

cobas[®] ADV/hMPV/EV-RV UC

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

Til in vitro-diagnostik

cobas[®] ADV/hMPV/EV-RV UC	P/N: 09555625190
cobas[®] ADV/hMPV/EV-RV UC Control Kit	P/N: 09555595190
cobas omni Utility Channel Reagent Kit	P/N: 09052011190
cobas[®] Buffer Negative Control Kit	P/N: 09051953190

Indholdsfortegnelse

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

Evaluering af ikke-klinisk performance 20

Vigtige egenskaber for performance.....	20
Detektionsgrænse (LoD).....	20
Præcision – intra-laboratorium.....	21
Reproducerbarhed.....	22
Inklusivitet.....	23
Analytisk specificitet (krydsreaktivitet og mikrobiel interferens).....	24
Interfererende stoffer.....	25
Co-infektion (kompetitiv interferens).....	25

Evaluering af klinisk performance..... 26**Yderligere oplysninger..... 27**

Vigtige testfunktioner.....	27
Symboler.....	28
Teknisk support.....	28
Producent og importør.....	29
Varemærker og patenter.....	29
Copyright.....	29
Referencer.....	30
Dokumentrevision.....	31

Tilsigtet brug

cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC Qualitative Nucleic Acid-testen til brug med **cobas omni** Utility Channel på **cobas®** 6800/8800 Systems er en automatisk, multiplex, real-time revers transskriptions-polymerase-kædereaktion (RT-PCR)-analyse til rettidig in vitro-kvalitativ detektion af og skelnen mellem human adenovirus (ADV), metapneumovirus (hMPV) og enterovirus/rhinovirus (EV-RV).

Denne test er beregnet som en hjælp til diagnose af og differentiering mellem ADV, hMPV og EV-RV i nasofaryngeale pødeprøver fra patienter med tegn og symptomer på en respiratorisk infektion.

Resultaterne fra **cobas®** ADV/hMPV/EV-RV UC skal fortolkes på baggrund af alle relevante kliniske, epidemiologiske og laboratoriemæssige data. Negative resultater udelukker ikke virusinfektion og bør ikke bruges som eneste grundlag for behandling eller andre beslutninger ifm. patienthåndteringen. Omvendt udelukker positive resultater ikke bakteriel infektion eller coinfection med andre vira. Den påviste agens er muligvis ikke den afgørende sygdomsårsag.

cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC Qualitative Nucleic Acid-testen til brug med **cobas omni** Utility Channel på **cobas®** 6800/8800 Systems er beregnet til professionel brug i et klinisk laboratorium.

Oversigt og forklaring af testen

Baggrund

Akut infektion i luftvejene er den mest almindelige sygdom på verdensplan, uanset alder eller køn¹, og den anden mest hyppige årsag til dødsfald blandt børn under 5 år.² Rettidig identifikation af almindelige respiratoriske non-influenza- og non-SARS-CoV-2-vira hos akut syge personer kan være en hjælp til at undgå omkostningskrævende monitorering, isolation, behandling og indlæggelse.

Humane adenovira er ikke-kapbebærende vira med ikosaedral nukleokapsid indeholdende et dobbeltstrenget DNA-genom. På nuværende tidspunkt er der identificeret otte undergrupper (A-G).³ Adenovira er usædvanligt modstandsdygtige over for kemiske eller fysiske stoffer samt ugunstige pH-forhold, hvilket giver forlænget overlevelse uden for kroppen og vand. Adenovira spredes primært via dråber fra luftvejene. De er udbredt i hele verden og er normalt forbundet med sygdomme som conjunctivitis, gastroenteritis, sygdomme med udslæt, neurologiske sygdomme og luftvejsinfektioner.⁴ Symptomerne på sygdommen afhænger af virussens foretrukne vævstropisme. F.eks. forårsager adenovirus 40 og 41, der tilhører undergruppe F, gastroenteritis, normalt hos børn.⁴ Epidemisk keratoconjunctivitis er forbundet med undergrupperne D og E og luftvejssygdomme er normalt forbundet med arterne B, C eller E.⁵ Smitte med adenovirus sker typisk i barndommen, og virussen kan forblive latent i humant lymfæv i årevis.³

Human metapneumovirus (hMPV) er en RNA-virus i paramyxovirus-familien og kan forårsage respiratorisk sygdom i de øvre og nedre luftveje hos personer i alle aldre, men særligt blandt unge børn, ældre voksne og personer med svækket immunforsvar.⁶ hMPV er det primære ætiologiske smitstof, der er skyld i 5 % til 10 % af indlæggelserne af børn med akutte infektioner i luftvejene. Den første smitte med hMPV sker normalt i den tidlige barndom og kan forårsage bronkiolitis og lungebetændelse, men fornyet smitte er almindeligt gennem hele livet. Pga. den langsomme vækst i virus ved celledyrkning er molekulære metoder, som f.eks. RT-PCR, de foretrukne diagnostiske metoder til detektering af hMPV.⁶

Human rhinovira (RV'er) og enterovira (EV'er) er de hyppigste årsager til smitte hos mennesker. Disse to picornavira har en identisk genomisk opbygning, har ens sekundære funktions-RNA-strukturer og er klassificeret inden for det samme

genus pga. deres høje sekvenshomologi.⁷ På trods af deres fælles genomiske egenskaber har disse to virusgrupper dog forskellige fænotype-egenskaber. *In vivo* er rhinovira begrænset til luftvejene og er ansvarlig for halvdelen af infektionerne i de øvre luftveje (URTI – *Upper Respiratory Tract Infections*) og anses derfor for at være blandt de hyppigst forekommende smittefarlige stoffer for mennesker på verdensplan.⁸ De fleste tilfælde af RV-smitte er benigne, selvbegrænsende forkølelseslignende sygdomme. Disse vira kan dog også forårsage alvorlig lungebetændelse hos ældre og immunkompromitterede patienter samt forværring af KOL og astma.⁸ Enterovira inficerer primært mave-tarmkanalen og kan sprede sig til andre steder, som f.eks. centralnervesystemet. Nogle enterovira, som f.eks. D68, udviser dog specifik respiratorisk tropisme og har dermed egenskaber, der ligner rhinovira.⁹⁻¹¹

Begrundelse for PCR-test

Real-time polymerase-kædereaktion (PCR) er en nukleinsyreamplifikationsmetode, der bruges til at detektere specifikke DNA-sekvenser opnået efter ekstraktion og ved revers transskription af RNA. Real-time PCR-teknologien giver mulighed for en hurtig og specifik måling af tilstedeværelsen af gener fra mikroorganismer, der forbindes med smitsomme sygdomme. En af de primære fordele ved denne teknologi er en kombination af hurtighed og sensitivitet, som antigen-detektion eller virusdyrkning ikke kan måle sig med.^{12, 13}

Forklaring af testen

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

Principper for proceduren

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

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

cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC indeholder ADV-, hMPV- og EV-RV-primere og -prober, der bruges sammen med **cobas omni** Utility Channel Master Mix Reagent 2 (UC MMX-R2) og den 192-test-kassette, der er inkluderet i **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit. 192-test-kassetten indeholder en intern kontrol, der genkendes af de specifikke primere og prober, der er inkluderet i **cobas omni** Utility Channel Master Mix Reagent 2 (UC MMX-R2).

Selektiv amplifikation af target-nukleinsyre fra prøven og den positive kontrol opnås ved brug af target-virusspecifikke forward og reverse primere, som er udvalgt blandt konserverede regioner i ADV- (kapsidprotein-forstadie pVI og terminal protein-forstadie pTP), hMPV- (matrixprotein) og EV-RV-gener (polyprotein). Selektiv amplifikation af den interne RNA-kontrol opnås ved brug af ikke-konkurrerende sekvensspecifikke forward og reverse primere, som ikke har nogen homologi med ADV-, hMPV- og EV-RV-genomerne. Amplificeret target detekteres ved kløvning af en fluorescensmærket oligonukleotid probe. Der anvendes et DNA-polymerase-enzym til amplifikation.

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

Reagenser og materialer

De medfølgende materialer til cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC findes i Tabel 1. Nødvendige men ikke medfølgende materialer findes i Tabel 2, Tabel 3, Tabel 4, Tabel 5 og Tabel 9.

cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC-reagenser og -kontroller

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

Tabel 1 cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC (primere og prober)

Opbevares ved 2-8 °C

(P/N 09555625190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit 192 tests
ADV/hMPV/EV-RV UC PP	10 mM Tris, 0,1 mM EDTA, 0,09 % natriumazid, upstream og downstream primere for ADV, hMPV, EV-RV, fluorescensmærkede oligonukleotidprober, der er specifikke for ADV, hMPV, EV-RV	1 × 0,65 ml

Tabel 2 cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC Control Kit

Opbevares ved 2-8 °C

(P/N 09555595190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit
ADV/hMPV/EV-RV UC (+) C	0,005 % v/v lineær syntetisk ADV, MPV og EV/RV DNA i 99,9 % w/v diluent bestående af 0,05 % w/v natriumazid, 20 µg/ml Poly rA, 0,10 mM EDTA, 10 mM Tris, pH 8,0	16 ml (10 × 1,6 ml)

Tabel 3 cobas omni Utility Channel Reagent Kit (UC)

Opbevares ved 2-8 °C
(P/N 09052011190)

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

Tabel 4 cobas® Buffer Negative Control Kit

Opbevares ved 2-8 °C
(P/N 09051953190)

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

cobas omni-reagenser til prøveforberedelse

Tabel 5 cobas omni-reagenser til prøveforberedelse*

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

* Disse reagenser er ikke inkluderet i cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC-kittet. Se listen over yderligere påkrævede materialer (Tabel 8).

** Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

*** Biologisk farlig stof.

Krav til opbevaring og håndtering af reagenser

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

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

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

Reagens	Opbevaringstemperatur
cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC ^a	2-8 °C
cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC Control Kit	2-8 °C
cobas omni Utility Channel Reagent Kit	2-8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2-8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2-8 °C
cobas omni MGP Reagent	2-8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2-8 °C
cobas omni Wash Reagent	15-30 °C

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

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

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

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

^a Reagenser til engangsbrug

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

Yderligere nødvendige materialer

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

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

Påkrævede instrumenter og software

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

Tabel 9 Instrumenter

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

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

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

Krav til forholdsregler og håndtering

Advarsler og forholdsregler

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

- Kun til *in vitro*-diagnostik brug.
- **cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC** er ikke evalueret til brug som en screeningstest for tilstedeværelsen af ADV, hMPV og EV-RV i andre prøver end NPS-prøver.
- Alle patientprøver skal håndteres som smittefarligt materiale ved brug af gode laboratorieprocedurer som dem, der er beskrevet i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories og i CLSI-dokumentet M29-A4.^{14, 15} Denne procedure må kun udføres af medarbejdere, der er uddannet i brugen af **cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC** og **cobas® 6800/8800 Systems**.
- Alt materiale, der stammer fra mennesker, skal betragtes som potentielt smittefarligt og skal håndteres med generelle sikkerhedsforanstaltninger. Hvis der spildes materiale, skal det berørte område straks desinficeres med en nyfremstillet 0,5 % opløsning af natriumhypoklorit i destilleret eller deioniseret vand (fortyndet blegemiddel 1:10), eller de relevante procedurer for laboratoriet følges.
- Det anbefales at bruge sterile engangspipetter og nukleasefri pipettespidser. Brug kun medfølgende eller specificerede forbrugsartikler for at sikre testens optimale performance.
- Der kan rekvireres sikkerhedsdatablade (SDS'er) ved henvendelse til den lokale Roche-repræsentant.
- Følg de angivne procedurer og retningslinjer nøje, så testen udføres korrekt. Eventuelle afvigelser fra procedurerne og retningslinjerne kan påvirke den optimale performance for testen.
- Der kan forekomme falsk-positive resultater, hvis krydskontaminering ikke kontrolleres tilstrækkeligt under håndtering og behandling af prøver.
- Informer den lokale kompetente myndighed om eventuelle alvorlige hændelser, der kan opstå ved brug af denne analyse.

Håndtering af reagenser

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

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

God laboratoriepraksis

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

Indsamling, transport og opbevaring af prøver

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

Opbevar alle prøver ved de angivne temperaturer.

Prøvernes stabilitet påvirkes af forhøjede temperaturer.

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

Prøvetagning

- Nasofaryngeale prøver skal tages i henhold til den standardmæssige prøvetagningsteknik ved hjælp af pødepinde med fløjlsstruktur-spids og straks anbringes i 3 ml UTM-RT, UVT eller tilsvarende.
- Se brugsanvisningen til prøvetagningsbeholderne for oplysninger om farer.

Transport og opbevaring

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

Brugsanvisning

Procedurebemærkninger

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

Kørsel af cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC

cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC kan køres med en minimumsprøvevolumen på 0,6 ml i det sekundære cobas omni-rør til prøver, der er indsamlet i UTM-RT, UVT eller tilsvarende.

Figur 1 cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC-testprocedure

1	Log på systemet Tryk på Start for at forberede systemet Bestil test
2	Genopfyld reagenser og forbrugsartikler som angivet af systemet: • Indsæt den testspecifikke reagenskassette • Indsæt kontrollkassetter • Indsæt pipettespidser • Indsæt processeringsplader • Indsæt MGP-reagens • Indsæt amplifikationsplader • Genopfyld prøvediluent • Genopfyld lysisreagens • Genopfyld vaskereagens
3	Indsæt prøver i systemet: • Indsæt prøverackene og rackene til clottede spidser i prøveforsyningsmodulet • Bekræft, at prøverne er blevet accepteret i transfermodulet
4	Start kørslen ved at vælge knappen til manuel start (Start manually) i brugerinterfacet, eller få den til at starte automatisk efter 120 minutter, eller hvis batchen er fuld
5	Gennemse og eksportér resultater
6	Fjern og sæt om nødvendigt låg på de prøverør, der opfylder den påkrævede mindstevolumen, til fremtidig brug Rengør instrumentet: • Udtag tomme kontrollkassetter • Tøm plastikbeholder med amplifikationsplader • Tøm flydende affald • Tøm fast affald

Forberedelse af reagenskassetten

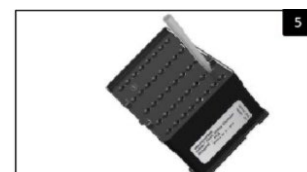
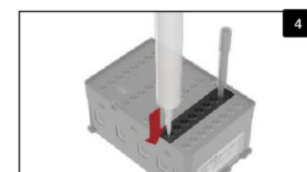
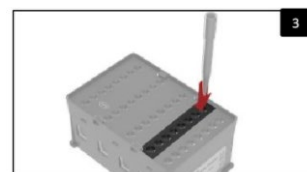
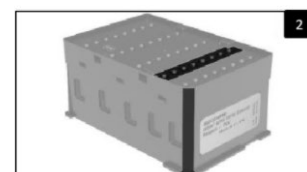
PCR MMX R2 forberedes med en blanding af Master Mix Reagent 2 (UC MMX-R2) og **cobas**® ADV/hMPV/EV-RV UC-primere og -prober, der kommer i det pågældende **cobas omni** Utility Channel Reagent-kits 192-test-kassette.

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



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

- Placer reagenskassetten ved at placere den skrå kant ved det nedre højre hjørne (se billede 2).
Bemærk! Den anden række fra højre side indeholder den tomme MMX-beholder.
- Placer en 1 ml pipettespids i det øverste membran hul i række 2 (se billede 3).
Bemærk! Pipettespidsen giver mulighed for tilpasning af lufttrykket i beholderen under tilsætning af den forberedte PCR Mix.
- Tag en doseringspipette med en 10 ml pipettespids. Fyld pipettespidsen med 9,7 ml af den forberedte PCR Mix.
- Indsæt den klargjorte pipette i det nederste membran hul i reagenskassetten.
Gennembor membranen dybt nok til, at der ikke spildes noget i række 2 (se billede 4).
- Vip reagenskassetten til en vinkel på 45° i længderetningen fra bunden. Sørg for, at kassetten vippes langs den kant, hvor pipetten med spidsen på 10 ml indsættes (se billede 5).
- Pipetter langsomt og forsigtigt 9,7 ml af den forberedte PCR Mix gennem den nederste membran i den tomme beholder i række 2 (se billede 5). Afpipetter om muligt den forberedte PCR Mix i én enkelt bevægelse. Sørg for, at der pipetteres den korrekte mængde forberedt PCR Mix.
- Sørg for, at der ikke er noget væske i pipettespidsen til 1 ml, og fjern den fra membranen.
Bemærk! Hvis der er væske i spidsen, skal du dreje spidsen forsigtigt for at frigøre væsken fra spidsen og tilbage i kassetten. Hvis der stadig er væske i spidsen til 1 ml, skal du gøre følgende: Brug doseringspipetten med en spids til 10 ml, og fjern noget af den pipetterede PCR Mix fra kassettebeholderen, indtil der ikke er noget væske tilbage i spidsen til 1 ml. Pipetter langsomt og forsigtigt eventuel væske i pipettespidsen til 10 ml tilbage i beholderen. Når begge spidser er tomme, kan spidserne fjernes fra kassetten.
- Vip langsomt reagenskassetten 20 gange for at fjerne eventuelle luftbobler fra den nyligt fyldte beholder (se billede 6).



- På mærkatet til 192-test-dokumentet for **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit angives analysenavnet (**cobas**® ADV/hMPV/EV-RV UC), forberedelsesdatoen for kassetten, lotnummeret for de anvendte analysekit-primere og -prober (P&P Mix Lot) og markering af afkrydsningsfeltet "P&P Added" for at bekræfte, at der er tilsat primer- og probeblanding.

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

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

Forbered prøver og kontroller

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

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

Bemærk! Hvis der benyttes frosne NPS-prøver, skal prøverne placeres ved stuetemperatur, indtil de er fuldstændig optøede, og vortexes i 35 sekunder før brug.

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

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

Brug altid en ny pipettespids til hver prøve.

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

Definer bestillingen af test

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

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

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

Resultater

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

Kvalitetskontrol og resultater af validitet for kørsel

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

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

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

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

Tabel 10 Fortolkning af validitet for kørsel og resultat

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

Fortolkning af resultater

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

Resultaterne og den tilhørende fortolkning til detektion af ADV, hMPV og EV-RV er vist nedenfor (Tabel 11).

Tabel 11 Fortolkning af resultater for **cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC**

Target 1 (MPV)	Target 2 (ADV)	Target 3 (EVRV)	Fortolkning
MPV Negativ	Enhver	Enhver	Target-resultatet for MPV er validt. Resultatet for MPV RNA er "Not Detected".
MPV Ct-værdi	Enhver	Enhver	Target-resultatet for MPV er validt. Resultatet for MPV RNA er "Detected".
Invalidt	Enhver	Enhver	Target-resultatet for MPV er invalidt. Prøven skal testes igen. Hvis resultatet stadig er invalidt, skal der tages en ny prøve.
Enhver	ADV Negativ	Enhver	Target-resultatet for ADV er validt. Resultatet for ADV DNA er "Not Detected".
Enhver	ADV Ct-værdi	Enhver	Target-resultaterne for ADV er valide. Resultatet for ADV DNA er "Detected".
Enhver	Invalidt	Enhver	Target-resultatet for ADV er invalidt. Prøven skal testes igen. Hvis resultatet stadig er invalidt, skal der tages en ny prøve.
Enhver	Enhver	EVRV Negativ	Target-resultatet for EVRV er validt. Resultatet for EVRV RNA er "Not Detected".
Enhver	Enhver	EVRV Ct-værdi	Target-resultaterne for EVRV er valide. Resultatet for EVRV RNA er "Detected".
Enhver	Enhver	Invalidt	Target-resultatet for EVRV er invalidt. Prøven skal testes igen. Hvis resultatet stadig er invalidt, skal der tages en ny prøve.
Invalidt	Invalidt	Invalidt	Ingen af target-resultaterne er valide. Prøven skal testes igen. Hvis resultatet stadig er invalidt, skal der tages en ny prøve.

Begrænsninger ved procedurerne

- **cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC** er kun evalueret til brug sammen med **cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC Control Kit**, **cobas omni Utility Channel Reagent Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit**, **cobas omni MGP Reagent**, **cobas omni Lysis Reagent**, **cobas omni Specimen Diluent** og **cobas omni Wash Reagent** til brug på **cobas® 6800/8800 Systems**.
- Analysen er kun beregnet til brug med UC_AMER USAP fra Roche.
- Pålidelige resultater er afhængige af korrekte procedurer til prøvetagning, -opbevaring og -håndtering.
- Denne test er beregnet til detektion af ADV, hMPV og EV-RV (serotyper/arter er beskrevet i inklusivitetsundersøgelse for vurdering af ikke-klinisk performance) i nasofaryngeale podeprøver, der er indsamlet i UTM-RT, UVT eller tilsvarende. Test af andre prøvetyper med **cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC** kan medføre unøjagtige resultater.
- Detektion af ADV-, hMPV- og EV-RV-nukleinsyre kan påvirkes af prøvetagningsmetoder, patientfaktorer (f.eks. forekomst af symptomer) og/eller infektionsstadiet.

- Som med enhver molekylær test kan mutationer i target-regionerne i **cobas**® ADV/hMPV/EV-RV UC påvirke primere og/eller probebindingsresultater, hvilket medfører manglende evne til at detektere virussen.
- Der kan forekomme falsk-negative eller invalide resultater pga. interferens. Den interne kontrol er inkluderet i **cobas**® ADV/hMPV/EV-RV UC (i **cobas omni** Utility Channel Reagent Kit) for at hjælpe med at identificere de prøver, der indeholder stoffer, som kan påvirke isoleringen af nukleinsyrer og PCR-amplifikation.
- Tilsætningen af AmpErase-enzym til **cobas omni** Utility Channel Master Mix-reagenset aktiverer den selektive amplifikation af target-nukleinsyre. Kontaminering fra reagenser kan dog kun undgås med god laboratoriepraksis og nøje overholdelse af de procedurer, der er angivet i denne brugervejledning.

Evaluering af ikke-klinisk performance

Vigtige egenskaber for performance

Detektionsgrænse (LoD)

Detektionsgrænserne for **cobas**® ADV/hMPV/EV-RV UC blev bestemt ved at analysere serielle fortyndinger af hMPV A1_9-, ADV C2- og Cox A21-stammer leveret og kvantificeret i TCID₅₀/ml (ZeptoMetrix) i en pool med ADV-hMPV-EV-RV-negative NPS-prøver. Paneler med seks koncentrationsniveauer inkl. et negativt panelmedlem blev testet med tre reagenslot **cobas**® ADV/hMPV/EV-RV UC (Tabel 12). Undersøgelsen påviste, at **cobas**® ADV/hMPV/EV-RV UC detekterer hMPV A1_9, ADV C2 og Cox A21 ved de respektive koncentrationer på 0,81, 3,29 og 2,05 TCID₅₀/ml (Tabel 13).

Tabel 12 LoD-bestemmelse

Virusstamme	Kitlot	LoD _{95 %} [TCID ₅₀ /ml]	LoD på 95 % CI [TCID ₅₀ /ml]	Hit rate ≥ 95 % [TCID ₅₀ /ml]	Gnsn. Ct ved ≥ 95 % hit rate
hMPV A1_9	Lot 1	0,27	0,27-0,27	0,67	42,40
	Lot 2	0,81	0,45-1,17	2,00	38,80
	Lot 3	0,23	0,23-0,23	0,67	41,43
	Lot 1-3	0,57	0,43-0,72	0,67	42,21
ADV C2	Lot 1	2,23	1,57-2,90	5,00	34,68
	Lot 2	3,29	1,57-5,00	5,00	34,37
	Lot 3	2,39	1,58-3,19	5,00	34,02
	Lot 1-3	2,61	1,58-3,64	5,00	34,36
Cox A21	Lot 1	1,48	0,17-2,78	1,67	36,60
	Lot 2	2,05	0-7,03	5,00	34,28
	Lot 3	1,62	0,34-2,89	1,67	35,86
	Lot 1-3	0,65	0-1,93	1,67	36,23

Tabel 13 Oversigt over LoD for mindst sensitive reagenslot

Virusstamme	Matrix	LoD _{95 %}	Nedre – Øvre LoD _{95 %}
hMPV A1_9	NPS	0,81 TCID ₅₀ /ml	0,45-1,17
ADV C2	NPS	3,29 TCID ₅₀ /ml	1,57-5,00
Cox A21	NPS	2,05 TCID ₅₀ /ml	0-7,03

Præcision – intra-laboratorium

Præcisionen af cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC blev bestemt ved at analysere to koncentrationer ($3 \times$ og $5 \times$ LoD_{95 %}) af ADV C2-, hMPV A1_9- og Cox A21-isolaterne tilsat enkeltvist i UTM suppleret med relevante koncentrationer af genomisk DNA og mucin for at efterligne NPS-prøven (UTM Matrix). Prøverne blev testet over fem dage med tre cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC-reagenslot og af tre brugere på ét instrument. Hver af prøverne blev kørt igennem hele cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC-proceduren på et fuldautomatisk cobas® 6800/8800 Systems. Resultaterne vises i Tabel 14.

Tabel 14 Oversigt over præcision

Target	Tilsat koncentrations-niveau	Variabilitet mellem brugere			Variabilitet mellem cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC-reagenslot			Variabilitet mellem dag/kørsler		
		Gnsn. Ct	SD	CV (%)	Gnsn. Ct	SD	CV (%)	Gnsn. Ct	SD	CV (%)
ADV C2	$3 \times$ LoD _{95 %}	31,91	0,09	0,28	32,07	0,21	0,65	31,90	0,27	0,85
	$5 \times$ LoD _{95 %}	30,18	0,11	0,38	30,11	0,26	0,88	30,12	0,21	0,69
hMPV A1_9	$3 \times$ LoD _{95 %}	37,88	0,17	0,46	36,97	0,44	1,20	37,26	1,03	2,76
	$5 \times$ LoD _{95 %}	33,59	0,27	0,81	33,70	0,09	0,26	33,35	1,06	3,18
Cox A21	$3 \times$ LoD _{95 %}	34,74	0,15	0,44	34,47	0,20	0,58	34,39	0,14	0,40
	$5 \times$ LoD _{95 %}	32,68	0,21	0,65	32,89	0,13	0,41	32,73	0,49	1,49

Reproducerbarhed

Reproducerbarheden af cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC blev bestemt ved at teste positive panelmedlemmer ved to koncentrationer ($3 \times$ og $5 \times \text{LoD}_{95\%}$) af ADV-, hMPV- og Cox A21-stammer separat tilsat i UTM Matrix. Prøverne blev testet på to instrumenter/lokaliteter. Hver af prøverne blev kørt igennem hele cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC-proceduren på et fuldautomatisk cobas® 6800/8800 Systems. Resultaterne vises i Tabel 15.

Tabel 15 Oversigt over reproducerbarhed

Target	Tilsat koncentrationsniveau	Reproducerbarhed		
		Gnsn. Ct	SD	CV (%)
ADV	$3 \times \text{LoD}_{95\%}$	32,14	0,45	1,40
	$5 \times \text{LoD}_{95\%}$	30,54	0,33	1,08
hMPV	$3 \times \text{LoD}_{95\%}$	37,91	0,17	0,46
	$5 \times \text{LoD}_{95\%}$	34,18	0,61	1,78
Cox A21	$3 \times \text{LoD}_{95\%}$	35,07	0,29	0,82
	$5 \times \text{LoD}_{95\%}$	33,01	0,14	0,42

Inklusivitet

Ti ADV-stammer (arterne B, C og E), otte hMPV-stammer (serotyperne A1, A2, B1 og B2), syv RV-stammer (RV-arterne A og B) og ti EV-stammer (EV-arterne A, B, C og D) blev testet ved $3 \times \text{LoD}_{95\%}$ i UTM Matrix. Resultaterne viser, at cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC detekterer de stammer, der er angivet i Tabel 16.

Tabel 16 Oversigt over inklusivitet

Target-patogen	Isolat
ADV	ADV B3
	ADV B7
	ADV B11
	ADV B14
	ADV B21
	ADV C1
	ADV C2
	ADV C5
	ADV C6
	ADV E4
hMPV	hMPV9 A1
	hMPV16 A1
	hMPV27 A2
	hMPV 3 B1
	hMPV 5 B1
	hMPV 4 B2
	hMPV 8 B2
	hMPV 18 B2
EV-RV	Rhinovirus B14
	Rhinovirus A16
	Rhinovirus B42
	Rhinovirus B70
	Rhinovirus A80
	Rhinovirus A2
	Rhinovirus 1A
	Coxsackievirus A21
	Coxsackievirus A10
	Enterovirus 68
	Echovirus 6
	Echovirus 9
	Echovirus 11
	Enterovirus 71
	Coxsackievirus B3
	Coxsackievirus B4
	Coxsackievirus A9

Analytisk specificitet (krydsreaktivitet og mikrobiel interferens)

Den analytiske specificitet for cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC blev evalueret ved at fortynde vira, bakterier og svampe eller gær (vist i Tabel 17) med og uden ADV C2-, hMPV A1_9- og Cox A21-stammer (co-formuleret ved $3 \times \text{LoD}_{95\%}$) i UTM Matrix. Vira blev testet ved enten $1,00\text{E}+04$ eller $1,00\text{E}+05$ TCID₅₀/ml eller c/ml. Bakterier, svampe og gær blev testet ved $1,00\text{E}+06$ CFU/ml, IFU/ml eller CCU/ml. Ingen af disse non-target-patogener interfererede med performance for cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC. Der blev påvist i alt 100 % negative resultater med cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC for alle ADV-/hMPV-/EV-RV-negative prøver og 100 % positive resultater for alle ADV-/hMPV-/EV-RV-positive prøver.

Tabel 17 Mikroorganismer, der er testet for analytisk specificitet/krydsreaktivitet

Navn på mikroorganisme	Testet koncentration
<i>Aspergillus fumigatus</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
<i>Candida albicans</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	$1,00\text{E}+06$ IFU/ml
Coronavirus-SARS-Cov-2	$1,00\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
Cytomegalovirus (CMV)	$1,00\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Epstein-Barr-virus (EBV)	$1,00\text{E}+05$ kopier/ml
<i>Escherichia coli</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
<i>Haemophilus influenzae</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
Herpes simplex-virus 1 (HSV-1)	$1,00\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Herpes simplex-virus 2 (HSV-2)	$1,00\text{E}+04$ TCID ₅₀ /ml
Influenzavirus A H1N1	$1,00\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Influenzavirus B	$1,00\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
<i>Legionella pneumophila</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
Mæslingevirus	$1,00\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
<i>Moraxella catarrhalis</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
Fåresygevirus	$1,00\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
<i>Mycobacterium avium</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	$1,00\text{E}+06$ CCU/ml
<i>Neisseria elongata</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
<i>Neisseria meningitidis</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
Parainfluenza 1	$1,00\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Parainfluenza 2	$1,00\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Parainfluenza 3	$1,00\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Parainfluenza 4 b	$1,00\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
Respiratorisk syncytialvirus A (RSV-A)	$1,00\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
Respiratorisk syncytialvirus B (RSV-B)	$1,00\text{E}+05$ TCID ₅₀ /ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
<i>Streptococcus pyogenes</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
<i>Streptococcus salivarius</i>	$1,00\text{E}+06$ CFU/ml
Varicella-Zoster-virus (VZV)	$1,00\text{E}+05$ kopier/ml

Interfererende stoffer

Effekten af potentielt interfererende stoffer på performance for **cobas**® ADV/hMPV/EV-RV UC blev evalueret ved at teste ti eksogene og to endogene stoffer med og uden ADV-, hMPV-, EV-RV-stammer i UTM Matrix (co-formuleret ved $3 \times \text{LoD}_{95\%}$). Både de endogene og eksogene stoffer blev testet ved klinisk relevante koncentrationer (Tabel 18). Ingen af disse stoffer interfererede med performance for **cobas**® ADV/hMPV/EV-RV UC ved de testede koncentrationer. Der blev påvist i alt 100 % negative resultater med **cobas**® ADV/hMPV/EV-RV UC for alle ADV-, hMPV-, EV-RV-negative prøver og 100 % positive resultater for alle ADV-, hMPV-, EV-RV-positive prøver.

Tabel 18 Endogene og eksogene stoffer, der er testet for interferens

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

Co-infektion (kompetitiv interferens)

Co-infektionsfrekvensen blandt patienter med luftvejssymptomer kan være høj, særligt for co-infektioner med rhinovira/enterovira som beskrevet i litteraturen.^{16, 17} Der blev testet ét target med lav koncentration ($3 \times \text{LoD}_{95\%}$) co-inficeret med to targets med høj koncentration ($1000 \times \text{LoD}_{95\%}$). Referencen med enkeltvist beriget target ($3 \times \text{LoD}_{95\%}$) og de negative NPS-prøver blev også testet. Resultaterne viser, at **cobas**® ADV/hMPV/EV-RV UC kan detektere ADV-, hMPV- og EV-RV-targets enten enkeltvist eller som co-spiked tilstand.

Evaluering af klinisk performance

Performance for cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC blev evalueret ved sammenligning med tre CE-IVD-kits for detektion af ADV (Diagenode R-DiaADV), hMPV (Diagenode R-DiaRes) og EV-RV (Altona RealStar Enterovirus PCR Kit 1.0) internt ved hjælp af arkiverede nasofaryngeale podeprøver (NPS).

Den kliniske evalueringsundersøgelse inkluderede 188 prøver inkl. 96 forudvalgte kliniske NPS-prøver med kendt status og 92 kliniske NPS-prøver med ukendt status.

Som vist i Tabel 19 påviste cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC en høj procentoverensstemmelse med komparatortesten til detektion af ADV, hMPV og EV-RV.

Tabel 19 Oversigt over klinisk performance for cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC

Virus	Antal prøver	Testresultater				Overensstemmelsesstatistik		
		Samstemmende positiv (N)	Afvigende positiv (N)	Samstemmende negativ (N)	Afvigende negativ (N)	Overensstemmelsesparameter	Procentoverensstemmelse (%)	95 % CI (LCL, UCL)*
ADV	186	22	4	159	1	PPA	95,7 %	(79,0 %, 99,2 %)
						NPA	97,5 %	(93,9 %, 99,0 %)
hMPV	188	22	2	164	0	PPA	100,0 %	(85,1 %, 100,0 %)
						NPA	98,8 %	(95,7 %, 99,7 %)
EV-RV	188	40	7	139	2	PPA	95,2 %	(84,2 %, 98,7 %)
						NPA	95,2 %	(90,4 %, 97,7 %)

* To prøver blev udeladt fra analysen, da de blev bekræftet som tilhørende til ADV-arterne D og F.

Der blev observeret afvigende resultater mellem cobas® ADV/hMPV/EV-RV UC og sammenligningsanalyserne for 16 prøver. For ADV var der 4 afvigende positive resultater, hvor sekventeringen ikke gav resultater, der kunne fortolkes, men 1 af de 4 blev bekræftet ADV-positiv af leverandøren. Den afvigende negative ADV-prøve blev sekvenseret, men resultaterne kunne ikke fortolkes. For hMPV blev de 2 afvigende positive prøver sekvenseret men gav ikke resultater, der kunne fortolkes. En af disse 2 positive prøver blev bekræftet hMPV-positiv af leverandøren. For EV-RV havde 3 blandt de 7 sekvenserede afvigende positive prøver resultater, der kunne fortolkes og blev bekræftet som værende positive for RV. Sekventeringsresultaterne kunne ikke fortolkes for 4 prøver, men leverandøren bekræftede 3 af disse som værende EV-RV-positive. De 2 afvigende negative resultater blev bekræftet ER/RV-positive af leverandøren.

Yderligere oplysninger

Vigtige testfunktioner

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

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

Symboler

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

Tabel 20 Symboler, der er anvendt på etiketter til Roche PCR-diagnostiske produkter

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

Teknisk support

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

Producent og importør

Tabel 21 Producent og importør



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

Fremstillet i USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Varemærker og patenter

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

Copyright

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referencer

1. Monto AS. Epidemiology of viral respiratory infections. *Am J Med.* 2002;112 Suppl 6A:4s-12s. PMID: 11955454.
2. Murray CJL, Lopez AD, Mathers CD, Stein C. The Global Burden of Disease 2000 Project: Aims, Methods and Data Sources. Global Programme on Evidence for Health Policy Discussion Paper No. 36. Rev. November 2001. World Health Organization. Available at: <https://www.who.int/healthinfo/paper36.pdf>. Accessed: 05-MAR-2022.
3. Lion T. Adenovirus infections in immunocompetent and immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27:441-62. PMID: 24982316.
4. World Health Organization. Chapter 6 – Viruses. In: *Water Recreation and Disease. Plausibility of Associated Infections: Acute Effects, Sequelae and Mortality* by Kathy Pond. IWA Publishing, London, UK. Available at: https://www.who.int/water_sanitation_health/bathing/recreadischap6.pdf. Accessed 05-MAR-2022.
5. Ghebremedhin B. Human adenovirus: Viral pathogen with increasing importance. *Eur J Microbiol Immunol (Bp).* 2014;4:26-33. PMID: 24678403.
6. Panda S, Mohakud NK, Pena L, Kumar S. Human metapneumovirus: Review of an important respiratory pathogen. *Int J Infect Dis.* 2014;25:45-52. PMID: 24841931.
7. Tapparel C, Junier T, Gerlach D, et al. New complete genome sequences of human rhinoviruses shed light on their phylogeny and genomic features. *BMC Genomics.* 2007;8:224. PMID: 17623054.
8. Royston L, Tapparel C. Rhinoviruses and respiratory enteroviruses: Not as simple as ABC. *Viruses.* 2016;8. PMID: 26761027.
9. Dufresne AT, Gromeier M. A nonpolio enterovirus with respiratory tropism causes poliomyelitis in intercellular adhesion molecule 1 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:13636-41. PMID: 15353596.
10. Kujawski SA, Midgley CM, Rha B, et al. Enterovirus D68-Associated Acute Respiratory Illness – New Vaccine Surveillance Network, United States, July-October, 2017 and 2018. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2019;68:277-80. PMID: 30921299.
11. Oberste MS, Maher K, Schnurr D, et al. Enterovirus 68 is associated with respiratory illness and shares biological features with both the enteroviruses and the rhinoviruses. *J Gen Virol.* 2004;85:2577-84. PMID: 15302951.
12. Kuypers J, Wright N, Ferrenberg J, et al. Comparison of real-time PCR assays with fluorescent-antibody assays for diagnosis of respiratory virus infections in children. *J Clin Microbiol.* 2006;44:2382-8. PMID: 16825353.
13. Mahony JB. Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev.* 2008;21:716-47. PMID: 18854489.
14. 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.
15. 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.
16. Lee J. Mixed respiratory viral infections in children with adenoviral infections. *Infect Chemother.* 2016;48:347-9. PMID: 28032489.
17. Al-Turab M, Chehadeh W, Al-Mulla F, Al-Nakib W. Human metapneumovirus in patients with respiratory tract infection in Kuwait. *J Med Virol.* 2011;83:1811-7. PMID: 21837799.

Dokumentrevision

Oplysninger om dokumentrevision	
Doc Rev. 1.0 03/2022	Første udgivelse.
Doc Rev. 2.0 05/2022	Afsnittet Tilsigtet brug er opdateret til at inkludere brugen af testen som en hjælp til diagnose af og differentiering mellem ADV, hMPV og EV-RV. Fejl i tabel 10 rettet. Der er rettet typografiske fejl flere steder i dokumentet. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.