

cobas[®] EBV

Teste quantitativo de ácidos nucleicos para utilização nos sistemas cobas[®] 5800/6800/8800

Para diagnóstico *in vitro*

cobas[®] EBV

P/N: 09040943190

Para utilização no sistema cobas[®] 5800

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

Para utilização nos sistemas cobas[®] 6800/8800

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 08688214190 ou
P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190 ou
P/N: 09051953190

Índice

Utilização prevista	4
Resumo e explicação do teste	4
Reagentes e materiais	7
Reagentes e controlos do cobas® EBV	7
Reagentes cobas® omni para preparação da amostra	10
Requisitos de armazenamento de reagentes	11
Requisitos de manuseamento de reagentes para o sistema cobas® 5800 ou sistemas cobas® 6800/8800	11
Materiais adicionais exigidos para os sistemas cobas® 5800/6800/8800	12
Equipamentos e software necessários	13
Precauções e requisitos de manuseamento	14
Advertências e precauções	14
Manuseamento de reagentes	15
Boas práticas de laboratório	15
Colheita, transporte e armazenamento de amostras	16
Amostras	16
Instruções de utilização	17
Notas do procedimento	17
Execução do cobas® EBV nos sistemas cobas® 5800/6800/8800	18
Resultados	20
Controlo de qualidade e validade dos resultados no sistema cobas® 5800 e nos sistemas cobas® 6800/8800 com a versão 2.0 de software ou superior	20
Controlo de qualidade e validade dos resultados na versão do software 1.4 dos sistemas cobas® 6800/8800	20
Sinalizadores de controlo nos sistemas cobas® 6800/8800 com versão 1.4 do software	21
Interpretação de resultados para sistemas cobas® 5800/6800/8800	21
Interpretação de resultados no sistema cobas® 5800 e no cobas® 6800/8800 com versão 2.0 ou superior do software	22

Interpretação de resultados nos sistemas cobas® 6800/8800 com versão 1.4 do software	22
Limitações do procedimento	22
Avaliação do desempenho não clínico	23
Equivalência dos sistemas	23
Características principais do desempenho.....	23
Limite de detecção (LoD)	23
Intervalo linear	24
Precisão – intralaboratorial	25
Verificação de genótipos.....	26
Especificidade.....	26
Especificidade analítica	27
Especificidade analítica – substâncias interferentes.....	28
Correlação de métodos	28
Falha global do sistema	29
Contaminação cruzada	29
Avaliação do desempenho clínico	30
Reprodutibilidade do cobas® EBV	30
Desempenho do cobas® EBV	31
Informações adicionais	34
Características principais do teste.....	34
Símbolos	35
Apoio técnico.....	36
Fabricante e importador.....	36
Marcas comerciais e patentes	36
Direitos de autor.....	36
Bibliografia	37
Revisão do documento	38

Utilização prevista

O cobas® EBV é um teste *in vitro* de amplificação de ácidos nucleicos para a quantificação do ADN do vírus Epstein-Barr (EBV) em plasma EDTA humano nos sistemas cobas® 5800/6800/8800.

O cobas® EBV destina-se a ser utilizado como uma ajuda no diagnóstico e gestão de EBV em pacientes de transplante. Em pacientes sujeitos a monitorização de EBV, determinações em série de ADN podem ser utilizadas para indicar a potencial necessidade de alterações e avaliar a resposta viral ao tratamento.

Os resultados do cobas® EBV devem ser interpretados no contexto de todos os resultados clínicos e laboratoriais relevantes.

Resumo e explicação do teste

Fundamentos

Os recetores de transplantes têm um risco aumentado de muitas infeções virais e bacterianas que têm maior probabilidade de provocar efeitos adversos graves para a saúde na população de pacientes de transplante comparativamente com a população geralmente saudável. Este risco aumentado é parcialmente atribuível à função diminuída do sistema imunitário conferido pela medicação imunossupressora que os pacientes de transplante recebem para reduzir a sua probabilidade de rejeição do excerto.^{1,2}

O EBV é um membro da família do vírus do herpes. É um vírus (ADN) de ácido desoxirribonucleico envelopado, de dupla cadeia (~172 kb). Dois genótipos EBV principais, tipo 1 e tipo 2, têm sido definidos pelas diferenças no gene EBNA-2. As infeções por EBV em humanos são bastante comuns; mais de 90% dos adultos estão infetados e a infeção latente persiste para o resto da vida. O EBV causa mononucleose infeciosa num subconjunto de adolescentes e adultos recentemente infetados e é associado a vários tipos de cancro, incluindo o cancro nasofaríngeo, Linfoma de Burkitt e linfoma de Hodgkin. O EBV pode ser a causa de transtornos linfoproliferativos em pessoas com imunodeficiência congénita ou adquirida, incluindo recetores de transplante e pacientes com vírus da imunodeficiência humana/síndrome da imunodeficiência adquirida (HIV/SIDA).³

Em recetores de transplante, o EBV pode provocar doenças através da reativação do vírus latente das células de memória B ou através de uma nova infeção primária, especialmente em recetores de transplante negativos para EBV, que recebem implantes de dadores positivos para EBV.³ Para esses pacientes, a forma mais grave de doença associada a EBV é a desordem linfoproliferativa pós-transplante (DLPT), que resulta da proliferação descontrolada dos linfócitos, tipicamente células B.⁴ No geral, > 70% de casos de DLPT de entre os recetores de transplante estão associados a infeção por EBV. O risco mais elevado de DLPT ocorre durante o primeiro ano após o transplante e >90% dos casos de DLPT que ocorrem durante este período estão associados ao EBV. Até 20% de casos de DLPT que ocorrem após o primeiro ano de pós-transplante são negativos para EBV.^{4,5}

Os fatores de risco de DLPT de início precoce incluem o estado serológico negativo para EBV do recetor do transplante, idade mais jovem, exposição a anticorpos destruidores de linfócitos e tipo de órgão transplantado.^{5,6}

A identificação precoce de infeções primárias por EBV e monitorização de nível de ADN pode apoiar uma intervenção terapêutica imediata para evitar a progressão para doença associada a EBV. As diretivas recomendam monitorização regular do EBV com testes quantitativos de ácidos nucleicos (NAT), especialmente em recetores de transplante que são negativos para EBV em pacientes de transplante de elevado risco.^{4,5} Embora o limite viral exato medicamente relevante

ainda esteja sujeito a debate devido à variabilidade entre ensaios, o conceito de limite crítico parece válido e foi referido nos estudos de história natural, mostrando que os níveis mais elevados de ADN de EBV estão relacionados com o aumento do risco de desenvolvimento de doenças por EBV e DLPT.^{4,5,7} Ambos os tipos de amostra de plasma e de sangue total foram utilizados para os testes de EBV, mas as provas sugerem que o plasma é mais específico na deteção da DLPT.^{4,5,7,8}

As intervenções terapêuticas comuns para reduzir os níveis de ADN do EBV e prevenir o aparecimento da DLPT incluem a redução das doses de medição de imunossupressão e tratamento com anticorpos destruidores de células B.⁷ A terapia preventiva para reduzir os níveis de ADN do EBV é bem-sucedida na maioria dos pacientes, apesar de até 20% dos pacientes ainda poder vir a desenvolver DLPT, especialmente os que têm mais de um ano de pós-transplante.⁷

A maioria dos testes laboratoriais de quantificação de EBV não está padronizada, o que resultou em variabilidade interlaboratorial e entre ensaios em resultados de nível de ADN e impede a comparação de níveis de ADN gerados a partir de diferentes laboratórios e testes.⁷ Para resolver este problema, a OMS criou um padrão internacional para a quantificação EBV, permitindo testes padronizados para reportar em UI/ml.⁹ A avaliação formal da reprodutibilidade e a validade dos níveis de ADN do EBV é crítica para assegurar resultados consistentes entre laboratórios para melhorar a gestão clínica dos pacientes com risco elevado de desenvolvimento de doenças associadas a EBV e DLPT.

Fundamentos dos testes NAT

As serologias de EBV do dador e recetor são determinadas antes do transplante para ajudar a determinar o risco de complicações relacionadas com EBV de um paciente de transplante, mas a serologia não é suficientemente sensível ou precisa para monitorizar pacientes após o transplante. Os métodos de cultura do EBV são lentos e apresentam um valor de previsão baixo neste cenário. A deteção direta de ADN do EBV através de PCR em tempo real oferece uma vasta gama dinâmica, precisão e elevada sensibilidade e especificidade.

Explicação do teste

O cobas® EBV é um teste quantitativo que é executado nos sistemas cobas® 5800/6800/8800. O cobas® EBV permite a deteção e quantificação do ADN do EBV em plasma EDTA de pacientes infetados. A carga viral é quantificada em comparação com um padrão de quantificação de ADN sem EBV (DNA-QS), que é introduzido em cada amostra durante o processamento de amostras. O DNA-QS funciona também para monitorizar toda a preparação de amostras e o processo de amplificação por PCR. Adicionalmente, o teste utiliza três controlos externos: um positivo de título elevado, um positivo de título baixo e um controlo negativo. Os controlos externos positivo alto e positivo baixo são fabricados por diluição a partir de material de stock com um título em conformidade com o 1.º padrão internacional da OMS para o EBV (código NIBSC: 09/260). Cada lote de kit de amplificação/deteção é calibrado em conformidade com o 1.º padrão internacional da OMS para EBV (código NIBSC: 09/260).

Princípios do procedimento

O **cobas**® EBV baseia-se na preparação de amostras totalmente automática (extração e purificação dos ácidos nucleicos) seguida de amplificação por PCR e detecção. O sistema **cobas**® 5800 é concebido como um equipamento integrado. Os sistemas **cobas**® 6800/8800 são constituídos pelo módulo de abastecimento de amostras, o módulo de transferência, o módulo de processamento e o módulo analítico. A gestão automática de dados é executada pelo software dos sistemas **cobas**® 5800 ou **cobas**® 6800/8800, que atribui resultados de teste a todos os testes, que podem ser Target Not Detected (alvo não detetado), detetado ADN do EBV < LLoQ (limite inferior de quantificação), detetado ADN do EBV > ULoQ (limite superior de quantificação) ou um valor no intervalo linear $LLoQ < x < ULoQ$. Os resultados podem ser revistos diretamente no ecrã do sistema e podem ser exportados e impressos como um relatório.

O ácido nucleico de amostras de pacientes e moléculas lambda DNA-QS adicionadas são extraídas em simultâneo. Em resumo, os ácidos nucleicos virais são libertados ao adicionar proteinase e reagente de lise à amostra. Os ácidos nucleicos libertados ligam-se à superfície de sílica das partículas de vidro magnéticas adicionadas. As substâncias não ligadas e impurezas, tais como proteínas desnaturadas, detritos celulares e potenciais inibidores da PCR, são removidas com os posteriores passos com reagente de lavagem e os ácidos nucleicos purificados são eluídos das partículas de vidro com tampão de eluição a alta temperatura.

A amplificação seletiva do ácido nucleico alvo a partir da amostra é conseguida através da utilização de uma abordagem específica de vírus-alvo dual a partir de regiões altamente conservadas do EBV localizado no gene EBNA-1 do EBV e no gene BMRF do EBV. A amplificação seletiva de DNA-QS é conseguida através da utilização de primers senso e anti-senso específicos da sequência-alvo que são selecionados para que não tenham qualquer homologia com o genoma do EBV. É utilizada uma enzima de polimerase do ADN termoestável para a amplificação. As sequências-alvo e de DNA-QS são amplificadas simultaneamente utilizando um perfil de amplificação por PCR universal com passos e número de ciclos de temperatura predefinidos. A mistura principal inclui trifosfato de desoxiuridina (dUTP), em vez de trifosfato de desoxitimidina (dTTP), que é incorporado no ADN acabado de sintetizar (amplicon).¹⁰⁻¹² Qualquer amplicon contaminante de corridas de PCR anteriores é eliminado pela enzima AmpErase, que é incluída na mistura principal da PCR, quando aquecido durante o primeiro passo do ciclo térmico. No entanto, os amplicons acabados de formar não são eliminados, uma vez que a enzima AmpErase fica inativa quando exposta a temperaturas acima dos 55 °C.

A mistura principal do **cobas**® EBV contém duas sondas de deteção específicas para as sequências-alvo de EBV e uma para o DNA-QS. As sondas estão marcadas com corantes reporter fluorescentes específicos do alvo que permitem a deteção simultânea de alvo de EBV e de DNA-QS em dois canais-alvo diferentes.^{13, 14} O sinal fluorescente das sondas intactas é suprimido pelo corante supressor. Durante o passo de amplificação por PCR, a hibridização da sonda com o ADN alvo específico, em cadeia simples, resulta na sua clivagem, pela atividade nuclease 5' a 3' da polimerase do ADN, originando a separação dos corantes de sinalização e de supressão e a geração de um sinal fluorescente. Com cada ciclo da PCR, são geradas quantidades crescentes de sondas clivadas, aumentando concomitantemente o sinal cumulativo do corante reporter. A deteção e a discriminação em tempo real dos produtos da PCR são conseguidas medindo a fluorescência dos corantes sinalizadores libertados para os alvos virais e para o DNA-QS.

Reagentes e materiais

Reagentes e controlos do cobas® EBV

Os materiais fornecidos para o cobas® EBV encontram-se na Tabela 1. Os materiais necessários, mas não fornecidos, encontram-se indicados desde a Tabela 2 à Tabela 4 e desde a Tabela 8 à Tabela 9.

Todos os reagentes e controlos não abertos devem ser armazenados conforme recomendado na Tabela 1 até à Tabela 4.

Tabela 1 cobas® EBV

cobas® EBV

Conservar entre 2 e 8 °C

Cassete de 192 testes (P/N 09040943190)

Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit 192 testes
Solução de proteinase (PASE)	Tampão Tris, < 0,05% de EDTA, cloreto de cálcio, acetato de cálcio, 8% de proteinase, glicerol EUH210: Ficha de segurança fornecida a pedido. EUH208: Contém subtilisina do <i>Bacillus subtilis</i> . Pode desencadear uma reação alérgica.	22,3 ml
Padrão de quantificação de ADN (DNA QS)	Tampão Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% estrutura de ADN não EBV contendo uma região de ligação de primer não EBV e uma região de sonda única (ADN não infeccioso), < 0,002% de ARN de Poli rA (sintético), < 0,1% de azida de sódio	21,2 ml
Tampão de Eluição (EB)	Tampão Tris, 0,2% de 4-hidroxibenzoato de metilo	21,2 ml
Reagente 1 da Mistura Principal (MMX-R1)	Acetato de manganês, hidróxido de potássio, < 0,1% de azida de sódio	7,5 ml
Reagente Master Mix 2 de EBV (EBV MMX-R2)	Tampão de tricina, acetato de potássio, < 18% de sulfóxido de dimetilo, glicerol, < 0,1% de Tween 20, EDTA, < 0,12% de dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01% de primers senso e anti-senso do EBV, < 0,01% primers senso e anti-senso do padrão de quantificação, < 0,01% de sondas de oligonucleótido marcadas com fluorescência específicas do EBV e do padrão de quantificação do EBV, < 0,01% aptâmero oligonucleotídico, < 0,01% de polimerase do ADN Z05D, < 0,10% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilase) (de origem microbiana), < 0,1% de azida de sódio	9,7 ml

Tabela 2 cobas® EBV/BKV Control Kit**cobas® EBV/BKV Control Kit**

Conservar entre 2 e 8 °C

Para utilização no sistema cobas® 5800 e nos sistemas cobas® 6800/8800 com a versão de software 2.0 ou superior (P/N 09040951190)

Para utilização nos sistemas cobas® 6800/8800 com a versão do software 1.4 (P/N 08688214190 ou P/N 09040951190)

Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança*
Controlo positivo baixo EBV/BKV (EBV/BKV L(+))C)	< 0,001% de ADN do EBV sintético (plasmídeo) bacteriófago Lambda encapsulado em proteína, plasma humano normal, ADN do EBV não detetável por métodos de PCR < 0,1% de conservante ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	 <p>ADVERTÊNCIA</p> <p>H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. H412: Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P362 + P364: Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar. P501: Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de eliminação de resíduos aprovada. 55965-84-9 Massa de reação de: 5-cloro-2-metil-4 isotiazolina-3-ona e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).</p>
Controlo positivo alto EBV/BKV (EBV/BKV H(+))C)	< 0,001% de ADN do EBV sintético (plasmídeo) bacteriófago Lambda encapsulado em proteína, plasma humano normal, ADN do EBV não detetável por métodos de PCR < 0,1% de conservante ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	 <p>ADVERTÊNCIA</p> <p>H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. H412: Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P362 + P364: Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar. P501: Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de eliminação de resíduos aprovada. 55965-84-9 Massa de reação de: 5-cloro-2-metil-4 isotiazolina-3-ona e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).</p>

* A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE

** Substância ou mistura perigosa.

Tabela 3 cobas® Buffer Negative Control Kit**cobas® Buffer Negative Control Kit**

Conservar entre 2 e 8 °C

Para utilização no sistema cobas® 5800 e nos sistemas cobas® 6800/8800 com a versão de software 2.0 ou superior (P/N 09051953190)

Para utilização nos sistemas cobas® 6800/8800 com a versão do software 1.4 (P/N 07002238190 ou P/N 09051953190)

Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit
cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)	Tampão Tris, < 0,1% de azida de sódio, EDTA, 0,002% de ARN de Poli rA (sintético)	16 ml (16 × 1 ml)

Reagentes cobas® omni para preparação da amostra

Tabela 4 Reagente para preparação da amostra cobas® omni

Reagentes	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança*
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997546190)	Partículas de vidro magnéticas, tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida de sódio	480 testes	Não aplicável
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997511190)	Tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida de sódio	4 × 875 ml	Não aplicável
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997538190)	43% (p/p) de tiocianato de guanidina**, 5% (p/v) de polidocanol**, 2% (p/v) de ditioneitol**, citrato de sódio dihidratado	4 × 875 ml	 <p>PERIGO</p> <p>H302 + H332: Nocivo por ingestão e por inalação. H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. H411: Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. EUH032: Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial/proteção auditiva. P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água. P304 + P340 + P310: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. P305 + P351 + P338 + P310: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. P391: Recolher o produto derramado. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p>
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Conservar entre 15 e 30 °C (P/N 06997503190)	Citrato de sódio dihidratado, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo	4,2 l	Não aplicável

* A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE

** Substância ou mistura perigosa.

Requisitos de armazenamento de reagentes

Os reagentes deverão ser armazenados e manuseados conforme especificado na Tabela 5, Tabela 6 e Tabela 7.

Quando os reagentes não estiverem carregados no sistema **cobas**® 5800 ou nos sistemas **cobas**® 6800/8800, armazene-os à temperatura correspondente especificada na Tabela 5.

Tabela 5 Armazenamento de reagentes (quando o reagente não se encontra no sistema)

Reagente	Temperatura de armazenamento
cobas ® EBV	2 a 8 °C
cobas ® EBV/BKV Control Kit	2 a 8 °C
cobas ® Buffer Negative Control Kit	2 a 8 °C
cobas ® omni Lysis Reagent	2 a 8 °C
cobas ® omni MGP Reagent	2 a 8 °C
cobas ® omni Specimen Diluent	2 a 8 °C
cobas ® omni Wash Reagent	15 a 30 °C

Requisitos de manuseamento de reagentes para o sistema **cobas**® 5800 ou sistemas **cobas**® 6800/8800

Os reagentes carregados no sistema **cobas**® 5800 ou sistemas **cobas**® 6800/8800 são armazenados a temperaturas apropriadas e as datas de validade são controladas pelo sistema. O sistema permite que sejam usados reagentes apenas se todas as condições de manuseamento indicadas na Tabela 6, Tabela 7 e Tabela 8 forem satisfeitas. O sistema impede automaticamente a utilização de reagentes expirados. A restante estabilidade do kit aberto e do número de kits usa informações para reagentes específicos para o ensaio está acessível através da interface de utilizador do sistema.

Tabela 6 Condições de manuseamento do reagente monitorizadas e exigidas pelo sistema **cobas**® 5800

Reagente	Estabilidade do kit aberto	Número de utilizações do kit	Estabilidade a bordo do equipamento
cobas ® EBV	90 dias desde a primeira utilização	40	36 dias desde o carregamento
cobas ® EBV/BKV Control Kit	frasco de utilização única*	8	36 dias desde o carregamento
cobas ® Buffer Negative Control Kit	frasco de utilização única	16	36 dias desde o carregamento

Tabela 7 Condições de manuseamento de reagentes exigidas pelos sistemas **cobas**® 6800/8800

Reagente	Estabilidade do kit aberto	Número de utilizações do kit	Estabilidade a bordo do equipamento (a bordo do equipamento fora do frigorífico)
cobas ® EBV	90 dias desde a primeira utilização	40	40 horas
cobas ® EBV/BKV Control Kit	frasco de utilização única	8	8 horas
cobas ® Buffer Negative Control Kit	frasco de utilização única	16	10 horas

Tabela 8 mostra a estabilidade do kit aberto dos reagentes **cobas® omni**. Antes de cada corrida, o sistema verifica a estabilidade do kit aberto e garante volume de enchimento suficiente. Por isso, estes reagentes não têm número de utilizações do kit nem estabilidade a bordo atribuída.

Tabela 8 Condição de manuseamento do reagente **cobas® omni** monitorizada e exigida pelos sistemas **cobas® 5800/6800/8800**

Reagente	Estabilidade do kit aberto
cobas® omni Lysis Reagent	30 dias desde o carregamento
cobas® omni MGP Reagent	30 dias desde a primeira utilização
cobas® omni Specimen Diluent	30 dias desde o carregamento
cobas® omni Wash Reagent	30 dias desde o carregamento

Materiais adicionais exigidos para os sistemas **cobas® 5800/6800/8800**

Tabela 9 Materiais para utilização nos sistemas **cobas® 5800/6800/8800**

Material	P/N
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190

Tabela 10 Consumíveis para utilização no sistema **cobas® 5800***

Material
cobas® omni Processing Plate 24
cobas® omni Liquid Waste Plate 24
cobas® omni Amplification Plate 24
Ponta CORE TIPS com filtro, 1 ml
Ponta CORE TIPS com filtro, 300 µL
cobas® omni Liquid Waste Container
Saco de resíduos sólidos ou saco de resíduos sólidos com inserto
Suporte S de tubos de 16 posições completo
Suporte de racks de 5 posições

* Para números de peças, consulte a Assistência ao utilizador para o sistema **cobas® 5800**

Tabela 11 Consumíveis para utilização nos sistemas **cobas®** 6800/8800*

Material
cobas® omni Processing Plate
cobas® omni Amplification Plate
cobas® omni Pipette Tips
cobas® omni Liquid Waste Container
Saco de resíduos sólidos e reservatório de resíduos sólidos ou saco de resíduos sólidos com inserto e gaveta de kit

* Para números de peças, consulte a Assistência ao utilizador para os sistemas **cobas®** 6800/8800

Equipamentos e software necessários

O software **cobas®** 5800, o software **cobas®** 6800/8800 e o pacote de análise **cobas®** EBV (ASAP) para os sistemas **cobas®** 5800/6800/8800 têm de ser instalados.

Para o software dos sistemas **cobas®** 5800 e **cobas®** 6800/8800 2.0 ou superior, o software x800 Data Manager e o PC (ou servidor) serão fornecidos com o sistema.

Para a versão 1.4 do software dos sistemas **cobas®** 6800/8800, o servidor Instrument Gateway (IG) será fornecido com o sistema.

Tabela 12 Equipamentos

Equipamento	P/N
Sistema cobas® 5800	08707464001
Sistema cobas® 6800	05524245001 e 09575154001
Sistema cobas® 8800	05412722001 e 09575146001
Módulo de abastecimento de amostras dos sistemas cobas® 6800/8800	06301037001 e 09936882001

Consulte a Assistência ao utilizador para informações adicionais acerca do sistema **cobas®** 5800 ou dos sistemas **cobas®** 6800/8800.

Nota: contacte o representante local da Roche para uma lista de pedidos detalhada de tubos de amostra primários e secundários, racks de amostras, racks para pontas obstruídas e suportes de racks aceites nos equipamentos.

Precauções e requisitos de manuseamento

Advertências e precauções

À semelhança do que sucede com qualquer procedimento de teste, boas práticas de laboratório são essenciais para um desempenho adequado deste ensaio. Em virtude da elevada sensibilidade deste teste, deverão ser tomadas as devidas precauções para manter os reagentes e as misturas de amplificação livres de contaminação.

- Apenas para diagnóstico *in vitro*.
- O cobas® EBV não foi avaliado para utilização como teste de rastreio da presença de EBV em sangue ou em produtos sanguíneos.
- Todas as amostras de paciente deverão ser manuseadas como se estivessem infetadas, utilizando boas práticas de laboratório, conforme descrito em Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e no documento M29-A4 do CLSI.^{15, 16} Este procedimento só deve ser efetuado por pessoal com experiência no manuseamento de material com risco biológico e na utilização dos sistemas cobas® EBV e cobas® 5800/6800/8800.
- Todos os materiais de origem humana devem ser considerados potencialmente infecciosos e devem ser manipulados com as precauções universais. Se ocorrer derrame, desinfete imediatamente com uma solução preparada de fresco de hipoclorito de potássio ou de sódio a 0,5% em água destilada ou desionizada ou siga os procedimentos apropriados do laboratório.
- O cobas® EBV/BKV Control Kit contém plasma derivado de sangue humano. O material de origem foi submetido a testes por métodos de PCR e apresentou vestígios aceitáveis de níveis baixos de ADN do EBV. Nenhum método de teste conhecido pode oferecer uma garantia completa de que os produtos derivados do sangue humano não transmitirão agentes infecciosos.
- **Não congele sangue total ou quaisquer amostras armazenadas em tubos primários.**
- Para garantir o desempenho ideal do teste, utilize apenas os materiais consumíveis necessários fornecidos ou especificados.
- Estão disponíveis Folhas de Dados de Segurança (FDS) que podem ser solicitadas ao representante local da Roche.
- Para garantir que o teste é executado corretamente, siga rigorosamente os procedimentos e diretrizes fornecidos. Qualquer desvio destes procedimentos e diretrizes poderá afetar o desempenho ideal do teste.
- Poderão ocorrer resultados falsos positivos se, durante o manuseamento e processamento das amostras, o carryover de amostras não for controlado adequadamente.
- Se for derramado líquido que contenha cloridrato de guanidina, limpe-o com detergente de laboratório adequado e água. Se o líquido derramado contiver agentes potencialmente infecciosos, limpe **PRIMEIRO** a área afetada com detergente laboratorial e água e, em seguida, com hipoclorito de potássio ou de sódio a 0,5%.
- Uma vez que > 90% dos adultos são portadores crónicos do EBV que podem conter até 10⁸ cópias/ml de EBV na sua saliva, e dada a alta sensibilidade do teste, é importante implementar nos laboratórios medidas adequadas de controlo de contaminação.¹⁷
- Informe as autoridades competentes locais e o fabricante sobre quaisquer incidentes graves que possam ocorrer ao utilizar este ensaio.

Manuseamento de reagentes

- Para evitar carryover de amostras ou controlos, manipule todos os reagentes, controlos e amostras de acordo com as boas práticas de laboratório.
- Inspeccione visualmente todas as cassetes de reagente, diluentes, reagente de lise e reagente de lavagem, antes dos mesmos serem utilizados, para se certificar de que não existem quaisquer sinais de fugas. Se existir algum indício de fuga, não utilize esse material para testes.
- O **cobas® omni** Lysis Reagent contém tiocianato de guanidina, um produto químico potencialmente perigoso. Evite o contacto dos reagentes com a pele, os olhos ou com membranas mucosas. Em caso de contacto, lave imediatamente a zona afetada com água abundante para evitar queimaduras.
- Os kits de teste **cobas® EBV**, o **cobas® omni** MGP Reagent e o **cobas® omni** Specimen Diluent contêm azida de sódio como conservante. Evite o contacto dos reagentes com a pele, os olhos ou com membranas mucosas. Em caso de contacto, lave imediatamente a zona afetada com água abundante para evitar queimaduras. No caso de derrame destes reagentes, dilua com água antes de passar com um pano para secar.
- Não permita que **cobas® omni** Lysis Reagent, que contém tiocianato de guanidina, entre em contacto com solução de hipoclorito de potássio ou de sódio. Esta mistura pode produzir um gás altamente tóxico.
- Elimine todos os materiais que tenham entrado em contacto com amostras e reagentes, de acordo com regulamentações nacionais, estaduais e locais.

Boas práticas de laboratório

- Não efetue pipetagem com a boca.
- Não coma, não beba nem fume nas áreas de trabalho.
- Use luvas de laboratório, bata de laboratório e proteção ocular quando manusear amostras e reagentes. Para evitar contaminação, as luvas têm de ser trocadas entre o manuseamento de amostras e dos **cobas® EBV** kits, EBV/BKV Low Positive Control (EBV/BKV L(+))C), EBV/BKV High Positive Control (EBV/BKV H(+))C), **cobas®** Buffer Negative Control (BUF (-)) C) e de reagentes **cobas® omni**. Evite contaminar as luvas quando manusear amostras e controlos.
- Lave muito bem as mãos depois de manusear amostras e reagentes do kit, e depois de retirar as luvas.
- Limpe e desinfete cuidadosamente todas as superfícies de trabalho do laboratório com uma solução preparada de fresco de hipoclorito de potássio ou de sódio a 0,5% em água desionizada ou destilada. Em seguida esfregue a superfície com um pano com etanol a 70%.
- Se ocorrerem derrames no equipamento **cobas® 5800** ou **cobas® 6800/8800**, siga as instruções indicadas na Assistência ao utilizador dos sistemas **cobas® 5800** ou dos sistemas **cobas® 6800/8800** para limpar e descontaminar a superfície do(s) equipamento(s) de forma adequada.

Colheita, transporte e armazenamento de amostras

Nota: manuseie todas as amostras e controlos tendo em conta a possibilidade de transmitirem agentes infecciosos.

Armazene todas as amostras às temperaturas especificadas.

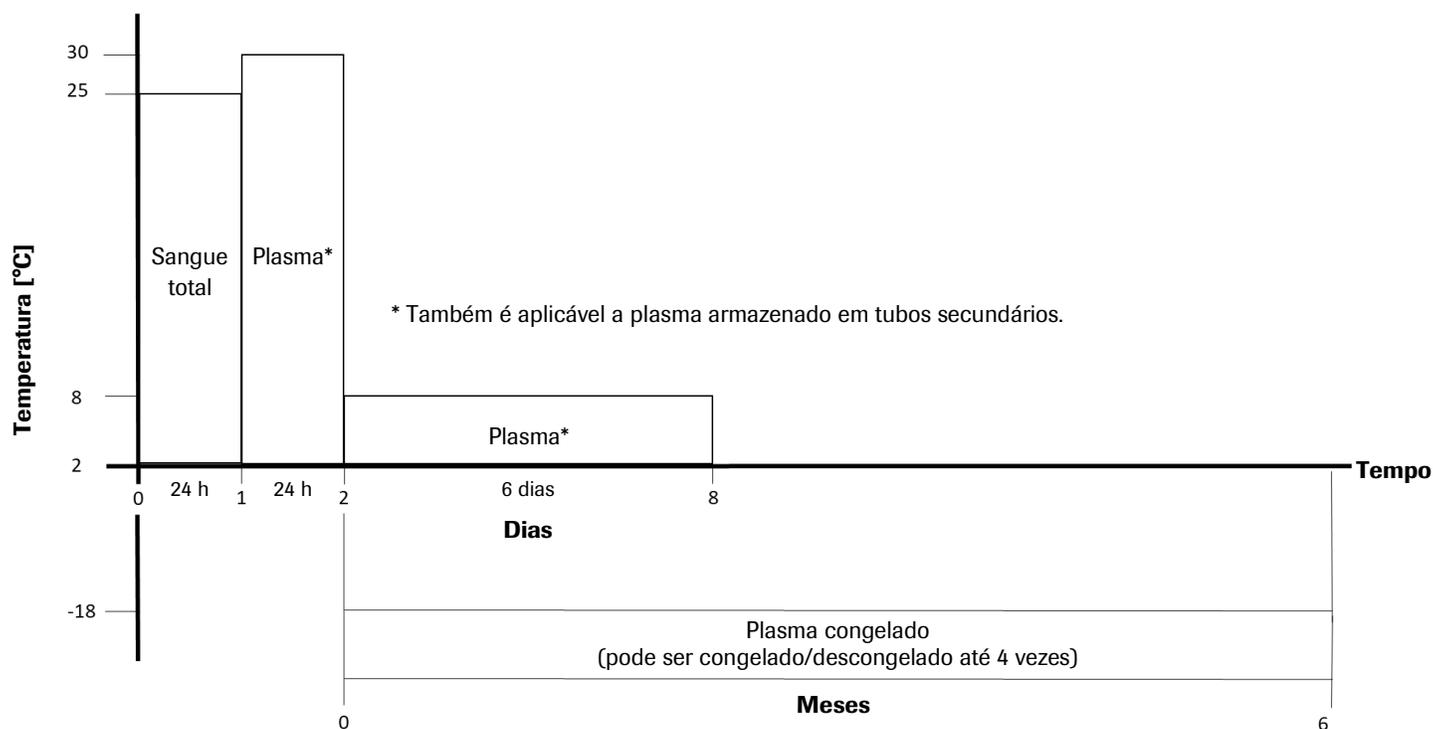
A estabilidade das amostras é afetada por altas temperaturas.

Se utilizar amostras congeladas em tubos secundários, coloque as amostras à temperatura ambiente (entre 15 e 30 °C) até ficarem completamente descongeladas e, em seguida, misture rapidamente (por ex., com agitação forte durante 3 a 5 segundos) e centrifugue para colher todo o volume de amostra no fundo do tubo.

após a centrifugação, se houver hipótese de se encontrarem células ressuspensas no plasma, considere a possibilidade efetuar uma nova centrifugação, antes de processar no equipamento.

Amostras

- O sangue total deve ser colhido em tubos de preparação de plasma para métodos de teste de diagnóstico molecular BD Vacutainer® PPT™ ou em tubos esterilizados que utilizem EDTA como anticoagulante. Siga as instruções do fabricante dos tubos de amostra. Consulte a Figura 1.
- O sangue total recolhido em tubos de preparação de plasma para métodos de teste de diagnóstico molecular BD Vacutainer® PPT™ ou em tubos esterilizados que utilizem EDTA como anticoagulante pode ser armazenado e/ou transportado durante até 24 horas entre 2 e 25 °C antes da preparação do plasma. A centrifugação deve ser desempenhada de acordo com as instruções do fabricante.
- Após a separação, as amostras de plasma podem ser guardadas durante 24 horas, entre 2 a 30 °C em tubos primários ou secundários, seguido de:
 - Armazenamento em tubos primários ou secundários durante até 6 dias, entre 2 a 8 °C.
 - Armazenamento em tubos secundários durante até 6 meses, a ≤ -18 °C.
- As amostras de plasma são estáveis até quatro ciclos de congelamento/descongelamento a ≤ -18 °C.

Figura 1 Condições de armazenamento de amostras

- Caso seja necessário expedir amostras, estas devem ser embaladas e rotuladas em conformidade com os regulamentos locais e/ou internacionais aplicáveis ao transporte de amostras e agentes etiológicos.

Instruções de utilização

Notas do procedimento

- Não utilize reagentes do **cobas® EBV**, do **cobas® EBV/BKV Control Kit**, do **cobas® Buffer Negative Control Kit** ou do **cobas® omni** depois de expirados os respectivos prazos de validade.
- Não reutilize consumíveis. Os consumíveis são para uma única utilização.
- O **cobas® EBV** pode ser executado com um volume de amostra mínimo de 350 µl dos quais 200 µl são processados.

Execução do cobas® EBV nos sistemas cobas® 5800/6800/8800

- A operação do equipamento está descrita detalhadamente na Assistência ao utilizador do sistema **cobas® 5800** ou dos sistemas **cobas® 6800/8800**.
- Para a manutenção adequada do equipamento, consulte a Assistência ao utilizador do sistema **cobas® 5800** ou dos sistemas **cobas® 6800/8800**.
- Certifique-se de que as etiquetas de código de barras dos tubos de amostra estão visíveis através das aberturas laterais das racks de amostras MPA ou RD5. Para as especificações corretas dos códigos de barras e informações adicionais sobre o carregamento de tubos de amostra, consulte a Assistência ao utilizador do sistema **cobas® 5800** ou dos sistemas **cobas® 6800/8800**.

Figura 2 Procedimento do teste **cobas® EBV** no sistema **cobas® 5800**

1	Iniciar sessão no sistema
2	Carregar amostras no sistema: <ul style="list-style-type: none"> • Carregar racks de amostras no sistema • O sistema prepara automaticamente • Pedir testes
3	Reabastecer reagentes e consumíveis conforme pedido pelo sistema: <ul style="list-style-type: none"> • Carregar a(s) cassete(s) de reagente específica(s) do teste • Carregar mini racks de controlo • Carregar pontas de processamento • Carregar pontas de eluição • Carregar placas de processamento • Carregar placas de resíduos líquidos • Carregar placas de amplificação • Carregar cassete com MGP • Reabastecer diluente de amostras • Reabastecer reagente de lise • Reabastecer reagente de lavagem
4	Inicie a corrida premindo o botão de iniciar processamento na interface de utilizador; todas as corridas subsequentes iniciarão automaticamente se não forem adiadas manualmente
5	Rever e exportar os resultados
6	Retirar e colocar a tampa nos tubos de amostra que cumprem os requisitos mínimos de volume se necessário para utilização futura Limpar o equipamento: <ul style="list-style-type: none"> • Descarregar mini racks de controlo vazias • Descarregar a(s) cassete(s) de reagente específica(s) do teste • Esvaziar gaveta de placas de amplificação já utilizadas • Esvaziar o reservatório de resíduos líquidos • Esvaziar o reservatório de resíduos sólidos

Figura 3 Procedimento de teste cobas® EBV nos sistemas cobas® 6800/8800

1	Iniciar sessão no sistema Premir “Iniciar” para preparar o sistema Pedir testes
2	Reabastecer reagentes e consumíveis conforme pedido pelo sistema: <ul style="list-style-type: none">• Carregar a cassete de reagente específica do teste• Carregar cassetes de controlo• Carregar pontas de pipetagem• Carregar placas de processamento• Carregar reagente MGP• Carregar placas de amplificação• Reabastecer diluente de amostras• Reabastecer reagente de lise• Reabastecer reagente de lavagem
3	Carregar amostras no sistema: <ul style="list-style-type: none">• Carregar a rack de amostras e as racks de pontas obstruídas no módulo de abastecimento de amostras• Confirmar que as amostras foram aceites no módulo de transferência
4	Iniciar a execução, seleccionando o botão “Iniciar manualmente” na interface de utilizador ou fazer com que se inicie automaticamente após 120 minutos ou se o batch estiver cheio
5	Rever e exportar os resultados
6	Retirar e colocar a tampa nos tubos de amostra que cumprem os requisitos mínimos de volume se necessário para utilização futura Limpar o equipamento: <ul style="list-style-type: none">• Descarregar cassetes de controlo vazias• Esvaziar gaveta de placas de amplificação já utilizadas• Esvaziar o reservatório de resíduos líquidos• Esvaziar o reservatório de resíduos sólidos

Resultados

Os sistemas **cobas**® 5800/6800/8800 determinam a concentração de ADN de EBV das amostras e dos controlos automaticamente. A concentração de ADN do EBV é indicada em Unidades Internacionais por mililitro (UI/ml).

Controlo de qualidade e validade dos resultados no sistema **cobas**® 5800 e nos sistemas **cobas**® 6800/8800 com a versão 2.0 de software ou superior

- Um **cobas**® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] e dois **cobas**® EBV/BKV Positive Controls, um controlo positivo baixo [EBV/BKV L (+) C] e um controlo positivo alto [EBV/BKV H (+) C] são processados pelo menos de 72 em 72 horas e com cada novo lote de kit. Os controlos positivo e/ou negativo podem ser programados mais frequentemente com base nos regulamentos locais e/ou nos procedimentos do laboratório.
- Os resultados dos controlos estão indicados na aplicação “Controlos”.
- No relatório e/ou no software, verifique se há sinalizadores para garantir a validade dos resultados de teste correspondentes (consulte a Assistência ao utilizador do gestor de dados x800 para uma “Lista de códigos do sinalizador”).
- Os controlos estão assinalados com um “Válido” na coluna “Resultado do controlo”, se os respetivos alvos dos controlos forem considerados válidos. Os controlos estão assinalados com um “Inválido” na coluna “Resultado de controlo”, se o respetivo alvo dos controlos for considerado inválido.
- Os controlos assinalados com um “Inválido” apresentam um alarme na coluna “Alarmes”. Na vista de detalhes, são apresentadas mais informações sobre o motivo pelo qual o controlo é mostrado como inválido, incluindo informações sobre o alarme.
- Se um dos controlos for inválido, é necessário repetir todos os controlos e todas as amostras associadas ao teste.

A validação de resultados é efetuada automaticamente pelo software do equipamento com base nos resultados do controlo.

NOTA: o sistema **cobas**® 5800 e os sistemas **cobas**® 6800/8800 são fornecidos com a versão 2.0 ou superior do software com a predefinição de executar um conjunto de controlos (positivo e negativo) com cada corrida, mas pode ser configurado para uma programação menos frequente para até cada 72 horas com base nos regulamentos locais e/ou nos procedimentos do laboratório. Para mais informações, contacte o seu técnico de assistência Roche e/ou o serviço de apoio ao cliente da Roche.

Controlo de qualidade e validade dos resultados na versão do software 1.4 dos sistemas **cobas**® 6800/8800

- Um **cobas**® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] e dois **cobas**® EBV/BKV Positive Controls, um controlo positivo baixo [EBV/BKV L (+) C] e um controlo positivo alto [EBV/BKV H (+) C] são processados com cada batch.
- No relatório e/ou no software, verifique os sinalizadores e os respetivos resultados associados para se certificar da validade do batch.
- Todos os sinalizadores são descritos na Assistência ao utilizador dos sistemas **cobas**® 6800/8800.
- O batch é válido se não aparecer nenhum alarme para nenhum dos controlos. Se o batch for inválido, é necessário repetir os testes de todo o batch.

A validação de resultados é efetuada automaticamente pelo software do equipamento com base nos resultados do controlo.

Sinalizadores de controlo nos sistemas cobas® 6800/8800 com versão 1.4 do software

Tabela 13 Sinalizadores de controlo para controlos negativos e positivos

Controlo negativo	Sinalizador	Resultado	Interpretação
(-) Ctrl	Q02 (Batch de controlo, falhou)	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado de titulação calculado do controlo negativo não é negativo.
Controlo positivo	Sinalizador	Resultado	Interpretação
EBV/BKV L (+) C	Q02 (Batch de controlo, falhou)	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado de titulação calculado do controlo positivo baixo não está dentro do intervalo atribuído.
EBV/BKV H (+) C	Q02 (Batch de controlo, falhou)	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado de titulação calculado do controlo positivo alto não está dentro do intervalo atribuído.

Interpretação de resultados para sistemas cobas® 5800/6800/8800

Para um batch válido, verifique todas as amostras individuais relativamente a sinalizadores nos relatórios e/ou nos softwares do sistema cobas® 5800 e dos sistemas cobas® 6800/8800. A interpretação do resultado deverá ser como se segue:

- Um batch válido pode incluir resultados de amostra válidos e inválidos.

Tabela 14 Resultados do alvo para interpretação dos resultados de alvos individuais

Resultados	Interpretação
Target Not Detected	ADN do EBV não detetado. Reportar resultados como “EBV não detetado”.
< Título mín. ^a	O título calculado está abaixo do limite inferior de quantificação (LLoQ) do ensaio. Reportar resultados como “EBV detetado, inferior a (título mín.)”. Título mín. = 35,0 UI/ml
Titer	O título calculado está dentro do intervalo linear do ensaio – superior ou igual ao título mín. e inferior ou igual ao título máx. Reportar resultados como “(Título) de EBV detetado”.
> Título máx. ^a	O título calculado está acima do limite superior de quantificação (ULoQ) do ensaio. Reportar resultados como “EBV detetado, superior a (título máx.)”. Título máx. = 1,0E+08 UI/ml

^a Resultados de amostras “< Titer Min” (alvo detetado < LLoQ) devem ser interpretados no contexto de outros dados clínicos e não deverão ser a única base nas decisões do tratamento.

^b Um resultado de amostra “> Titer Max” refere-se às amostras positivas de EBV detetadas com títulos acima do limite superior de quantificação (ULoQ). Caso se pretenda um resultado quantitativo, a amostra original deverá ser diluída com plasma-EDTA humano negativo para o EBV e o teste deve ser repetido. Multiplique o resultado reportado pelo fator de diluição.

Interpretação de resultados no sistema cobas® 5800 e no cobas® 6800/8800 com versão 2.0 ou superior do software

Os resultados das amostras estão indicados no software, na aplicação “Resultados” do software.

Para um batch de controlo válido, verifique todas as amostras individuais relativamente a sinalizadores no software e/ou no relatório. A interpretação do resultado deverá ser como se segue:

- As amostras associadas ao batch de controlo válido são indicados como “Válido” na coluna “Resultado de controlo” se todos os Resultados dos alvos de controlo forem reportados como válidos. As amostras associadas ao batch de controlo falhado são indicados como “Inválido” na coluna “Resultado de controlo” se todos os Resultados dos alvos de controlo forem reportados como inválidos.
- Se os controlos associados a um resultado da amostra forem inválidos, será adicionado um sinalizador específico ao resultado da amostra como se segue:
 - Q05D: falha de validação de resultado, devido a um controlo positivo inválido
 - Q06D: falha de validação de resultado, devido a um controlo negativo inválido
- Os valores na coluna “Resultados” para o resultado do alvo de amostra individual devem ser interpretados como indicado na Tabela 14 acima.
- Se um ou mais alvos de amostra estiverem marcados com “Inválido”, o software indica um sinalizador na coluna “Sinalizadores”. Na vista de detalhes, são apresentadas mais informações sobre o motivo pelo qual o(s) alvos de amostra é(são) mostrado(s) como inválido, incluindo informações sobre o alarme.

Interpretação de resultados nos sistemas cobas® 6800/8800 com versão 1.4 do software

Para um batch válido, verifique todas as amostras individuais relativamente a alarmes no software dos sistemas cobas® 6800/8800 e/ou nos relatórios. A interpretação do resultado deverá ser como se segue:

- As amostras estão assinaladas com “Yes” na coluna “Válido” se todos os resultados dos alvos pedidos indicaram resultados válidos. As amostras assinaladas com “No” na coluna “Válido” podem necessitar de interpretação e ação adicionais.
- Os valores do resultado do alvo de amostra individual devem ser interpretados como indicado na Tabela 14 acima.

Limitações do procedimento

- O cobas® EBV foi avaliado apenas para utilização em combinação com o cobas® EBV/BKV Control Kit, cobas® Buffer Negative Control Kit, cobas® omni MGP Reagent, cobas® omni Lysis Reagent, cobas® omni Specimen Diluent e cobas® omni Wash Reagent para utilização nos sistemas cobas® 5800/6800/8800.
- A obtenção de resultados fiáveis está dependente de procedimentos corretos de colheita, armazenamento e manuseamento da amostra.
- Este teste foi validado apenas para utilização com plasma EDTA. Testar outros tipos de amostras com o cobas® EBV pode originar resultados imprecisos. As medições de carga viral de plasma não são diretamente comparáveis com as de outros tipos de amostra.
- A quantificação de ADN do EBV pode ser afetada pelos métodos de recolha de amostras, fatores de paciente (ou seja, idade, presença de sintomas) e/ou fase de infeção.

- Tal como em qualquer teste molecular, as mutações dentro das regiões-alvo do **cobas® EBV** poderão afetar a ligação de primers e/ou sonda, resultando na subquantificação do vírus ou insucesso na deteção de presença do vírus.
- Devido a diferenças básicas entre tecnologias, recomenda-se que, antes de mudarem de uma tecnologia para outra, os utilizadores realizem estudos de correlação de métodos nos seus laboratórios, para qualificar as diferenças tecnológicas. Os utilizadores deverão seguir as suas políticas e procedimentos específicos.
- O **cobas® EBV** não se destina à utilização como teste de rastreio da presença de EBV em sangue ou em produtos sanguíneos.

Avaliação do desempenho não clínico

Equivalência dos sistemas

Foi demonstrada a equivalência dos sistemas **cobas® 5800**, **cobas® 6800** e **cobas® 8800** através de estudos de desempenho. Os dados apresentados nas Instruções de utilização, suportam um desempenho equivalente em todos os sistemas.

Características principais do desempenho

Limite de deteção (LoD)

Padrão Internacional da OMS

O limite de deteção do **cobas® EBV** foi determinado pela análise de diluições em série do 1.º padrão internacional da OMS para o Vírus Epstein-Barr para técnicas de amplificação de ácido nucleico (1.º padrão internacional da OMS para EBV) obtido a partir de NIBSC (NIBSC 09/260), em plasma EDTA humano negativo para o EBV. Painéis de seis níveis de concentração, mais um branco, foram testados por entre três lotes de reagentes **cobas® EBV** e várias corridas, dias, operadores e equipamentos.

Os resultados de plasma EDTA estão apresentados na Tabela 15 até à Tabela 17. O estudo demonstra que, com o lote menos sensível, a concentração para a qual se espera a taxa de positividade de 95% por parte da PROBIT é de 18,8 UI/ml com um intervalo de confiança de 95% de 14,5 a 27,5 UI/ml em plasma EDTA. A concentração mais baixa com uma taxa de positividade \geq a 95% é de 20,0 UI/ml em plasma EDTA.

Tabela 15 Limite de deteção em plasma EDTA, Lote 1

Concentração de título de entrada (ADN do EBV UI/ml)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	62	98,4
20,0	63	61	96,8
10,0	63	53	84,1
5,0	63	37	58,7
2,5	63	26	41,3
0,0	63	0	0,0
LoD por PROBIT com taxa de positividade de 95%	18,8 UI/ml Intervalo de confiança de 95%: 14,5-27,5 UI/ml		

Tabela 16 Limite de detecção em plasma EDTA, lote 2

Concentração de título de entrada (ADN do EBV UI/ml)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	58	92,1
5,0	63	35	55,6
2,5	63	20	31,8
0,0	63	0	0,0
LoD por PROBIT com taxa de positividade de 95%	12,4 UI/ml Intervalo de confiança de 95%: 10,0-17,0 UI/ml		

Tabela 17 Limite de detecção em plasma EDTA, Lote 3

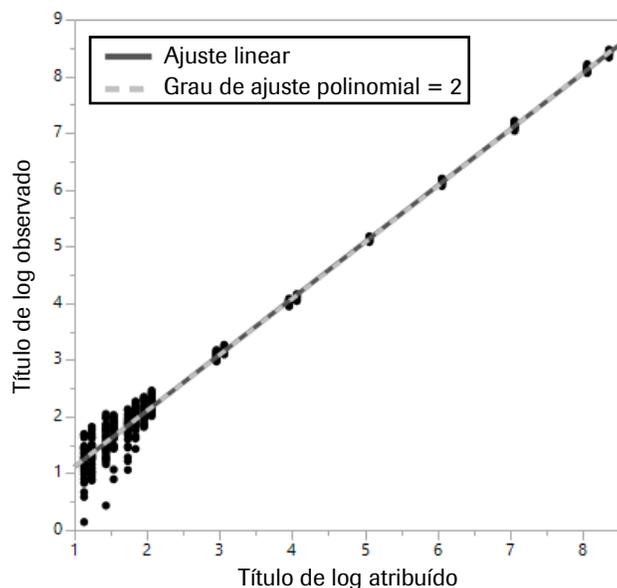
Concentração de título de entrada (ADN do EBV UI/ml)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	63	100,0
20,0	63	62	98,4
10,0	63	48	76,2
5,0	63	38	60,3
2,5	63	26	41,3
0,0	63	0	0,0
LoD por PROBIT com taxa de positividade de 95%	18,6 UI/ml Intervalo de confiança de 95%: 14,4-27,1 UI/ml		

Intervalo linear

A linearidade de cobas® EBV foi avaliada com uma série de diluições, consistindo em 17 membros de painel com ADN do genótipo 1 do EBV, abrangendo o intervalo linear do ensaio. Foi utilizado um stock de ADN lambda de título elevado para preparar um painel de 11 membros, abrangendo todo o intervalo linear. Foi utilizada uma amostra clínica para preparar 6 membros de painel, abrangendo os níveis intermediários e baixos do intervalo linear.

Cada membro do painel foi testado em 36 réplicas com três lotes de reagentes de teste cobas® EBV e os resultados do estudo são apresentados na Figura 4.

O cobas® EBV demonstrou ser linear, a partir de 1,40E+01 a 2,30E+08 UI/ml e exibe um desvio absoluto em relação ao método de regressão não linear mais ajustado de menos de $\pm 0,1 \log_{10}$ em plasma EDTA humano (consulte Figura 4). Ao longo do intervalo linear, a exatidão do teste estava dentro de $\pm 0,2 \log_{10}$.

Figura 4 Determinação do intervalo linear em plasma EDTA

Precisão – intralaboratorial

A precisão do **cobas**® EBV foi determinada pela análise de diluições em série de ADN do EBV de título elevado (genótipo 1) em plasma EDTA negativo para o EBV. Foram testados seis níveis de diluição em 72 réplicas para cada nível por entre 3 lotes de reagentes do **cobas**® EBV, utilizando três equipamentos e três operadores ao longo de 12 dias. Cada amostra foi analisada de forma totalmente automática seguindo todo o procedimento do teste **cobas**® EBV em sistemas **cobas**® 6800/8800. Por conseguinte, a precisão aqui reportada representa todos os aspetos do procedimento de teste. Os resultados são exibidos na Tabela 18.

O **cobas**® EBV apresentou elevada precisão para os três lotes de reagentes testados num intervalo de concentração de $1,08E+02$ UI/ml a $5,40+07$ UI/ml.

Tabela 18 Precisão intra-laboratório do **cobas**® EBV

Concentração nominal [UI/ml]	Concentração atribuída [UI/ml]	Plasma EDTA			
		Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos os lotes
		DP	DP	DP	DP em pool
5,00E+07	5,40E+07	0,03	0,04	0,04	0,04
1,00E+06	1,08E+06	0,02	0,03	0,02	0,02
1,00E+05	1,08E+05	0,02	0,02	0,03	0,02
1,00E+04	1,08E+04	0,04	0,02	0,03	0,03
1,00E+03	1,08E+03	0,05	0,05	0,05	0,05
1,00E+02	1,08E+02	0,17	0,18	0,15	0,17

Verificação de genótipos

O desempenho do cobas® EBV no genótipo 2 do EBV foi avaliado por:

- Verificação do limite de detecção
- Verificação do intervalo linear

Verificação do limite de detecção do genótipo 2

O ADN do EBV para genótipo 2 foi diluído a três níveis de concentração diferentes em plasma EDTA negativo para EBV. A determinação da taxa de positividade foi realizada com 63 réplicas para cada nível. Os testes foram efetuados com 3 lotes de reagentes do cobas® EBV, várias corridas, dias, operadores e equipamentos. Os resultados verificam que o cobas® EBV detetou ADN do EBV do genótipo 2 a uma concentração de 18,8 UI/ml com uma taxa de positividade $\geq 95\%$.

Verificação do intervalo linear do genótipo 2

As séries de diluição utilizadas na verificação do estudo de linearidade de genótipos do cobas® EBV consistiram em oito membros de painel abrangendo o intervalo linear do teste. Os testes foram efetuados com três lotes de reagentes cobas® EBV; foram testadas 12 réplicas por nível em plasma EDTA.

O intervalo linear do cobas® EBV foi verificado para o genótipo 2.

Especificidade

A especificidade do cobas® EBV foi determinada por análise de amostras de plasma EDTA negativo para o EBV de doadores individuais. Foram testadas 101 amostras individuais de plasma EDTA com três lotes de reagentes do cobas® EBV. Todas as amostras tiveram um resultado negativo relativamente a ADN do EBV. No painel de teste a especificidade do cobas® EBV foi 100% (intervalo de confiança inferior unilateral de 95%: 97,08%).

Especificidade analítica

A especificidade analítica do **cobas**® EBV foi avaliada através da diluição de um painel de microrganismos a uma concentração de 1,00E+06 unidades/ml (células/ml, CFU/ml, IFU/ml, CCU/ml) de bactérias e levedura e entre 3,00E+05 e 1,00E+06 unidades/ml (UI/ml, cópias/ml, células/ml, TCID₅₀/ml) para vírus com plasma EDTA positivo para ADN do EBV e negativo para ADN de EBV. A Tabela 19 apresenta uma lista dos micro-organismos específicos. Cada membro do painel foi avaliado com **cobas**® EBV. Nenhum dos agentes patogênicos não EBV interferiu com o desempenho do teste.

Tabela 19 Microorganismos testados relativamente a reatividade cruzada

Vírus	Bactérias	Leveduras
Adenovírus Tipo 5	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Poliomavírus BK	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Citomegalovírus	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Vírus da hepatite B	<i>Clostridium perfringens</i>	-
Vírus da hepatite C	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
Vírus do herpes simples tipo 1	<i>Escherichia coli</i>	-
Vírus do herpes simples tipo 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
Vírus do herpes humano tipo 6	<i>Listeria monocytogenes</i>	-
Vírus do herpes humano tipo 7	<i>Mycobacterium avium</i>	-
Vírus do herpes humano tipo 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
Vírus da imunodeficiência humana 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Vírus da imunodeficiência humana 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Vírus do papiloma humano	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
Vírus JC	<i>Salmonella enterica</i>	-
Parvovírus B19	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Vírus símio 40		
Vírus Varicella-Zoster	-	-

Especificidade analítica – substâncias interferentes

Níveis elevados de triglicéridos (33,0 g/l), de bilirrubina conjugada (0,2 g/l), de bilirrubina não conjugada (0,2 g/l), de albumina (60,0 g/l), de hemoglobina (2,0 g/l) e de ADN humano (2 mg/l) nas amostras foram testados na presença e ausência de ADN de EBV. Foi demonstrado que as substâncias endógenas testadas não interferem com o desempenho do teste cobas® EBV.

Para além disso, os fármacos listados na Tabela 20 foram testados com o triplo da $C_{máx}$ na presença e na ausência de ADN de EBV.

Foi demonstrado que todas substâncias potencialmente interferentes não interferem com o desempenho do teste.

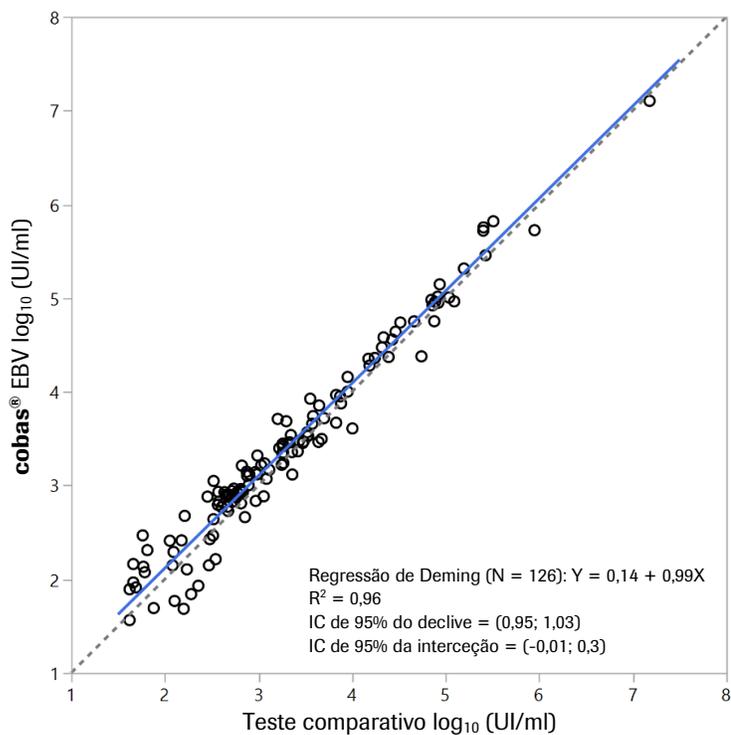
Tabela 20 Fármacos testados relativamente à interferência com a quantificação de ADN de EBV pelo cobas® EBV

Classe do fármaco	Nome genérico do fármaco	
Antimicrobianos	Cefotetano	Sulfametoxazol
	Clavulanato de potássio	Ticarcilina disde sódio
	Fluconazole	Trimetoprim
	Piperacilina	Vancomicina
	Tazobactam sódico	Micafungina
Compostos para o tratamento do vírus Herpes	Ganciclovir	Cidofovir
	Valganciclovir	Foscarnet
	Aciclovir	Letermovir
Imunossupressores	Azatioprina	Prednisona
	Ciclosporina	Sirolimus
	Everolimus	Tacrolimus
	Micofenolato de mofetil	Ácido micofenólico

Correlação de métodos

O desempenho do cobas® EBV foi avaliado com um teste comparador, analisando amostras de plasma EDTA de pacientes infetados por EBV. Foram testadas como réplicas individuais, amostras de plasma EDTA dentro do intervalo de quantificação de ambos os testes. Foi realizada uma análise de regressão de Deming.

Os resultados da regressão de Deming estão indicados na Figura 5.

Figura 5 Análise de regressão do **cobas®** EBV versus teste comparador

Falha global do sistema

Determinou-se a taxa de falha global do sistema do **cobas®** EBV, testando 100 réplicas de plasma EDTA adulterado com uma amostra clínica positiva do EBV. Estas amostras foram testadas com uma concentração de 3 vezes o LoD.

Os resultados do estudo determinaram que todas as réplicas eram válidas e positivas para o alvo de EBV, originando uma taxa de falha do sistema global de 0% (intervalo de confiança de 95% unilateral superior 2,95%).

Contaminação cruzada

A taxa de contaminação cruzada para o **cobas®** EBV foi determinada testando 240 réplicas de uma amostra de matriz negativa para EBV e 225 réplicas de uma amostra de EBV de título elevado a aprox. $2,00E+07$ UI/ml. No total, foram executadas cinco corridas com amostras positivas e negativas numa configuração de “tabuleiro de xadrez”.

Todas as 240 réplicas da amostra negativa eram negativas, originando uma taxa de contaminação cruzada de 0% (intervalo de confiança de 95% unilateral superior de 1,24%).

Avaliação do desempenho clínico

Reprodutibilidade do cobas® EBV

A reprodutibilidade do cobas® EBV foi avaliada por entre vários fatores (lote de reagente, local do teste, batch e dias de teste) que poderiam afetar os resultados apresentados em testes clínicos de rotina. A avaliação foi realizada em 3 locais de testes, utilizando 3 lotes de reagente, de um painel de amostras positivas e um painel de amostras negativas, com um total de 270 testes (não incluindo controlos). Os painéis foram preparados a partir de plasma EDTA que era negativo para VCA IgG do EBV e foram testados em relação ao EBV com um protocolo de emissão de teste de ácido nucleico (NAT) de plasma e adicionados com um padrão internacional da OMS para o EBV, sobrenadantes de cultura celulares do EBV ou fago lambda com ADN do EBV. 2 operadores em cada local testaram cada lote de reagente durante 5 dias. Em cada dia foram executadas 2 corridas (1 corrida = 1 batch; 1 batch = 1 painel + 3 controlos) por operador e, para cada corrida, foram executadas 3 réplicas de cada membro do painel. Os resultados da avaliação estão resumidos na Tabela 21.

Tabela 21 Percentagem atribuível da variação total (%VT), desvio padrão (DP) da precisão total e CV (%) lognormal da concentração do ADN do EBV (log₁₀ UI/mL) por membro do painel positivo

Concentração de ADN de EBV esperada (log ₁₀ UI/ml)	Concentração média observada ^a de ADN de EBV (log ₁₀ UI/ml)	Número de testes ^b	Lote %VT ^c (CV%) ^d	Local %VT ^c (CV%) ^d	Dia/Operador %VT ^c (CV%) ^d	Batch %VT ^c (CV%) ^d	Dentro do batch %VT ^c (CV%) ^d	Precisão total DP ^e	Precisão total CV (%) ^d
2,02	2,09	270	11% (11,97)	2% (5,30)	0% (0,00)	3% (6,34)	84% (34,25)	0,158	37,56
3,70	3,68	270	43% (10,07)	15% (5,92)	0% (0,00)	16% (6,23)	26% (7,81)	0,067	15,43
4,70	4,68	270	39% (8,54)	10% (4,24)	0% (0,00)	24% (6,63)	28% (7,18)	0,059	13,70
5,70	5,50	268	7% (11,39)	58% (34,36)	0% (0,00)	21% (20,18)	15% (17,08)	0,191	46,16
7,70	7,76	270	27% (8,63)	15% (6,52)	0% (0,88)	13% (6,01)	45% (11,26)	0,073	16,83

^a Calculada utilizando o procedimento SAS MIXED.

^b Número de testes válidos com nível de ADN detetável.

^c %VT = Percentagem de contribuição para variação total.

^d CV% = percentagem lognormal do coeficiente de variação = $\sqrt{10^{[DP^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

^e Calculado utilizando a variabilidade total do procedimento SAS MIXED.

Nota: esta tabela inclui apenas resultados com nível de ADN detetável. SD = desvio padrão; CV = coeficiente de variação; EBV = Vírus de Epstein Barr.

O cobas® EBV apresentou reprodutibilidade clínica aceitável na respetiva concentração comparativa. Além disso, o sistema detetou 100% das amostras com 3 × o limite inferior de quantificação (LLOQ). Os sistemas cobas® 6800 e cobas® 8800 partilham um design modular e demonstraram equivalência na utilização do cobas® EBV. Todos os limites de confiança (CLs) estimados de 95% para a diferença entre 2 medições do mesmo sujeito estavam dentro de ±0,53 log₁₀ UI/ml, indicando que o teste pode avaliar alterações dos níveis de ADN do EBV que se pensa serem clinicamente significativas.

Dos 270 testes válidos para os membros do painel negativos executados nos sistemas **cobas**® 6800/8800, 14 amostras (5,19%) apresentaram detecção de positividade < LLoQ. Os resultados não foram associados a nenhum equipamento/local ou lote de reagente específico. A técnica hemi-nested PCR e a sequenciação do ADN confirmaram a presença de ADN do EBV nestas amostras.

Desempenho do cobas® EBV

O desempenho clínico do **cobas**® EBV foi ainda avaliado em 3 locais de testes, medindo os níveis de ADN do EBV em amostras clínicas (puras e diluídas) de pacientes infetados e não infetados pelo EBV e amostras artificiais de plasma EDTA adicionadas com vírus EBV de cultura, em comparação com um bem estabelecido LDT (Teste de ácidos nucleicos Desenvolvido por um Laboratório) (LDT comparador do EBV). De todas as amostras testadas com o **cobas**® EBV e com o teste comparador do EBV, houve um total de 464 amostras (439 amostras clínicas puras ou diluídas de 72 sujeitos de transplante e 25 amostras artificiais) que foram válidas em ambos os testes e avaliáveis para análise de concordância clínica.

Tabela 22 Análise da concordância entre o **cobas**® EBV e o LDT comparador nos resultados do nível de ADN do EBV de todas as amostras

cobas ® EBV (log ₁₀ UI/ml)	LDT comparador do EBV (log ₁₀ UI/ml) Target Not Detected	LDT comparador do EBV (log ₁₀ UI/ml) < LLoQ (< 2)	LDT comparador do EBV (log ₁₀ UI/ml) 2 a < 2,6	LDT comparador do EBV (log ₁₀ UI/ml) 2,6 a < 3,2	LDT comparador do EBV (log ₁₀ UI/ml) 3,2 a 3,8	LDT comparador do EBV (log ₁₀ UI/ml) > 3,8	Total
Target Not Detected	95	17	17	0	0	0	129
< LLoQ (< 2)	39	46	75	11	0	0	171
2 a < 2,6	1	2	16	37	6	0	62
2,6 a < 3,2	1	0	5	15	30	1	52
3,2 a 3,8	0	0	0	0	9	11	20
> 3,8	0	0	0	0	1	29	30
Total	136	65	113	63	46	41	464
Concordância na coluna (%)	(134/136) 98,5%	(65/65) 100%	(96/113) 85,0%	(52/63) 82,5%	(40/46) 87,0%	(40/41) 97,6%	-
(Pontuação IC 95%) ^a	(94,8%, 99,6%)	(94,4%, 100%)	(77,2%, 90,4%)	(71,4%, 90,0%)	(74,3%, 93,9%)	(87,4%, 99,6%)	-

Nota: LLoQ = limite inferior de quantificação do LDT comparador do EBV (100 UI/ml).

Desvio padrão do LDT comparador do EBV estimado a 0,3 log₁₀ UI/ml (estudo de precisão analítica do LDT EBV).

Foram incluídas nesta tabela as amostras emparelhadas avaliáveis para análise de concordância clínica.

^a Assumida independência entre todas as amostras.

IC = intervalo de confiança.

A sequenciação do ADN em amostras representativas de sujeitos com resultados consistentemente com desvios de nível de ADN de mais de 1 log₁₀ UI/ml não revelou quaisquer discordâncias de sequência de quaisquer alvos de primers ou sondas do teste **cobas**® EBV.

Resultados discordantes foram definidos como aqueles que se encontram a mais de uma caixa da diagonal (indicados a sombreado). Para Target Not Detected (TND) por concordância da coluna LDT, as células Target Not Detected e < LLoQ (< 2) do cobas® EBV foram combinadas. O fundamento para a adição das células adjacentes < LLoQ e TND para a coluna TND é que a diferença entre um TND e < LLoQ não é clinicamente significativo e que estes estão analiticamente na extremidade inferior do intervalo de medição, que pode ser impactado por erro aleatório.

Das 43 amostras negativas pelo LDT comparador do EBV colhidas para o cálculo da concordância na percentagem de negativos (CPN) com o cobas® EBV, 41 amostras foram também negativas pelo cobas® EBV, pelo que a CPN foi de 95,4% com o CI exato de 95% entre 84,2% e 99,4%. As 2 amostras negativas pelo LDT comparador do EBV e positivas (< LLoQ) pelo cobas® EBV foram seropositivas para o VCA IgG e o EBNA-1 IgG do EBV por testes suplementares de serologia.

A concordância entre o cobas® EBV e o LDT comparador do EBV foi também avaliada utilizando diferentes limiares clínicos.

Tabela 23 Resumo da concordância entre o cobas® EBV e o LDT comparador do EBV utilizando diferentes limiares para todas as amostras

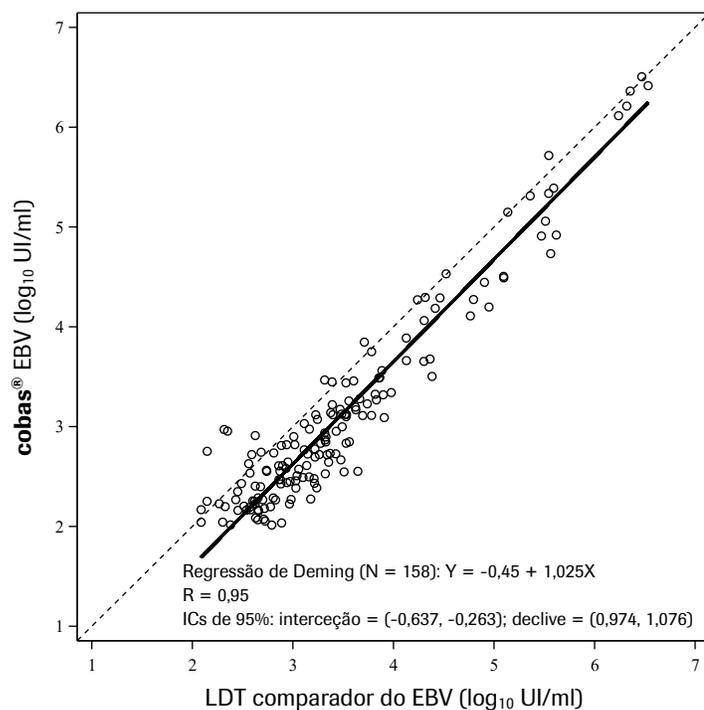
	Concordância na percentagem < Limiar de IC de 95%^b (n/N)	Concordância na percentagem ≥ Limiar de IC de 95%^b (n/N)
Target Not Detected	98,5% (134/136) (94,8%, 99,6%)	89,6% (294/328) (85,9%, 92,5%)
LLoQ ^a (2,0 log ₁₀ UI/ml)	98,0% (197/201) (95,0%, 99,2%)	60,8% (160/263) (54,8%, 66,5%)
3,0 log ₁₀ UI/ml	100,0% (363/363) (99,0%, 100,0%)	64,4% (65/101) (54,6%, 73,0%)
4,0 log ₁₀ UI/ml	100,0% (431/431) (99,1%, 100,0%)	84,8% (28/33) (69,1%, 93,3%)

^a LLoQ = limite inferior de quantificação do LDT comparador do EBV (100 UI/ml).

^b IC = intervalo de confiança.

De todas as amostras testadas com o cobas® EBV que foram positivas para o EBV com o teste comparador do EBV, houve um total de 158 amostras (139 amostras clínicas puras ou diluídas de 28 sujeitos de transplante e 19 amostras artificiais) que eram avaliáveis para a análise de correlação nos 3 locais de testes.

Figura 6 Correlação entre o cobas® EBV e o LDT comparador do EBV para todas as amostras: representação gráfica da regressão linear de Deming de níveis de ADN (\log_{10} UI/ml)



Uma análise adicional da representação gráfica da tendência das diferenças de nível de ADN indicou uma diferença sistemática entre os dois testes constante ao longo do intervalo linear sobreposto. O IC de 95% da interseção da linha adaptada nas representações gráficas de tendências foi entre -0,456 e 0,104, que está dentro de $\pm 0,6 \log_{10}$ UI/ml (± 2 vezes o desvio padrão da precisão analítica do LDT comparador do EBV).

Além disso, a tendência média foi estimada em $-0,364 \log_{10}$ UI/ml e a diferença sistemática entre os dois testes foi de $0,352 \log_{10}$ UI/ml e $-0,376 \log_{10}$ UI/ml para amostras com níveis de ADN a 3 e 4 \log_{10} UI/ml, respetivamente.

Informações adicionais

Características principais do teste

Tipo de amostra	Plasma EDTA
Quantidade de amostra mínima necessária	350 µl*
Volume de processamento de amostras	200 µl
Sensibilidade analítica	18,8 UI/ml
Intervalo linear	35,0 UI/ml a 1E+08 UI/ml
Especificidade	100%
Genótipos detetados	EBV genótipos 1 e 2

* Volume morto de 150 µl identificado para os tubos secundários **cobas® omni**. Outros tubos utilizados para os testes podem ter um volume morto diferente e conseqüentemente exigir mais ou menos volume mínimo. Para mais informações, contacte o representante local da assistência da Roche.

Símbolos

Os seguintes símbolos são utilizados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche.

Tabela 24 Símbolos utilizados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche

 Age/DOB Idade ou data de nascimento	 Dispositivo não para testagem junto do paciente	 QS IU/PCR UI QS por reação PCR, utilize as Unidades Internacionais QS (UI) por reação PCR no cálculo dos resultados.
 SW Software auxiliar	 Dispositivo não para autotestes	 SN Número de série
 Assigned Range [copies/mL] Intervalo atribuído (cópias/ml)	 Distribuidor <i>(Nota: o país/região aplicável poderá estar indicado por baixo do símbolo.)</i>	 Site Centro
 Assigned Range [IU/mL] Intervalo atribuído (UI/ml)	 Não reutilizar	 Procedure Standard Procedimento padrão
 EC REP Representante autorizado na Comunidade Europeia	 Mulher	 STERILE EO Esterilizado com óxido de etileno
 BARCODE Folha de dados de códigos de barras	 Apenas para avaliação do desempenho IVD	 Armazenar no escuro
 LOT Número do lote	 GTIN Global Trade Item Number	 Limite de temperatura
 Risco biológico	 Importador	 TDF Ficheiro de definição de teste
 REF Número de catálogo	 IVD Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Este lado para cima
 Marcação de conformidade CE; este dispositivo está em conformidade com os requisitos aplicáveis para marcação CE de um dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	 LLR Limite inferior do intervalo atribuído	 Procedure UltraSensitive Procedimento ultrasensível
 Collect Date Data da colheita	 Homem	 UDI Identificador único do dispositivo
 Consulte as instruções de utilização	 Fabricante	 ULR Limite superior do intervalo atribuído
 Conteúdo suficiente para <n> testes	 CONTROL - Controlo negativo	 Urine Fill Line Linha de enchimento da urina
 CONTENT Conteúdo do kit	 Não esterilizado	 Rx Only Para os EUA: Atenção: a Lei federal dos Estados Unidos restringe a venda deste dispositivo a um médico ou a pedido deste.
 CONTROL Controlo	 Nome do paciente	 Prazo de validade
 Data de fabrico	 Número do paciente	
 Dispositivo para testagem junto do paciente	 Abra aqui	
 Dispositivo para autotestes	 CONTROL + Controlo positivo	
	 QS copies / PCR Cópias QS por reação PCR, utilize as cópias QS por reação PCR no cálculo dos resultados.	

Apoio técnico

Para apoio técnico (assistência) entre em contacto com a sua filial local:

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

Fabricante e importador

Tabela 25 Fabricante e importador



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

Fabricado nos EUA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marcas comerciais e patentes

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

Direitos de autor

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliografia

1. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplant recipients: a global perspective. Preface. *Bone Marrow Transplant*. 2009;44:453-5. PMID: 19861977.
2. Green M. Introduction: Infections in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:3-8. PMID: 23464993.
3. Cohen JL. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med*. 2000;343:481-92. PMID: 10944566.
4. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, et al. Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematologica*. 2016;101:803-11. PMID: 27365460.
5. Allen UD, Preiksaitis JK. Epstein-Barr virus and posttransplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:107-20. PMID: 23465004.
6. San-Juan R, Comoli P, Caillard S, et al. Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20 Suppl 7:109-18. PMID: 24475976.
7. Nijland ML, Kersten MJ, Pals ST, Bemelman FJ, Ten Berge IJ. Epstein-Barr virus-positive posttransplant lymphoproliferative disease after solid organ transplantation: Pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, and management. *Transplant Direct*. 2016;2:e48. PMID: 27500242.
8. Tsai DE, Douglas L, Andreadis C, et al. EBV PCR in the diagnosis and monitoring of posttransplant lymphoproliferative disorder: Results of a two-arm prospective trial. *Am J Transplant*. 2008;8:1016-24. PMID: 18312608.
9. Fryer JF, Heath AB, Wilkinson DE, Minor PD. A collaborative study to establish the 1st WHO International Standard for Epstein-Barr virus for nucleic acid amplification techniques. *Biologicals*. 2016;44:423-33. PMID: 27461128.
10. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8. PMID: 2227421.
11. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93. PMID: 7845459.
12. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: Structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78. PMID: 7697717.
13. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7. PMID: 1368485.
14. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. PMID: 8908518.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline, 4th ed. CLSI Document M29-A4. Wayne, PA: CLSI, 2014.
17. Hadinoto V, Shapiro M, Sun CC, Thorley-Lawson DA. The dynamics of EBV shedding implicate a central role for epithelial cells in amplifying viral output. *PLoS Pathog*. 2009;5:e1000496. PMID: 19578433.

Revisão do documento

Informações de revisão do documento	
Doc Rev. 4.0 12/2024	<p>Adicionadas informações sobre a versão 2.0 do software dos sistemas cobas® 6800/8800.</p> <p>Adicionado código NIBSC: 09/260 para padrão internacional da OMS.</p> <p>Visualização atualizada de resultados de exemplo nos sistemas cobas® 6800/8800 com a versão do software 1.4.</p> <p>P/N de consumíveis removidos, as informações detalhadas sobre consumíveis estão referidas na Assistência ao utilizador dos sistemas cobas® 5800 e cobas® 6800/8800.</p> <p>Rx Only removido da primeira página.</p> <p>Atualizada a página de símbolos harmonizados.</p> <p>Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.</p>

O resumo de relatório de segurança e de desempenho pode ser encontrado utilizando o seguinte link:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.