dobu najmenej 5 sekúnd a testovať znova na získanie platných výsledkov HSV.

*Negatívny výsledok nevylučuje prítomnosť HSV-1 alebo HSV-2, nakoľko výsledky závisia od vhodného odberu vzoriek, absencie inhibítorov a dostatočného objemu DNA na detekciu.

Neplatné výsledky je možné získať vtedy, ak vzorka obsahuje inhibičné látky, ktoré zabraňujú extrakcii a amplifikácii/detekcii cieľovej nukleovej kyseliny. Informácie o známych rušivých látkach nájdete v časti „Procedurálne obmedzenia“. V prípade neplatných výsledkov zriedte pôvodnú vzorku pridaním 0,2 ml vzorky do novej fľaštičky MSwab, potom vzorku premiešajte vo vírivke najmenej po dobu 5 sekúnd a test opakujte.

Výsledky typu „Failed“ je možné získať vtedy, ak vzorka obsahuje zrazeniny, ktoré narúšajú postup prípravy vzorky v prístroji cobas® 4800.

Zoznam príznakov výsledkov

Nasledujúca tabuľka uvádza príznaky relevantné z hľadiska interpretácie výsledkov.

Tabuľka 2 Zoznam príznakov pre test cobas® HSV 1 a 2

Test cobas® HSV 1 a 2	Test cobas® HSV 1 a 2	Hlásenia a interpretácia výsledkov
R20	Pozitívna kontrola je neplatná.	Externá kontrola je neplatná. 1. Zopakujte celý cyklus s čerstvými reagensiami. 2. Ak problém pretrváva, obráťte sa na servis spoločnosti Roche.
R21	Negatívna kontrola je neplatná.	Externá kontrola je neplatná. 1. Zopakujte celý cyklus s čerstvými reagensiami. 2. Ak problém pretrváva, obráťte sa na servis spoločnosti Roche.
X3	Chyba: Bola detegovaná zrazenina a vzorka nebola spracovaná.	So vzorkami manipulujte podľa opisu pracovného postupu. 1. Skontrolujte, či vzorka neobsahuje zrazeniny. 2. Znova spracujte vzorku.
X4	Chyba: Došlo k chybe pipetovania. Vzorka nebola spracovaná.	Najpravdepodobnejším dôvodom je nedostatočný objem vzorky alebo mechanická chyba počas pipetovania. 1. Overte, či máte k dispozícii dostatočný objem vzorky. 2. Skontrolujte správne umiestnenie platne na vysunutie špičiek. 3. Znova spracujte vzorku.

Procedurálne obmedzenia

1. Test **cobas®** HSV 1 a 2 bol schválený iba na používanie s tampónovými vzorkami z anogenitálnej lézie odobratými pomocou systému na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek MSwab.
2. Spoľahlivosť výsledkov závisí od vhodného odberu vzoriek, prepravy, uchovávaní a spracovania. Postupujte podľa pokynov v tomto návode na použitie (označuje sa aj ako príbalový leták), v príbalovom letáku k systému MSwab na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek a v príslušnej používateľskej príručke pre systém **cobas®** 4800.
3. Nesprávne negatívne alebo neplatné výsledky môžu byť výsledkom pôsobenia rôznych látok. Vnútna kontrolná vzorka je súčasťou testu **cobas®** HSV 1 a 2 ako pomôcka pri identifikácii vzoriek obsahujúcich látky, ktoré môžu narušať izoláciu nukleovej kyseliny a amplifikáciu PCR. Okrem iných sú známe tieto interferencie:
 - Vzorky, ktoré obsahujú krv v objeme väčšom než je 40 % absorbovaného objemu tampónovej tyčinky, môžu viesť k nesprávnym negatívnym výsledkom. Netestujte vzorky, ktorých farba je tmavočervená alebo hnedá.
 - Vzorky, ktoré obsahujú viac než 4,8 mg hlienu na jednu tampónovú tyčinku, môžu viesť k nesprávnym negatívnym výsledkom.
 - Vzorky, ktoré obsahujú viac než 1,6 mg stolice na jednu tampónovú tyčinku, môžu viesť k nesprávnym negatívnym výsledkom.
 - Vzorky obsahujúce 20 mg a viac krému Vagisil Crème môžu viesť k nesprávnym negatívnym výsledkom.
4. Pozitívny výsledok naznačuje prítomnosť DNA HSV, nie však nevyhnutne prítomnosť životaschopných vírusov. Negatívny výsledok nevylučuje prítomnosť HSV, môže však byť spôsobený nedostatočným objemom DNA v klinickej vzorke.

5. Mutácie alebo polymorfizmy v oblastiach väzby primeru alebo sondy môžu ovplyvňovať detekciu nových alebo neznámych variantov, výsledkom čoho môže byť nesprávny negatívny výsledok analýzy **cobas**® HSV 1 a 2.
6. Predikatívna hodnota analýzy závisí od výskytu ochorenia v danej konkrétnej populácii.
7. Pridanie enzýmu AmpErase do hlavnej zmesi **cobas**® 4800 HSV 1 a 2 umožňuje vykonať selektívnu amplifikáciu cieľovej DNA; je však potrebné pripomenúť, že správna laboratórna prax a dodržiavanie procedúr uvedených v tomto návode na použitie sú nevyhnutne dôležité na to, aby sa predišlo kontaminácii činidiel a amplifikačných zmesí.
8. Tento produkt môže používať len personál zaškolený v technikách PCR a použití systému **cobas**® 4800.
9. Na použitie s týmto výrobkom boli schválené len prístroj **cobas x 480** a analyzátor **cobas z 480**. Iný prístroj na prípravu vzoriek ani PCR systém sa s týmto výrobkom nemôžu použiť.
10. V dôsledku základných odlišností medzi technológiami sa odporúča, aby používatelia pred zmenou technológie v laboratóriu vykonali štúdie korelácie metód a vyhodnotili technologické rozdiely. Kvôli hore uvedeným rozdielom v technológiách sa nemá očakávať stopercentná zhoda výsledkov.
11. Krížová kontaminácia môže spôsobiť nesprávne pozitívne výsledky. V rámci neklinickej štúdie bola miera krížovej kontaminácie medzi vzorkami v rámci testu **cobas**® HSV 1 a 2 v systéme **cobas**® 4800 rovná 1,18 %, keď sa v rámci viacerých cyklov striedavo testovali mimoriadne pozitívne a negatívne vzorky. Krížová kontaminácia medzi jednotlivými cyklami nebola zistená.

Hodnotenie neklinickej účinnosti

Analytická citlivosť

Analytická citlivosť (detekčný limit alebo LOD) testu **cobas**® HSV 1 a 2 bola stanovená formou analýzy kvantifikovaných vírusových kultúr HSV-1 a HSV-2 zriedených na viaceré úrovne koncentrácie do simulovanej matrice tampónových vzoriek z anogenitálnej lézie. Simulovaná matrica sa skladala z hlienu a ľudských buniek s napodobnením vplyvu klinického anogenitálneho pozadia v teste **cobas**® HSV 1 a 2. Všetky úrovne boli testované s najmenej 21 replikátmi s použitím úplného pracovného postupu testu **cobas**® HSV 1 a 2 a piatich šarží činidiel testu **cobas**® HSV 1 a 2. LOD je pre tento test definovaný ako cieľová koncentrácia, ktorú je možné detegovať ako pozitívnu vo ≥ 95 % testovaných replikátov na základe výsledkov najmenej účinnej šarže.

V rámci štúdie analytickej citlivosti boli testované kmene HSV-1 MacIntyre a HSV-2 G. LOD testu **cobas**® HSV 1 a 2 v rámci uvedených izolátov uvádza Tabuľka 3.

Tabuľka 3: LOD (detekčný limit) testu **cobas**® HSV 1 a 2

Organizmus	Kmeň	ATCC ID	Testované hladiny	LOD (TCID ₅₀ jedn./ml)
HSV-1	MacIntyre	VR-539	6	0,479
HSV-2	G	VR-734	6	0,112

Detekcia kmeňov HSV-1 a HSV-2

Detekčné limity testu **cobas**® HSV 1 a 2 na 4 kmeňoch HSV-1 (VR-260, VR-733, VR-735 a VR-1493) a 3 kmeňoch HSV-2 (VR-1779, VR-1781 a VR-540) boli overené formou testovania 40 replikátov na jednu úroveň pri viacerých úrovniach koncentrácie. Riedenia a vzorky na testovanie boli pripravené podobným spôsobom ako v rámci štúdie detekčného limitu (LOD). Súhrn informácií o najnižších úrovniach s pozorovanou mierou úspešnosti najmenej 95 % uvádzajú Tabuľka 4 a Tabuľka 5.

Tabuľka 4: LOD (detekčný limit) testu cobas® HSV 1 a 2 v kmeňoch HSV-1

Kmene HSV-1	ATCC ID	Testované hladiny	LOD (TCID ₅₀ jedn./ml)
KOS	VR-1493	5	3,41
HF	VR-260	6	14,07
F	VR-733	5	5,20
MP	VR-735	4	0,04

Tabuľka 5: LOD (detekčný limit) testu cobas® HSV 1 a 2 v kmeňoch HSV-2

Kmene HSV-2	ATCC ID	Testované hladiny	LOD (TCID ₅₀ jedn./ml)
ATCC-2011-2	VR-1779	5	0,26
ATCC-2011-4	VR-1781	5	0,24
MS	VR-540	5	2,34

Presnosť

Interná štúdia presnosti bola realizovaná s vírusmi HSV-1 a HSV-2, ktoré boli zriedené v simulovanej matrici tampónovej vzorky z anogenitálnej lézie na koncentrácie pod detekčným limitom (LOD), blízke sa LOD a vyššie než LOD testu **cobas**® HSV 1 a 2. Testovaná bola aj negatívna úroveň skladajúca sa iba zo simulovanej matrice anogenitálnej tampónovej vzorky. V štúdii boli použité tri jedinečné šarže činidiel **cobas**® HSV 1 a 2 a použili sa tri prístroje (celkom sa uskutočnilo 36 cyklov v priebehu 12 dní). Popis panelov presnosti a výsledky štúdie uvádza Tabuľka 6. Analýza odchýlky hodnôt Ct od platných testov sa uskutočnila s použitím pozitívnych členov panela s koncentraciami vyššími než LOD. Výsledkom analýzy je celková hodnota CV (%) 2,2 % pre Ct HSV-1 a 1,9 % pre Ct HSV-2 (výsledky uvádza Tabuľka 7 a Tabuľka 8).

Tabuľka 6: Analýza miery úspešnosti v rámci internej štúdie presnosti

Člen panela	Koncentrácia		HSV-1 (n = 72)			HSV-2 (n = 72)		
	HSV-1	HSV-2	Pozitívne výsledky	Miera úspešnosti	95 % obojstranný horný CL	Pozitívne výsledky	Miera úspešnosti	95 % obojstranný horný CL
P1	Negatívne	Negatívne	0	0 %	5 %	0	0 %	5 %
P2	< LOD	< LOD	36	50 %	62 %	40	56 %	67 %
P3	~ LOD	Negatívne	72	100 %	100 %	0	0 %	5 %
P4	Negatívne	~ LOD	0	0 %	5 %	71	99 %	100 %
P5	~ 3 × LOD	~ LOD	72	100 %	100 %	72	100 %	100 %
P6	~ LOD	~ 3 × LOD	72	100 %	100 %	72	100 %	100 %

Tabuľka 7: Analýza súčastí odchýlky pre panel presnosti pri hodnote 3 × LOD (detekčný limit)

Cieľ	Úroveň HSV	Priem. Ct	Komponenty odchýlky/percento podielu na celkových výsledkoch					
			Šarža	Veľkosť súpravy	Prístroj	Cyklus/deň	Náhodné	Celkom
HSV-1	~ 3 × LOD	37,4	0	0,06	0	0,355	0,289	0,704
			0 %	8,60 %	0 %	50,40 %	41,10 %	100 %
HSV-2	~ 3 × LOD	38,2	0,035	0	0,049	0,102	0,345	0,53
			6,50 %	0 %	9,10 %	19,30 %	65,00 %	100 %

Tabuľka 8: Analýza štandardných odchýlok a koeficientov variácie (%) pre panel presnosti pri hodnote 3 × LOD (detekčný limit)

Cieľ	N	Priem. Ct	Súčasti štandardnej odchýlky/CV (%)					Celkom
			Šarža	Veľkosť súpravy	Prístroj	Cyklus/deň	Náhodné	
HSV-1	72	37,4	0	0,245	0	0,595	0,538	0,839
			0 %	0,70 %	0 %	1,60 %	1,40 %	2,20 %
HSV-2	72	38,2	0,186	0	0,22	0,32	0,587	0,728
			0,50 %	0 %	0,60 %	0,80 %	1,50 %	1,90 %

Kompetitívna inhibícia

Panely sa skladali z HSV-1 na úrovni približne 3 × LOD (detekčný limit) a kompetitívneho vírusu HSV-2 na úrovni približne 300 × LOD testu **cobas**® HSV 1 a 2 a naopak. Stonásobne vyššia koncentrácia HSV-1 nemala vplyv na detekciu HSV-2 s koncentráciou približne 3 × LOD a stonásobne vyššia koncentrácia HSV-2 nemala vplyv na detekciu HSV-1 s koncentráciou približne 3 × LOD.

Analytická špecifickosť

Na hodnotenie analytickej špecifickosti testu **cobas**® HSV 1 a 2 boli testované nasledujúce panely s organizmami: 1) 71 baktérií, plesní a vírusov, ktoré je možné nájsť v tampónových anogenitálnych vzorkách (Tabuľka 9), 2) ľudské bunky (Tabuľka 9) a 3) HSV-1 alebo HSV-2 s vysokou titráciou (Tabuľka 9). Všetky organizmy, ľudské bunky, vírusy HSV-1 a HSV-2 boli naočkované na koncentráciu 1×10^6 jednotiek*/ml alebo vyššiu okrem organizmov *Treponema pallidum*, ľudského vírusu herpes 8, *Chlamydia trachomatis* serovar H, *Mycoplasma genitalium* a *Mycoplasma hominis*, ktoré boli naočkované na nižšie koncentrácie v dôsledku obmedzení kmeňových koncentrácií. Testovanie sa uskutočnilo so samostatnými organizmami a ľudskými bunkami s cieľom stanoviť analytickú špecifickosť testu **cobas**® HSV 1 a 2, alebo boli testované v prítomnosti HSV-1 a HSV-2 s koncentráciou približne $3 \times \text{LOD}$ na zhodnotenie potenciálnej interferencie organizmov a ľudských buniek s detekciou HSV-1 a HSV-2 pomocou testu **cobas**® HSV 1 a 2. Výsledky naznačujú, že žiadny z týchto organizmov ani vysoké koncentrácie ľudských buniek neviedli k nesprávnym pozitívnym výsledkom v prípade, ak sa vo vzorkách nenachádzali ciele HSV-1 a HSV-2. Žiadny z týchto organizmov ani vysoké koncentrácie ľudských buniek nenarúšali detekciu cieľov HSV-1 a HSV-2. Vysoká koncentrácia HSV-1 (1×10^6 vp/ml) neviedla k falošne pozitívnym výsledkom HSV-2 a vysoká koncentrácia HSV-2 (1×10^6 vp/ml) neviedla k falošne pozitívnym výsledkom HSV-1.

* Všetky baktérie boli kvantifikované ako jednotky tvoriace kolóniu (CFU) okrem *Chlamydia trachomatis* serovar H a *Chlamydia trachomatis* serovar I, ktoré boli kvantifikované ako jednotky tvoriace inklúziu (IFU), *Toxoplasma gondii* a *Treponema pallidum*, ktoré boli kvantifikované ako kópie DNA a *Trichomonas vaginalis*, ktorá bola kvantifikovaná v bunkách. Cytomegalovírus (HHV5), ľudský vírus herpes 6B, kmeň Z29, ľudský vírus herpes 7, kmeň SB, ľudský vírus herpes 8, echovírus 11, ľudský enterovírus 71 a vírus Rubella boli kvantifikované ako jednotky TCID₅₀, HHV-6A, kmeň GS, HSV-1 a HSV-2 boli kvantifikované vo vírusových časticiach, HIV-1, kmeň IIIB a HBV boli kvantifikované v medzinárodných jednotkách (IU). HIV-2, kmeň NIH-Z, vírus Epstein-Barrovej (HHV4), vírus Varicella-Zoster (HHV3) a plazmidy HPV (HPV11, HPV16, HPV18, HPV06) boli kvantifikované ako kópie DNA. Mononukleárne bunky ľudskej periférnej krvi (PBMC) boli kvantifikované ako počet buniek.

Tabuľka 9: Mikroorganizmy a bunky testované z hľadiska analytickej špecifickosti

Ľudský adenovírus typ 7	<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Cytomegalovírus (HHV5)	<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)	<i>Moraxella lacunata</i>
Vírus Epstein-Barrovej (HHV4)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Vírus Varicella-Zoster (HHV3)	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> *
Ľudský vírus herpes 6A, kmeň GS	<i>Escherichia coli</i>	<i>Mycoplasma hominis</i> *
Ľudský vírus herpes 6B, kmeň Z29	<i>Chlamydia trachomatis</i> serovar H*	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Ľudský vírus herpes 7, kmeň SB	<i>Chlamydia trachomatis</i> serovar I	<i>Neisseria meningitidis</i>
Ľudský vírus herpes 8*	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
Echovírus 11	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
Enterovírus 71	<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
HBV	<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
HIV-1, kmeň IIIB	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
HIV-2, kmeň NIH-Z	<i>Enterococcus faecalis</i> vanB	<i>Streptococcus mitis</i>
HPV11	<i>Enterococcus faecium</i> vanA	<i>Streptococcus mutans</i>
HPV16	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
HPV18	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
HPV6	<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
Vírus Rubella	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Treponema pallidum</i> *
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. ozaenae	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	PBMC (ľudská genomická DNA)
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	Vírus herpes simplex 1
<i>Candida albicans</i>	<i>Mobiluncus curtisii</i> spp. <i>curtisii</i>	Vírus herpes simplex 2
<i>Candida glabrata</i>	<i>Mobiluncus mulieris</i>	–

* Ľudský vírus herpes 8 bol testovaný s koncentráciou $1,3 \times 10^4$ TCID₅₀ jedn./ml, *Chlamydia trachomatis* serovar H bol testovaný s koncentráciou $1,9 \times 10^4$ IFU/ml, *Mycoplasma genitalium* bol testovaný s koncentráciou $1,0 \times 10^5$ CFU/ml, *Mycoplasma hominis* bol testovaný s koncentráciou $1,5 \times 10^4$ CFU/ml, *Treponema pallidum* bol testovaný s koncentráciou $9,0 \times 10^4$ kópií/ml.

Interferencia

Dvadsať bežných voľne predajných produktov a antivírusových liekov, ako aj plná krv, ľudský sérový albumín, moč, stolica (výkaly) a hlien bolo testovaných na potenciálnu interferenciu s testom **cobas**® HSV 1 a 2. Všetky voľne predajné produkty boli testované na úrovni alebo nad úrovňou (20 mg alebo 40 mg na jeden tampón pre tuhé látky a 100 % kapacity tampóna v prípade tekutých látok), o ktorej sa dôvodne predpokladá, že sa odoberie do tampóna v rámci odberu vzorky z anogenitálnej lézie. Všetky antivírusové lieky boli testované na úrovni $3 \times C_{max}$ v odobratej vzorke. HSV-1 a HSV-2 boli naočkované na úrovni približne 3-násobku detekčného limitu (LOD) testu **cobas**® HSV 1 a 2 a použili sa v rámci testov ako ciele.

V prípade voľne predajných produktov nebola pozorovaná žiadna interferencia okrem krému Vagisil Crème (interferencia bola pozorovaná pri hodnote 20 mg). Pokiaľ ide o plnú krv, nebola pozorovaná žiadna interferencia až do 40 % kapacity tampóna, v prípade hlienu nebola pozorovaná žiadna interferencia až do hodnoty 4,8 mg na jeden tampón, v prípade moču nebola pozorovaná žiadna

interferencia až do 100 % kapacity tampóna, v prípade výkalov nebola pozorovaná žiadna interferencia až do hodnoty 1,6 mg na jeden tampón a pokiaľ ide o ľudský sérový albumín, žiadna interferencia nebola pozorovaná až do hodnoty 16 mg na jeden tampón. Súhrn týchto výsledkov uvádza Tabuľka 10.

Tabuľka 10: Výsledky testovania rušivých látok

Látka	Interpretácia
Celá krv	Žiadna interferencia nebola pozorovaná až do 40 % kapacity tampónovej tyčinky
Hlien	Žiadna interferencia nebola pozorovaná až do 4,8 mg na jednu tampónovú tyčinku
Moč	Žiadna pozorovaná interferencia
Výkaly	Žiadna interferencia nebola pozorovaná až do 1,6 mg na jednu tampónovú tyčinku
Ľudský sérový albumín	Žiadna interferencia nebola pozorovaná až do 16 mg na jednu tampónovú tyčinku
Želé K-Y Brand (osobný lubrikant)	Žiadna pozorovaná interferencia
Gynol II (antikoncepčné želé)	Žiadna pozorovaná interferencia
Čapíky YeastGard	Žiadna pozorovaná interferencia
Monistat 1	Žiadna pozorovaná interferencia
Monistat 3	Žiadna pozorovaná interferencia
VagiStat 1	Žiadna pozorovaná interferencia
Vaginálny krém Clotrimazole	Žiadna pozorovaná interferencia
Krém na hemoroidy Preparation H	Žiadna pozorovaná interferencia
Prípravok na liečbu oparov Abreva	Žiadna pozorovaná interferencia
Prípravok na liečbu oparov Releev	Žiadna pozorovaná interferencia
Krém Acyclovir	Žiadna pozorovaná interferencia
Vagisil Crème	Interferencia pozorovaná na úrovni 20 mg*
Roztok Balneol Hygienic Cleansing lotion	Žiadna interferencia nebola pozorovaná až do 20 mg*
Krém Vagicaïne Anti-Itch Cream	Žiadna interferencia nebola pozorovaná až do 20 mg*
VH Essentials Douche	Žiadna pozorovaná interferencia
Denavir	Žiadna pozorovaná interferencia
Famciclovir	Žiadna pozorovaná interferencia
Valacyclovir	Žiadna pozorovaná interferencia
Cidofovir	Žiadna pozorovaná interferencia
Acyklovir	Žiadna pozorovaná interferencia

* 20 mg je typické priemerné množstvo netekutého produktu priamo absorbovaného tampónom FLOQ.

Klinická účinnosť na základe klinických vzoriek

Účinnosť testu **cobas**® HSV 1 a 2 bola porovnaná so špičkovým komparátorom testov nukleovej kyseliny (NAAT) so schválením úradom FDA a s označením CE. Od každého pacienta zaradeného do štúdie boli odobraté dve anogenitálne tampónové vzorky. Vzorka na testovanie pomocou testu **cobas**® HSV 1 a 2 bola odobratá pomocou systému MSwab na odber, prepravu a uchovávanie vzoriek a vzorka na test komparátora bola odobratá pomocou univerzálneho vírusového transportného systému COPAN.

Celkom 370 tampónových vzoriek z anogenitálnej lézie bolo odobratých vo viacerých strediskách v Spojených štátoch a tieto vzorky boli testované pomocou testu **cobas**® HSV-1 a 2 a testu komparátora. 33 vzoriek bolo pozitívnych na HSV-1 a 147 vzoriek bolo pozitívnych na HSV-2 na základe výsledkov testu **cobas**® HSV 1 a 2 (výskyt: HSV-1 8,9 %, HSV-2 39,7 %). Účinnosť testu **cobas**® HSV 1 a 2 a komparátora NAT bez vyjasnenia rozporných výsledkov uvádza Tabuľka 11. Rozporné výsledky testu **cobas**® HSV 1 a 2 a komparátora boli vyjasnené sekvencovaním. Po vyjasnení rozporných výsledkov bola citlivosť a špecifickosť testu **cobas**® HSV 1 a 2 odhadnutá a výsledky uvádza Tabuľka 12.

Tabuľka 11: Test **cobas**® HSV 1 a 2 a test komparátora nukleovej kyseliny (NAAT)

HSV-1		Komparátor NAAT		
		Pozitívne vzorky	Negatívne vzorky	Celkom
cobas ® HSV 1 a 2	Pozitívne vzorky	31	2	33
	Negatívne vzorky	1	336	337
	Celkom	32	338	370
		Odhad	95 % jednostranný dolný CI	
Percento pozitívnej zhody		96,9 %	86,0 %	
Percento negatívnej zhody		99,4 %	98,1 %	

HSV-2		Komparátor NAAT		
		Pozitívne vzorky	Negatívne vzorky	Celkom
cobas ® HSV 1 a 2	Pozitívne vzorky	127	20	147
	Negatívne vzorky	0	223	223
	Celkom	127	243	370
		Odhad	95 % jednostranný dolný CI	
Percento pozitívnej zhody		100 %	97,7 %	
Percento negatívnej zhody		91,8 %	88,3 %	

Tabuľka 12: Test cobas® HSV-1 a 2 Test a test komparátora nukleovej kyseliny (NAAT) po vyjasnení rozporných výsledkov

HSV-1		Komparátor NAAT		
		Pozitívne vzorky	Negatívne vzorky	Celkom
cobas® HSV 1 a 2	Pozitívne vzorky	32	1	33
	Negatívne vzorky	0	337	337
	Celkom	32	338	370
		Odhad	95 % jednostranný dolný CI	
Citlivosť*		100 %	91,1 %	
Špecifickosť**		99,7 %	98,6 %	

HSV-2		Komparátor NAAT		
		Pozitívne vzorky	Negatívne vzorky	Celkom
cobas® HSV 1 a 2	Pozitívne vzorky	141	5	146
	Negatívne vzorky	0	223	223
	Celkom	141	228	369**
		Odhad	95 % jednostranný dolný CI	
Citlivosť*		100 %	97,9 %	
Špecifickosť**		97,8 %	95,4 %	

*: za účelom vyjasnenia rozporných výsledkov boli sekvencované iba vzorky s rozpornými výsledkami

** : z analýzy bola vyradená jedna vzorka s rozpornými výsledkami, pre ktorú neboli k dispozícii údaje o sekvencovaní.

Na základe odhadov citlivosti a špecifickosti po vyjasnení rozporných výsledkov formou sekvencovania boli pozorované pozitívne predikatívne hodnoty testu **cobas®** HSV 1 a 2 vzhľadom na študijné vzorky na úrovni 97,0 % pre HSV-1 a 96,8 % pre HSV-2 a negatívne predikatívne hodnoty na úrovni 100 % pre HSV-1 i HSV-2.

Ďalšie informácie

Kľúčové funkcie analýzy

Typ vzorky	Vzorky z anogenitálnej lézie
Požadované množstvo vzorky	1,6 ml média MSwab v primárnej fľaštičke, na test cobas® HSV 1 a 2 sa vyžaduje najmenej 700 µl.
Trvanie testu	Výsledky sú k dispozícii do 2,5 hodiny po vložení vzoriek do systému (1 – 22 vzoriek).
Analytická citlivosť	0,479 TCID ₅₀ jedn./ml pre HSV-1 (kmeň MacIntyre, ATCC VR-539), 0,112 TCID ₅₀ jedn./ml pre HSV-2 (kmeň G, ATCC VR-734)
Špecifickosť	Žiadna krížová reaktivita so 71 úzko súvisiacimi organizmami alebo organizmami, ktoré sa spravidla nachádzajú vo vzorkách z anogenitálnej lézie. Žiadne nesprávne pozitívne výsledky HSV-2 v prítomnosti 1×10^6 vp/ml HSV-1, žiadne nesprávne pozitívne výsledky HSV-1 v prítomnosti 1×10^6 vp/ml HSV-2.
Inkluzivita	5 testovaných kmeňov HSV-1 a 4 testované kmene HSV-2

Symbols

Na označenie diagnostických produktov Roche PCR sa používajú nasledujúce symboly.

Tabuľka 13: Symbols používané na označenie diagnostických produktov Roche PCR

Age/DOB	Vek alebo dátum narodenia		Pomôcka nie je určená na testovanie v blízkosti pacienta	QS IU/PCR	Počet medzinárodných jednotiek QS na PCR; na výpočet výsledkov použite počet medzinárodných jednotiek QS na PCR.
	Prídavný softvér		Pomôcka nie je určená na samotestovanie		
	Priradený rozsah (kópie/ml)		Distribútor (Poznámka: Pod symbolom sa môže uviesť príslušná krajina/oblasť.)	SN	Sériové číslo
	Priradený rozsah (IU/ml)		Nepoužívajte opakovane	Site	Lokalita
EC REP	Autorizované zastúpenie v Európskom spoločenstve		Žena	Procedure Standard	Štandardná procedúra
	Dátový list s čiarovým kódom		Určené len na hodnotenie účinnosti IVD	STERILE EO	Sterilizované etylénoxidom
LOT	Číslo šarže	GTIN	Globálne číslo obchodnej jednotky		Skladovať v tmavom prostredí
	Biologické riziká		Dovozca		Teplotné rozmedzie od do
REF	Katalógové číslo	IVD	Diagnostická zdravotnícka pomôcka in vitro		Testovací definičný súbor
CE	Označenie súladu s normami CE: toto zariadenie spĺňa príslušné požiadavky na označenie CE ako diagnostické zdravotnícke zariadenie in vitro	LLR	Dolný limit stanoveného rozsahu		Týmto smerom hore
Collect Date	Dátum odberu		Male	Procedure UltraSensitive	Ultrasensitive Procedure
			Výrobca	UDI	Jedinečná identifikácia pomôcky
	Prečítajte si návod na použitie	CONTROL -	Negatívna kontrola	ULR	Horný limit stanoveného rozsahu
	Obsah postačuje na <n> testov		Nesterilné	Urine Fill Line	Čiara naplnenia močom



Obsah súpravy



Meno pacienta

Rx Only

Len pre USA:
federálny zákon
obmedzuje predaj
tejto pomôcky lekárom
alebo na základe jeho
predpisu.



Kontrola



Číslo pacienta



Dátum spotreby



Dátum výroby



Tu stiahnite



Pomôcka na
testovanie v blízkosti
pacienta



Pozitívna kontrola



Pomôcka na
samotestovanie



Počet QS kópií na
PCR reakciu, použite
počet QS kópií na
PCR reakciu na
výpočet výsledkov.

Technická podpora

Ak potrebujete technickú podporu (pomoc), obráťte sa na miestne zastúpenie:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Výrobca a dovozca

Tabuľka 14: Výrobca a dovozca



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

Vyrobené v USA



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 68305 Mannheim, Germany

Ochranné známky a patenty

Tento výrobok je chránený jedným alebo viacerými americkými (USA) patentmi s číslom 8097717, 8192958, 10059993, 10358675, 8609340, 9234250 a 6727067a tiež aj zahraničnými ekvivalentnými patentmi každého z predtým uvedených patentov.

COBAS, TAQMAN a AMPERASE sú ochranné známky spoločnosti Roche.

Všetky ostatné názvy výrobkov a ochranné známky sú majetkom príslušných vlastníkov.

Na ochrannú technológiu enzýmu AmpErase® proti kontaminácii sa vzťahuje americký (USA) patent č. 7,687,247 vlastnený spoločnosťou Life Technologies s licenciou udelenou spoločnosťou Roche Molecular Systems, Inc.

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

Autorské práva

© 2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Str. 116
 68305 Mannheim
 Germany



Literatúra

1. Fatahzadeh M, Schwartz RA. Human herpes simplex virus infections: epidemiology, pathogenesis, symptomatology, diagnosis, and management. *J Am Acad Dermatol*. 2007;57(5):737-763; quiz 764-766.
2. Gupta R, Warren T, Wald A. Genital herpes. *Lancet*. 2007;370(9605):2127-2137.
3. Paz-Bailey G, Ramaswamy M, Hawkes SJ, Geretti AM. Herpes simplex virus type 2: epidemiology and management options in developing countries. *Sex Transm Infect*. 2007;83(1):16-22.
4. Xu F, Sternberg MR, Kottiri BJ, et al. Trends in herpes simplex virus type 1 and type 2 seroprevalence in the United States. *JAMA*. 2006;296(8):964-973.
5. Seroprevalence of herpes simplex virus type 2 among persons aged 14-49 years--United States, 2005-2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2010;59(15):456-459.
6. Langenberg AG, Corey L, Ashley RL, Leong WP, Straus SE. A prospective study of new infections with herpes simplex virus type 1 and type 2. Chiron HSV vaccine study group. *N Engl J Med*. 1999;341(19):1432-1438.
7. Lafferty WE, Coombs RW, Benedetti J, Critchlow C, Corey L. Recurrences after oral and genital herpes simplex virus infection. Influence of site of infection and viral type. *N Engl J Med*. 1987;316(23):1444-1449.
8. Engelberg R, Carrell D, Krantz E, Corey L, Wald A. Natural history of genital herpes simplex virus type 1 infection. *Sex Transm Dis*. 2003;30(2):174-177.
9. Benedetti J, Corey L, Ashley R. Recurrence rates in genital herpes after symptomatic first-episode infection. *Ann Intern Med*. 1994;121(11):847-854.
10. Ryan C, Kinghorn G. Clinical assessment of assays for diagnosis of herpes simplex infection. *Expert Rev Mol Diagn*. 2006;6(5):767-775.
11. Scoular A, Gillespie G, Carman WF. Polymerase chain reaction for diagnosis of genital herpes in a genitourinary medicine clinic. *Sex Transm Infect*. 2002;78(1):21-25.
12. Strick LB, Wald A. Diagnostics for herpes simplex virus: is PCR the new gold standard? *Mol Diagn Ther*. 2006;10(1):17-28.
13. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93(1):125-128.
14. 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. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 5th edition. Revised December 2009.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. CLSI document M29-A3 Villanova, PA. Approved guideline-third edition. 2005.
16. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations. 48th edition. 2007.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Viral Culture. CLSI document M41-A Wayne, PA. Approved guideline. 2006.

Revízia dokumentu

Informácie o revízii dokumentu	
Doc. Rev. 3.0 02/2022	Aktualizácia časti Preventívne opatrenia a požiadavky na manipuláciu s cieľom inštruovať používateľa, aby sa obrátil na miestny kompetentný organ. Aktualizácia časti Integrita s cieľom inštruovať používateľa, aby nepoužíval reagentie alebo nádoby, ktoré sú viditeľne poškodené alebo vykazujú známky únikov. Časť Korelácia bola premenovaná na Klinická účinnosť s použitím klinických vzoriek. Pridaný internetový odkaz na súhrn hlásení týkajúcich sa bezpečnosti a účinnosti. Revidované v súlade s nariadením IVDR. Na prvej strane bol vložený symbol Rx Only. Odobraný odkaz na súpravu 06768202190 (stiahnutie z trhu). Aktualizácia časti Ochranné známky a patenty. Aktualizované na názov Ekonomickí operátori. Pridané vyhlásenie o krajine pôvodu. Pridaná časť Technická podpora. Aktualizovaná strana s harmonizovanými symbolmi. V prípade akýchkoľvek otázok sa obráťte na miestneho zástupcu spoločnosti Roche.

Súhrn hlásení týkajúcich sa bezpečnosti a účinnosti môžete nájsť pomocou nasledovného odkazu:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>