

cobas[®] EBV

Kvantitatív nukleinsavteszt a cobas[®] 5800/6800/8800 rendszereken való használatra

In vitro diagnosztikai célra

cobas[®] EBV

P/N: 09040943190

cobas[®] 5800 rendszeren való használatra

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

cobas[®] 6800/8800 rendszerek való használatra

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 08688214190 vagy

P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190 vagy

P/N: 09051953190

Tartalomjegyzék

Rendeltetésszerű használat.....	4
A teszt összegzése és ismertetése	4
Reagensek és anyagok.....	7
cobas® EBV reagensek és kontrolllok.....	7
cobas® omni reagensek minta-előkészítéshez	10
A készlet tárolási követelményei	11
Reagensek kezelési követelményei a cobas® 5800 rendszeren	11
Reagensek kezelési követelményei a cobas® 6800/8800 rendszereken	12
További szükséges anyagok a cobas® 5800 rendszerhez.....	13
További szükséges anyagok a cobas® 6800/8800 rendszerekhez.....	13
A szükséges eszközök és szoftverek	14
Óvintézkedések és kezelési követelmények	15
Figyelmeztetések és óvintézkedések.....	15
Reagensek kezelése	15
Helyes laboratóriumi gyakorlat	16
Minta levétele, szállítása és tárolása	16
Minták.....	16
Használati utasítás.....	17
Megjegyzések az eljárással kapcsolatban	17
A cobas® EBV futtatása a cobas® 5800 rendszeren.....	18
A cobas® EBV futtatása a cobas® 6800/8800 rendszereken.....	19
Eredmények.....	20
Eredmények minőség-ellenőrzése és érvényessége a cobas® 5800 rendszeren.....	20
Kontrollok eredménye a cobas® 5800 rendszeren	20
Eredmények minőség-ellenőrzése és érvényessége a cobas® 6800/8800 rendszereken.....	20
Kontrollok jelzői a cobas® 6800/8800 rendszereken	21

Eredmények értelmezése	21
Eredmények értelmezése a cobas® 5800 rendszeren	22
Eredmények értelmezése a cobas® 6800/8800 rendszereken.....	22
Az eljárással kapcsolatos korlátozások	22
A nem klinikai teljesítmény értékelése	23
A cobas® 6800/8800 rendszereken történő feldolgozás legfontosabb teljesítményjellemzői.....	23
Kimutatási határ (LoD).....	23
Lineáris tartomány.....	24
Pontosság – laboratóriumon belül	25
Genotípus szerinti ellenőrzés	26
Specifititás	26
Analitikai specifititás.....	27
Analitikai specifititás – zavaró anyagok.....	27
Módszerkorreláció.....	28
Teljes rendszerhiba	29
Keresztzennyeződés	29
Klinikai teljesítmény értékelése a cobas® 6800/8800 rendszereken	29
A cobas® EBV reprodukálhatósága	29
A cobas® EBV teljesítménye.....	30
Rendszerek ekvivalenciája/összehasonlítása.....	33
További információk.....	34
A teszt legfontosabb tulajdonságai.....	34
Szimbólumok	35
Technikai segítségnyújtás.....	36
Gyártó és importőr.....	36
Védjegyek és szabadalmak	36
Szerzői jogok	36
Hivatkozások.....	37
Dokumentumverzió.....	38

Rendeltetésszerű használat

A cobas® EBV egy *in vitro* nukleinsav-amplifikációs teszt az Epstein-Barr-vírus (EBV) DNS-ének mennyiségi meghatározására humán EDTA-s plazmában a cobas® 5800/6800/8800 rendszereken.

A cobas® EBV rendeltetésszerű használata szerint segítséget nyújt az EBV-fertőzés diagnosztizálásában és kezelésében szervátültetett betegeknél. Ha egy betegnél folyamatosan figyelik az EBV-t, a sorozatos DNS-mérések jelezhetik, amikor változtatni kell a kezelésen, és felhasználhatók a vírus kezelésre adott reakciójának felmérésére.

A cobas® EBV eredményeit az összes vonatkozó klinikai és laboratóriumi eredménnyel együtt kell értelmezni.

A teszt összegzése és ismertetése

Háttér

A szervátültetett betegeknél számos vírusos és bakteriális fertőzés kockázata magasabb, és ezek náluk nagyobb eséllyel okoznak súlyos állapotromlást, mint a populáció egészséges részében. A nagyobb kockázat egyik oka az immunrendszer immunszuppresszív gyógyszerek által csökkentett működése. Ezeket a gyógyszereket a szervátültetéskor a betegek azért kapják, hogy az átültetett szervek és szövetek kisebb esetben lökődjenek ki.^{1,2}

Az EBV a herpeszvírusok családjának tagja. Kettős szálú, burokkal rendelkező dezoxiribonukleinsav (DNS) vírus (~172 kb). Az EBV két fő genotípusa (1-es és 2-es) az EBNA-2 gén különbségeiben térnek el egymástól. Embernél meglehetősen gyakran fordul elő EBV-fertőzés: a felnőttek több mint 90%-a fertőzött, és a lappangó fertőzés egész életen át fennáll. Az EBV fertőző mononukleózist okoz az újonnan megfertőzött kamaszok és felnőttek egy részénél, és többféle daganatos megbetegedésben is szerepet játszhat. Ilyenek az orrgarati karcinóma, a Burkitt-limfóma és a Hodgkin-limfóma. Az EBV okozhat limfoproliferatív rendellenességeket született vagy szerzett immunhiánnyal élőknél, például szervátültetetteknél és humán immundeficiencia vírussal fertőzötteknél, valamint szerzett immunhiányos betegséggel élőknél (HIV/AIDS).³

Szervátültetett betegeknél az EBV a memória B-sejtek segítségével a lappangó vírus újraaktiválásával okozhat betegséget, vagy új elsődleges fertőzéssel, különösen EBV-negatív szervátültetetteknél, akiknél a beültetés EBV-pozitív donortól származott.³ Ezen betegeknél az EBV-vel kapcsolatba hozható betegségek legsúlyosabb megjelenése a limfoproliferatív rendellenesség (PTLD), amit a limfociták (leginkább a B-sejtek) kontrollálatlan burjánzása okoz.⁴ A szervátültetettek körében a PTLD-esetek > 70%-a EBV-fertőzéshez köthető. A PTLD szempontjából a legkockázatosabb időszak a szervátültetés utáni első év, és az ilyenkor előforduló PTLD-esetek > 90%-a összefüggésben van EBV-fertőzéssel. A szervátültetés utáni első év után előforduló PTLD-esetek legfeljebb 20%-a EBV-negatív betegeknél fordul elő.^{4,5}

A korai PTLD kockázati tényezői közé tartozik az EBV-negatív szervátültetettek szerológiai státusza a műtétkor, a fiatal kor, kitettség a limfocitákat gyérítő antitesteknek és az átültetett szerv típusa.^{5,6}

Az elsődleges EBV-fertőzés korai felismerése és a DNS-szint monitorozása elősegítheti a gyors terápiás beavatkozást, amivel megelőzhető az EBV-hez kapcsolódó betegség kialakulása. Az irányelvek szerint ajánlatos rendszeresen ellenőrizni az EBV-szintet mennyiségi nukleinsavtesztekkel (NAT), különösen EBV-negatív, magas kockázatú szervátültetett betegeknél.^{4,5} Bár a vírus orvosiilag releváns pontos küszöbértéke a különböző tesztek közötti eltérések miatt még vitatott, a kritikus küszöbérték létezése valószínűnek tűnik, és élettani vizsgálatok szerint a magasabb EBV-DNS-érték összefügg az EBV-betegségek és a PTLD kialakulásának gyakoriságával.^{4,5,7} EBV-tesztelésre használtak plazma- és teljesvér-mintákat is, és az eredmények alapján a plazma alkalmasabb a PTLD kimutatására.^{4,5,7,8}

Az EBV-DNS-szint csökkentése céljából és a PTLD bekövetkezése ellen általánosan használt terápiás beavatkozások közé tartozik az immunszuppresszív gyógyszeradagok csökkentése és a B-sejtek számát csökkentő antitestekkel történő kezelés.⁷ Az EBV-DNS-szintet csökkentő megelőző kezelés a legtöbb betegnél sikeres, bár akár 20%-uknál így is kialakulhat PTLD, különösen akiknél egy évnél több telt el a szervátültetés óta.⁷

Az EBV mennyiségi meghatározását végző legtöbb laboratóriumi teszt nincs standardizálva, ezért eltérések állnak fenn a laboratóriumok és tesztek eredményei között, és így az eltérő laboratóriumban vagy teszttel kapott DNS-szintek nem hasonlíthatók össze.⁷ A probléma megoldására a WHO létrehozott egy nemzetközi standardot az EBV mennyiségi meghatározására, így a standardizált tesztek eredménye IU/ml egységben fejezhető ki.⁹ Az EBV-DNS-szintek reprodukálhatóságának és érvényességének formális kiértékelése alapvető fontosságú a különböző laboratóriumok eredményeinek egyezése érdekében, mert így javítható az olyan betegek klinikai kezelése, akiknél nagyobb az EBV-vel kapcsolatos betegségek és a PTLD kialakulásának kockázata.

A NAT-teszt elméleti alapjai

Szervátültetés előtt a fogadó EBV-hez kapcsolódó esetleges szövődményeinek kockázatfelmérését elősegítendő meghatározzák a donor és a fogadó EBV-szerológiáját, de a szerológiai vizsgálat nem megfelelően érzékeny vagy pontos a beteg szervátültetés utáni monitorozásához. Az EBV-tenyésztési módszerek lassúak, és ebben a helyzetben nem jelzik elő megfelelően a szövődményeket. Az EBV-DNS közvetlen kimutatása valós idejű PCR-módszerrel nagyobb dinamikus tartományt, pontosságot, valamint magas érzékenységet és specificitást biztosíthat.

A vizsgálat háttere

A **cobas® EBV** a **cobas® 5800/6800/8800** rendszereken futtatható kvantitatív teszt. A **cobas® EBV** lehetővé teszi az EBV-DNS kimutatását és mennyiségi meghatározását fertőzött betegek EDTA-s plazmájában. A víruskoncentrációt a teszt egy nem EBV-DNS mennyiségi standard (DNA-QS) szerint határozza meg, amit a mintafeldolgozás során adnak az egyes mintákhoz. A DNA-QS egyben monitorozza a teljes minta-előkészítést és PCR-amplifikálást is. Ezenfelül a teszt három külső kontrollt használ: egy magas titerű pozitívot, egy alacsony titerű pozitívot és egy negatívot. A magas pozitív és alacsony pozitív külső kontrollokat hígítással állítják elő olyan törzsanyagból, amelynek a titere visszavezethető a WHO EBV-re vonatkozó nemzetközi standardjára. Az amplifikáló-/kimutatókészletek minden gyártási tételének kalibrálása visszavezethető a WHO EBV-re vonatkozó nemzetközi standardjára.

Az eljárás alapelvei

A **cobas® EBV** teljesen automatizált minta-előkészítésen (nukleinsav-extrahálás és -tisztítás) alapul, amelyet PCR-amplifikálás és -kimutatás követ. A **cobas® 5800** rendszert egyetlen integrált készülékként alakítottuk ki.

A **cobas® 6800/8800** rendszerek ugyanazon mintaadagoló, szállító-, feldolgozó- és elemzőmodulokból állnak.

Az automatizált adatkezelést a **cobas® 5800** vagy **cobas® 6800/8800** rendszerek szoftvere végzi, amely az összes teszthez a következő eredmények egyikét rendeli: „Target not detected” (nem kimutatható target), „EBV DNA detected < LLoQ” (EBV-DNS az alsó mennyiségi meghatározási határ alatt), „EBV DNA detected > ULoQ” (EBV-DNS a felső mennyiségi meghatározási határ fölött) vagy egy érték az LLoQ < x < ULoQ lineáris tartományban. Az eredményeket át lehet tekinteni közvetlenül a rendszer képernyőjén, de exportálhatók vagy jelentésként nyomtathatók is.

A rendszer a betegek mintáiból származó nukleinsavakat és a hozzáadott lambda DNS (DNA-QS) molekulákat egyszerre extrahálja. Összefoglalva: a mintába proteináz és lízisreagens kerül, és ennek hatására a vírus nukleinsav felszabadul. A felszabadult nukleinsav a hozzáadott mágneses üvegpartikulumok szilikonfelületéhez köt. A kötetlen anyagokat és

szennyeződések, például a denaturált fehérjét, sejtörmeléket és lehetséges PCR-inhibitorokat az ezt követő mosóreagens-lépések eltávolítják, és egy eluáló puffer magasabb hőmérsékleten eluálja a tisztított nukleinsavat az üvegpartikulumokról.

A teszt a mintában a célnukleinsav szelektív amplifikálását a célvírusra specifikus kettős megközelítéssel éri el, amelyeket az EBV-n belül az EBV-EBNA-1 gén és az EBV-BMRF gén nagy fokban konzervált régióiból választ. A DNA-QS szelektív amplifikálását a teszt szekvenciaspecifikus forward és reverz primerekkel éri el, amelyeket úgy választ, hogy ne legyenek homológok a EBV genomjával. Az amplifikálás hőstabil DNS-polimeráz enzim segítségével történik. A target és DNA-QS szekvenciákat egyszerre amplifikálja egy univerzális PCR-amplifikáló profillal, amely tartalmazza az előre meghatározott hőmérséklet-lépcsőket és a ciklusok számát. A master mix dezoxitimidin-trifoszfát (dTTP) helyett dezoxiuridin-trifoszfátot (dUTP) tartalmaz, amely beépül az újonnan szintetizált DNS-be (amplikon).¹⁰⁻¹² Az első hevítési lépés során a PCR Mix reagensben lévő AmpErase enzim az előző PCR-futtatásokból származó minden szennyező amplikont inaktivál. Az újonnan kialakuló amplikonokat viszont nem semmisíti meg, mert az 55 °C-ot meghaladó hőmérséklet miatt az AmpErase enzim maga is inaktív lesz.

A **cobas®** EBV Master Mix a EBV-targetszekvenciákra specifikus két kimutatási próbát tartalmaz, valamint egyet az DNA-QS-hez. A próbákat fluoreszcens targetspecifikus jelzőfestékek jelölik, ami lehetővé teszi a EBV-target és a DNA-QS egyszerre történő kimutatását két különböző targetcsatornán.^{13, 14} Az érintetlen próbák fluoreszcens jelét a blokkolófesték elfedi. A PCR-amplifikálási lépés során a próba a specifikus, egyszálú DNS-templatokhoz hibridizál. Ennek eredményeként a próbát a DNS-polimeráz 5'-3'-nukleázaktivitása hasítja, így a jelzőfesték és a blokkolófesték elválik, és fluoreszcens jel keletkezik. Minden egyes PCR-ciklus során megnő a hasított próbák mennyisége, és ennek velejárójaként növekszik a jelzőfestékből származó jel összesített nagysága is. A PCR-termékek valós idejű kimutatása és megkülönböztetése a felszabadult, vírustargeteket és DNA-QS-t reprezentáló jelzőfestékek fluoreszcenciájának mérésével megy végbe.

Reagensek és anyagok

cobas® EBV reagensek és kontrollok

Itt találja a cobas® EBV teszt anyagait: 1. táblázat. Itt találja a szükséges, de nem biztosított anyagokat: 2. táblázat – 4. táblázat és 8. táblázat – 9. táblázat.

A termékhez kapcsolódó veszélyekkel kapcsolatos információkat a **Reagensek és anyagok** és az **Óvintézkedések és kezelési követelmények** részekben találja.

1. táblázat cobas® EBV

cobas® EBV

Tárolás: 2–8 °C

192 tesztkazetta (P/N 09040943190)

A készlet összetevői	Reagens-összetevők	Készletenkénti mennyiség 192 teszt
Proteinázoldat (PASE)	Trisz puffer, < 0,05% EDTA, kalcium-klorid, kalcium-acetát, 8% proteináz, glicerin EUH210: Kérésre biztonsági adatlap kapható. EUH208: <i>Bacillus subtilis</i> -ből származó szubtilizint tartalmaz. Allergiás reakciót válthat ki.	22,3 ml
DNS mennyiségi standard (DNA QS)	Trisz puffer, < 0,05% EDTA, < 0,001% nem EBV-DNS primerkötő- és egyedi próbarégiót tartalmazó nem EBV-konstrukció (nem fertőző DNS), < 0,002% poli-rA RNS (szintetikus), < 0,1% nátrium-azid	21,2 ml
Eluáló puffer (EB)	Trisz puffer, 0,2% metil-4-hidroxi-benzoát	21,2 ml
Master Mix reagens 1 (MMX-R1)	Mangán-acetát, kálium-hidroxid, < 0,1% nátrium-azid	7,5 ml
EBV Master Mix reagens 2 (EBV MMX-R2)	Tricin puffer, kálium-acetát, < 18% dimetil-szulfoxid, glicerin, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP-k, < 0,01% upstream és downstream EBV-primerek, < 0,01% mennyiségi standard forward és reverz primer, < 0,01% fluoreszcensen jelölt, a EBV-re és a EBV mennyiségi standardra specifikus oligonukleotid-próbák, < 0,01% oligonukleotid aptamer, < 0,10% Z05D DNS-polimeráz (mikrobiális), < 0,01% AmpErase (uracil-N-glikoziláz) enzim (mikrobiális), < 0,1% nátrium-azid	9,7 ml

2. táblázat cobas® EBV/BKV kontroll-készlet**cobas® EBV/BKV Control Kit**

2–8 °C-on tárolandó.

cobas® 5800 rendszeren való használatra (P/N 09040951190)

cobas® 6800/8800 rendszerek való használatra (P/N 08688214190 vagy P/N 09040951190)

A készlet összetevői	Reagens-összetevők	Készletenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés*
EBV/BKV alacsony pozitív kontroll (EBV/BKV L(+))C)	< 0,001% szintetikus (plazmid) EBV-DNS lambda bakteriofág burokfehérjébe csomagolva, normál humán plazma, PCR-eljárásokkal nem kimutatható EBV-DNS 0,1% ProClin® 300 tartósítószer**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  FIGYELEM H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki. H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P261: Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzését. P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P280: Védőkesztyű használata kötelező. P333 + P313: Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. P362 + P364: A szennyezett ruhadarabot le kell vetni és újbóli használat előtt ki kell mosni. P501: A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelési üzemben. 55965-84-9 Reagálótömeg: 5-klór-2-metil-4-izotiazol-3-on és 2-metil-2H-izotiazol-3-on (3:1).
EBV/BKV magas pozitív kontroll (EBV/BKV H(+))C)	< 0,001% szintetikus (plazmid) EBV-DNS lambda bakteriofág burokfehérjébe csomagolva, normál humán plazma, PCR-eljárásokkal nem kimutatható EBV-DNS 0,1% ProClin® 300 tartósítószer**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  FIGYELEM H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki. H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P261: Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzését. P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P280: Védőkesztyű használata kötelező. P333 + P313: Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. P362 + P364: A szennyezett ruhadarabot le kell vetni és újbóli használat előtt ki kell mosni. P501: A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelési üzemben. 55965-84-9 Reagálótömeg: 5-klór-2-metil-4-izotiazol-3-on és 2-metil-2H-izotiazol-3-on (3:1).

* A termék biztonsági címkéi megfelelnek az EU GHS előírásainak.

** Veszélyes anyag vagy elegy.

3. táblázat Puffer negatívkontroll-készlet **cobas®** Buffer Negative Control Kit**cobas® Buffer Negative Control Kit**

2–8 °C-on tárolandó.

cobas® 5800 rendszeren való használatra (P/N 09051953190)**cobas®** 6800/8800 rendszerek való használatra (P/N 07002238190 vagy P/N 09051953190)

A készlet összetevői	Reagens-összetevők	Készletenkénti mennyiség
cobas® puffer negatív kontroll (BUF (-) C)	Trisz puffer, < 0,1% nátrium-azid, EDTA, 0,002% Poly rA RNS (szintetikus)	16 ml (16 × 1 ml)

cobas® omni reagensek minta-előkészítéshez

4. táblázat cobas® omni reagensek minta-előkészítéshez

Reagensek	Reagens-összetevők	Készletenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés*
cobas® omni MGP Reagent (MGP) 2–8 °C-on tárolandó. (P/N 06997546190)	Mágneses üvegpartikulumok, trisz puffer, 0,1% metil-4-hidroxibenzoát, < 0,1% nátrium-azid	480 teszt	Nincs
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) 2–8 °C-on tárolandó. (P/N 06997511190)	Tris puffer, 0,1% metil-4-hidroxibenzoát, < 0,1% nátrium-azid	4 × 875 ml	Nincs
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) 2–8 °C-on tárolandó. (P/N 06997538190)	43% (m/m) guanidin-tiocianát**, 5% (m/V) polidokanol**, 2% (m/V) ditiotritol**, nátrium-citrát-dihidrát	4 × 875 ml	 VESZÉLY H302 + H332: Lenyelve vagy belélegezve ártalmas. H314: Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. H411: Mérgező a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. EUH032: Savval érintkezve nagyon mérgező gázok képződnek. P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P280: Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő/hallásvédelem használata kötelező. P303 + P361 + P353: HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel. P304 + P340 + P310: BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. P305 + P351 + P338 + P310: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. P391: A kiömlött anyagot össze kell gyűjteni. 593-84-0 Guanidin-tiocianát 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercapto-bután-2,3-diol
cobas® omni Wash Reagent (WASH) 15–30 °C-on tárolandó. (P/N 06997503190)	Nátrium-citrát-dihidrát, 0,1% metil-4-hidroxibenzoát	4,2 l	Nincs

* A termék biztonsági címkéi megfelelnek az EU GHS előírásainak.

** Veszélyes anyag vagy elegy.

A készlet tárolási követelményei

A reagenseket az 5. táblázatban, a 6. táblázatban és a 7. táblázatban szerint kell tárolni és kezelni.

Amikor a reagentek nincsenek a **cobas® 5800** vagy **cobas® 6800/8800** rendszerekben, tárolja őket az 5. táblázatban megadott hőmérsékleten.

5. táblázat Reagentek tárolása (amikor a reagent nincs a rendszerben)

Reagens	Tárolási hőmérséklet
cobas® EBV	2–8 °C
cobas® EBV/BKV Control Kit (kontroll-készlet)	2–8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit (puffer negatívkontroll-készlet)	2–8 °C
cobas® omni Lysis Reagent (lízisreagens)	2–8 °C
cobas® omni MGP Reagent (MGP reagens)	2–8 °C
cobas® omni Specimen Diluent (mintahígító)	2–8 °C
cobas® omni Wash Reagent (mosóreagens)	15–30 °C

Reagentek kezelési követelményei a **cobas® 5800** rendszeren

A **cobas® 5800** rendszerre töltött reagenteket a rendszer megfelelő hőmérsékleten tárolja, és figyeli a lejárat idejét. A rendszer csak akkor engedi a reagentek használatát, ha a 6. táblázat minden feltétele teljesül. A rendszer automatikusan megakadályozza a lejárt reagentek használatát. Az 6. táblázat a **cobas® 5800** rendszer által alkalmazott reagentkezelési szabályok felhasználói leírását tartalmazza.

6. táblázat A reagentek **cobas® 5800** rendszerhez kapcsolódó lejárat feltételei

Reagens	Készlet lejárat ideje	A bontott készlet stabilitása	Hány futtatásra használható ez a készlet	Stabilitás a rendszerben
cobas® EBV	Nem érte el a dátumot	90 nap az első használatától	Max. 40 futtatás	Max. 36 nap**
cobas® EBV/BKV Control Kit (kontroll-készlet)	Nem érte el a dátumot	Nincs*	Nincs	Max. 36 nap**
cobas® Buffer Negative Control Kit (puffer negatívkontroll-készlet)	Nem érte el a dátumot	Nincs*	Nincs	Max. 36 nap**
cobas® omni Lysis Reagent (lízisreagens)	Nem érte el a dátumot	30 nap a betöltéstől**	Nincs	Nincs
cobas® omni MGP Reagent (MGP reagens)	Nem érte el a dátumot	30 nap a betöltéstől**	Nincs	Nincs
cobas® omni Specimen Diluent (mintahígító)	Nem érte el a dátumot	30 nap a betöltéstől**	Nincs	Nincs
cobas® omni Wash Reagent (mosóreagens)	Nem érte el a dátumot	30 nap a betöltéstől**	Nincs	Nincs

* Egyszer használatos reagentek.

** Az azóta eltelt idő, hogy a reagent először betöltötték a **cobas® 5800** rendszerbe.

Reagensek kezelési követelményei a cobas® 6800/8800 rendszereken

A cobas® 6800/8800 rendszerekbe töltött reagenseket a rendszer megfelelő hőmérsékleten tárolja, és figyeli a lejárat idejüket. A cobas® 6800/8800 rendszerek csak akkor engedik a reagensek használatát, ha a 7. táblázatban minden feltétele teljesül. A rendszer automatikusan megakadályozza a lejárt reagensek használatát. A 7. táblázatban a cobas® 6800/8800 rendszerek által alkalmazott reagenskezelési szabályok felhasználói leírását tartalmazza.

7. táblázat A reagensek cobas® 6800/8800 rendszerekhez kapcsolódó lejárat feltételei

Reagens	Készlet lejárat ideje	A bontott készlet stabilitása	Hány futtatásra használható ez a készlet	Stabilitás a rendszerben (összes hűtőn kívül töltött idő)
cobas® EBV	Nem érte el a dátumot	90 nap az első használatától	Max. 40 futtatás	Max. 40 óra
cobas® EBV/BKV Control Kit (kontroll-készlet)	Nem érte el a dátumot	Nincs*	Nincs	Max. 8 óra
cobas® Buffer Negative Control Kit (puffer negatívkontroll-készlet)	Nem érte el a dátumot	Nincs*	Nincs	Max. 10 óra
cobas® omni Lysis Reagent (lízisreagens)	Nem érte el a dátumot	30 nap a betöltéstől**	Nincs	Nincs
cobas® omni MGP Reagent (MGP reagens)	Nem érte el a dátumot	30 nap a betöltéstől**	Nincs	Nincs
cobas® omni Specimen Diluent (mintahígító)	Nem érte el a dátumot	30 nap a betöltéstől**	Nincs	Nincs
cobas® omni Wash Reagent (mosóreagens)	Nem érte el a dátumot	30 nap a betöltéstől**	Nincs	Nincs

* Egyszer használatos reagensek.

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

További szükséges anyagok a cobas® 5800 rendszerhez

8. táblázat A cobas® 5800 rendszeren használt anyagok és fogyóeszközök

Anyag	P/N
cobas® omni Processing Plate 24 (feldolgozólemez)	08413975001
cobas® omni Amplification Plate 24 (amplifikálólemez)	08499853001
cobas® omni Liquid Waste Plate 24 (folyékonyhulladék-lemez)	08413983001
Tip CORE TIPS with Filter, 1 ml (hegyek)	04639642001
Tip CORE TIPS with Filter, 300 µl (hegyek)	07345607001
cobas® omni Liquid Waste Container (folyékonyhulladék-tároló)	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent (lízisreagens)	06997538190
cobas® omni MGP Reagent (MGP reagens)	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent (mintahígító)	06997511190
cobas® omni Wash Reagent (mosóreagens)	06997503190
Szilárdhulladék-zacskó vagy Szilárdhulladék-zsák béléssel	07435967001 vagy 08030073001
cobas® omni 13×75 másodlagos csövek (opcionális)*	06438776001

* A mintaállványok részletes megrendelőlistájáért forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

További szükséges anyagok a cobas® 6800/8800 rendszerekhez

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

Anyag	P/N
cobas® omni Processing Plate (feldolgozólemez)	05534917001
cobas® omni Amplification Plate (amplifikálólemez)	05534941001
cobas® omni Pipette Tips (pipettahegyek)	05534925001
cobas® omni Liquid Waste Container (folyékonyhulladék-tároló)	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent (lízisreagens)	06997538190
cobas® omni MGP Reagent (MGP reagens)	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent (mintahígító)	06997511190
cobas® omni Wash Reagent (mosóreagens)	06997503190
Szilárdhulladék-zsák és szilárdhulladék-tartály vagy Szilárdhulladék-tároló zsák betéttel és készletfiók szilárdhulladék-frissítéssel	07435967001 és 07094361001 vagy 08030073001 és 08387281001

A szükséges eszközök és szoftverek

A **cobas® 5800** rendszer szoftvere és a **cobas® 5800** rendszerhez tartozó **cobas® EBV** elemzőcsomag legyen telepítve a **cobas® 5800** készüléken. A **cobas® 5800** rendszerhez szükséges Data Manager szoftvert és számítógépet a rendszer részeként biztosítjuk.

A **cobas® 6800/8800** szoftvernek és a **cobas® EBV** elemzőcsomagnak telepítve kell lenniük a készülék(ek)en. Az Instrument Gateway (IG) szerver a rendszer része.

10. táblázat Készülékek

Berendezés	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System (mozgatható platform)	06379672001
cobas® 6800 System (rögzített platform)	05524245001
cobas® 8800 System	05412722001
Mintaadagoló modul	06301037001

A **cobas® 5800** rendszer vagy a **cobas® 6800/8800** rendszerek felhasználói segédletében és/vagy használati útmutatójában további információkat talál.

Megjegyzés: A készülékekkel használható elsődleges és másodlagos mintacsövek, mintaállványok, eltömődött hegyek tárolására való állványok és állványtálcák részletes megrendelőlistájáért forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

Óvintézkedések és kezelési követelmények

Figyelmeztetések és óvintézkedések

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

- Csak *in vitro* diagnosztikai célra.
- A **cobas® EBV**-t nem értékelték ki EBV szűrőtesztként vérben vagy vérkészítményekben.
- Minden betegről származó mintát fertőzőként, megfelelő biztonságos laboratóriumi eljárásokat alkalmazva kell kezelni. Ilyeneket ír le a Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories és a CLSI Document M29-A4.^{15, 16} Ezt a vizsgálatot csak a fertőző anyagok kezelésében és a **cobas® EBV** és **cobas® 5800/6800/8800** rendszerek használatában jártas személy végezheti.
- Minden humán eredetű anyagot potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és az általános óvintézkedések szerint kell kezelni. Kiömlés esetén azonnal fertőtlenítsen desztillált vagy ioncserélt vízzel frissen hígított, 0,6%-os koncentrációjú nátrium- vagy kálium-hipoklorit oldattal, vagy kövesse a megfelelő helyszíni eljárásokat.
- A **cobas® EBV/BKV** kontrollkészlet emberi vérből származó plazmát tartalmaz. A forrásanyagot PCR-technikákkal vizsgálva az EBV-DNS-ből csak elfogadható, alacsony szintet találtak. Egyetlen ismert vizsgálati módszer sem nyújthat teljes garanciát arra, hogy a humán vérkészítményekben nincs jelen fertőző anyag.
- **Ne fagyassza a teljes vért és az elsődleges csövekben tárolt mintákat.**
- Az optimális vizsgálati feltételek biztosítása érdekében csak a mellékelt vagy a megadott szükséges fogyóeszközöket alkalmazza.
- A biztonsági adatlapok (SDS) igény esetén hozzáférhetőek a Roche helyi irodájában.
- A vizsgálat helyes kivitelezésének biztosítása végett szigorúan tartsa be a megadott eljárásokat és irányelveket. A megadott eljárásoktól és irányelvektől való bármilyen eltérés befolyásolhatja a vizsgálat teljesítményét.
- Álpozitív eredmények fordulhatnak elő, ha a minták átvitelét a mintakezelés és -feldolgozás során nem kontrollálják megfelelően.
- Mivel a felnőttek több mint 90%-a krónikus EBV-hordozó, és a nyálukba akár 10⁸ EBV kópia/ml is kerülhet, valamint a vizsgálat magas érzékenysége miatt fontos, hogy a laboratórium megfelelő intézkedésekkel előzze meg a keresztszennyeződést.¹⁷
- Ha a vizsgálat használatakor súlyos nem várt esemény történik, tájékoztassa róla a helyi illetékes hatóságot és a gyártót.

Reagensek kezelése

- A mintákkal vagy kontrollokkal történő kontamináció elkerülése érdekében minden reagenst, kontrollt és mintát a helyes laboratóriumi gyakorlat szerint kezeljen.
- Felhasználás előtt szemrevételezzen minden reagenskazettát, oldószert, lízisreagenst és mosóreagenst, hogy nem tapasztal-e szivárgásra utaló jeleket. Szivárgás esetén azt az anyagot ne használja fel a vizsgálatához.
- A lízisreagens **cobas® omni** Lysis Reagent guanidin-tiocianátot tartalmaz, ami potenciálisan veszélyes vegyület. Kerülje a reagensek bőrrel, szemmel vagy nyálkahártyával való érintkezését. Ha mégis előfordul érintkezés, azonnal mossa le bő vízzel, mert ellenkező esetben égési sérülés történhet.

- A **cobas®** EBV tesztkészletek, **cobas®** omni MGP reagens és a **cobas®** omni mintaoldószer tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaz. Kerülje a reagensnek bőrrrel, szemmel vagy nyálkahártyával való érintkezését. Ha mégis előfordul érintkezés, azonnal mossa le bő vízzel, mert ellenkező esetben égési sérülés történhet. Ha a reagens kiömlenek, szárazra törlés előtt hígítsa őket vízzel.
- Ügyeljen rá, hogy a guanidin-tiocianát tartalmú lízisreagens **cobas®** omni Lysis Reagent ne lépjen érintkezésbe nátrium-hipoklorit-oldattal (fehérítő). Az ilyen keverékből erősen mérgező gáz fejlődhet.
- Az országos, állami és helyi szabályozások szerint végezze el minden olyan anyag hulladékkezelését, amely mintákkal vagy reagensekkel kapcsolatba került.

Helyes laboratóriumi gyakorlat

- Ne pipettázzon szájjal.
- Ne egyen, igyon vagy dohányozzon a kijelölt munkaterületeken.
- A minták és reagensok kezelése közben viseljen laboratóriumi kesztyűt, köpenyt és szemvédőt. A szennyeződés elkerülése érdekében váltson kesztyűt a minták és a **cobas®** EBV készletek, az EBV/BKV alacsony pozitív kontroll (EBV/BKV L(+)C), az EBV/BKV magas pozitív kontroll (EBV/BKV H(+)C), a **cobas®** puffer negatívkontroll (BUF (-) C) és a **cobas®** omni reagensok kezelése között. A minták és kontrollok kezelése során ügyeljen a kesztyűk szennyezésének elkerülésére.
- Alaposan mosson kezet a minták és a készlet reagensének kezelése és kesztyűlevétel után.
- Gondosan tisztítson meg, és desztillált vagy ioncserélt vízből frissen készített 0,6%-os nátrium- vagy kálium-hipoklorit-oldattal fertőtlenítsen minden laboratóriumi munkafelületet. Utána törölje át a felületet 70%-os etanollal.
- Ha a **cobas®** 5800 vagy **cobas®** 6800/8800 készülékre folyadék ömlik, a **cobas®** 5800 vagy **cobas®** 6800/8800 rendszerek felhasználói segédletében és/vagy használati útmutatójában leírtak szerint tisztítsa és fertőtlenítsa a készülék(ek) felületét.

Minta levétele, szállítása és tárolása

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

Az összes mintát az előírt hőmérséklettartományban tárolja.

A minták stabilitását a magasabb hőmérséklet befolyásolja.

Ha a másodlagos csövekben fagyasztott mintákat használ, tartsa őket szobahőmérsékleten (15–30 °C), amíg teljesen ki nem olvadnak, majd rövid ideig keverje (pl. 3–5 másodpercig vortexelje) és utána centrifugálja, hogy a minta teljes térfogata a cső aljára kerüljön.

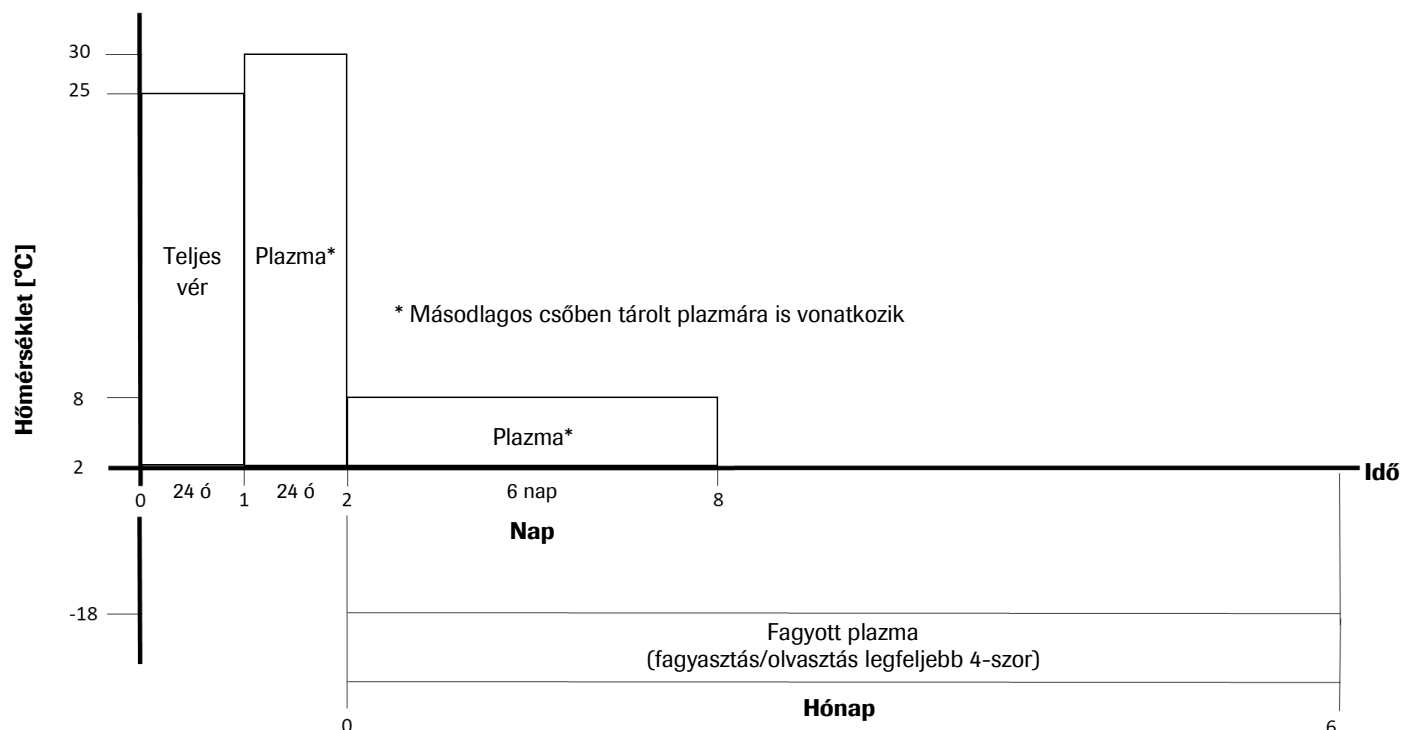
Ha centrifugálás után egyes sejtek újrasszuszpendálódtak a plazmában, fontolja meg az ismételt centrifugálást, mielőtt feldolgozná a mintát a készülékkel.

Minták

- A teljes vért molekulárdiagnosztikai tesztmodszerekhez való BD Vacutainer® PPT™ plazma-előkészítő csövekbe vagy EDTA véralvadásgátlót tartalmazó steril csövekbe kell levenni. Kövesse a mintavételi cső gyártójának utasításait. Lásd 1. ábra.
- A molekulárdiagnosztikai tesztmodszerekhez való BD Vacutainer® PPT™ plazma-előkészítő csövekbe vagy EDTA véralvadásgátlót tartalmazó steril csövekbe levett teljes vért 24 órán belül 2 °C és 25 °C között lehet tárolni és/vagy szállítani a plazma-előkészítés előtt. A centrifugálást a gyártó utasításai szerint kell végezni.

- A plazmaminták elválasztásuk után 24 órán át 2 °C és 30 °C között tárolhatók elsődleges vagy másodlagos csőben a következők egyike előtt:
 - Tárolás elsődleges vagy másodlagos csőben legfeljebb 6 napig 2 °C és 8 °C között.
 - Tárolás másodlagos csövekben legfeljebb 6 hónapig ≤ -18 °C-on.
- A plazmaminták ≤ -18 °C hőmérsékleten legfeljebb négy fagyasztás–olvasztás ciklusban maradnak stabilak fagyasztva.

1. ábra A minták tárolási feltételei



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

Használati utasítás

Megjegyzések az eljárással kapcsolatban

- Lejárat idejük után ne használja a **cobas®** EBV reagenseket, a **cobas®** EBV/BKV kontrollkészletet, a **cobas®** puffer negatívkontroll-készletet vagy a **cobas®** **omni** reagenseket.
- A fogyóeszközöket ne használja újra. Csak egyszeri használatra készültek.
- A készülékek megfelelő karbantartásának leírását a **cobas®** 5800 rendszer vagy a **cobas®** 6800/8800 rendszerek felhasználói segédletében és/vagy használati útmutatójában találja.

A cobas® EBV futtatása a cobas® 5800 rendszeren

A cobas® EBV minimális futtatható mintatérfogata 350 µl, amelyből a rendszer 200 µl-t dolgoz fel. A teszteljárás részletes leírását a cobas® 5800 rendszer felhasználói segédletében és/vagy használati útmutatójában találja. Az alábbi 2. ábra összefoglalja az eljárást.

2. ábra cobas® EBV teszteljárás a cobas® 5800 rendszeren

1	Jelentkezzen be a rendszerbe
2	Töltse be a mintákat a rendszerbe: • Töltse be a mintaállványokat a rendszerbe • A rendszer automatikusan elvégzi az előkészítést • Rendelje meg a vizsgálatokat
3	Töltse be a reagenseket és fogyóeszközöket a rendszer utasításai szerint: • Töltse be a vizsgálatspecifikus reagenskazettá(ka)t • Töltse be a kontrollok miniállványait • Töltse be a feldolgozóhegyeket • Töltse be az eluálólóhegyeket • Töltse be a feldolgozólemezeket • Töltse be a folyékonyhulladék-lemezeket • Töltse be az amplifikálólemezeket • Töltse be az MGP-kazettát • Töltse fel a mintaoldószert • Töltse fel a lízisreagenst • Töltse fel a mosóreagenst
4	Indítsa a futtatást a felhasználói felület „Start processing” gombjával. Minden későbbi futtatás is automatikusan el fog indulni, hacsak manuálisan nem halasztják őket későbbre
5	Tekintse át és fogadja el az eredményeket
6	Ha a jövőben szükség lehet még egyes mintacsövekre, vegye ki ezeket, és zárja őket a kupakjukkal, ha megfelelnek a minimális térfogatra vonatkozó követelményeknek Tisztítsa meg a készüléket: • Vegye ki az üres kontrollok miniállványait • Vegye ki az üres vizsgálatspecifikus reagenskazettá(ka)t • Űrítse ki az amplifikálólemez fiókját • Távolítsa el a folyékony hulladékot • Távolítsa el a szilárd hulladékot

A cobas® EBV futtatása a cobas® 6800/8800 rendszereken

A cobas® EBV minimális futtatható mintatérfogata 350 µl, amelyből a rendszer 200 µl-t dolgoz fel. A teszteljárás részletes leírását a cobas® 6800/8800 rendszerek felhasználói segédletében és/vagy használati útmutatójában találja. Az alábbi 3. ábra összegzi az eljárást.

3. ábra cobas® EBV teszteljárás a cobas® 6800/8800 rendszereken

1	Jelentkezzen be a rendszerbe A rendszer előkészítéséhez nyomja meg a Start gombot Rendelje meg a vizsgálatokat
2	Töltse be a reagenseket és fogyóeszközöket a rendszer utasításai szerint: • Töltse be a vizsgálatspecifikus reagenskazettát • Töltse be a kontrollkazettákat • Töltse be a pipettahegyeket • Töltse be a feldolgozólemezeket • Töltse be az MGP-reagenst • Töltse be az amplifikálólemezeket • Töltse fel a mintaoldószert • Töltse fel a lízisreagenst • Töltse fel a mosóreagenst
3	Töltse be a mintákat a rendszerbe: • Töltse be a mintaállványokat és a szeparátorhegyes állványokat a mintaadagoló modulba • Ellenőrizze, hogy a mintákat elfogadta-e a szállítómodul
4	Indítsa a futtatást: válassza a „Start manually” (Kézi indítás) gombot a felhasználói felületen, vagy hagyja, hogy a készülék automatikusan induljon 120 perc elteltével vagy amikor a mintacsoport betelik
5	Tekintse át és fogadja el az eredményeket
6	Ha a jövőben szükség lehet még egyes mintacsövekre, vegye ki ezeket, és zárja őket a kupakjukkal, ha megfelelnek a minimális térfogatra vonatkozó követelményeknek Tisztítsa meg a készüléket: • Távolítsa el az üres kontrollkazettákat • Űrítse ki az amplifikálólemez fiókját • Távolítsa el a folyékony hulladékot • Távolítsa el a szilárd hulladékot

Eredmények

A **cobas®** 5800/6800/8800 rendszerek automatikusan meghatározzák a minták és kontrollok EBV-DNS-koncentrációját. A EBV-DNS-koncentráció mértékegysége a milliliterenkénti nemzetközi egység (IU/ml).

Eredmények minőség-ellenőrzése és érvényessége a **cobas®** 5800 rendszeren

- Legalább 72 óránként, valamint minden új készlet-gyártásítétel esetén egy negatív kontrollt [(-) Ctrl] és két pozitív kontrollt, egy alacsony pozitív kontrollt [EBV/BKV L(+)C] és egy magas pozitív kontrollt [EBV/BKV H(+)C] is fel kell dolgozni. A pozitív és/vagy negatív kontrollok feldolgozását gyakrabban is lehet végezni a laboratórium eljárásrendje és/vagy a helyi előírások szerint.
- Az eredmény érvényességének biztosítása érdekében figyelje a jelzőket és a hozzájuk tartozó eredményeket a **cobas®** 5800 rendszer szoftverében és/vagy jelentéseiben.

A **cobas®** 5800 automatikusan érvényteleníti az eredményeket a negatív vagy pozitív kontrollok helytelen jelzői alapján.

MEGJEGYZÉS: A **cobas®** 5800 rendszer gyári beállítása szerint (pozitív és negatív) kontrollt kell futtatni minden munkamenetben, de ez ritkább, legfeljebb 72 órás gyakoriságra is állítható a laboratórium eljárásrendje és/vagy a helyi előírások szerint. A Roche helyi szerviztechnikusától és/vagy a Roche technikai támogatásától további tájékoztatást kaphat.

Kontrollok eredménye a **cobas®** 5800 rendszeren

A kontrollok eredménye a **cobas®** 5800 szoftverben a „Controls” alkalmazásban jelenik meg.

- Ha a rendszer a kontroll összes targetjét érvényesként jelentette, a „Control Result” (Kontrollereredmény) oszlopban „Valid” (Érvényes) jelzőt kap. Ha a rendszer a kontroll legalább egy targetjét érvénytelenként jelentette, a „Control Result” oszlopban „Invalid” (Érvénytelen) jelzőt kap.
- Az „Invalid” eredményű kontrollok a „Flags” (Jelzők) oszlopban is meg vannak jelölve. A részletes nézetben további információkat talál arról, hogy a kontroll miért lett érvénytelen, valamint hogy mit jelent a jelző.
- Ha az egyik kontroll érvénytelen, ismételje meg az összes kontroll és az összes érintett minta tesztelését.

Eredmények minőség-ellenőrzése és érvényessége a **cobas®** 6800/8800 rendszereken

- Minden feldolgozott mintacsoportba tartozik egy negatív kontroll [(-) Ctrl] és két pozitív kontroll, egy alacsony pozitív kontroll [EBV/BKV L(+)C] és egy magas pozitív kontroll [EBV/BKV H(+)C].
- A mintacsoport érvényes eredményének biztosítása érdekében figyelje a jelzőket és a hozzájuk tartozó eredményeket a **cobas®** 6800/8800 szoftverben és/vagy jelentésben.
- A mintacsoport érvényes, ha a három kontroll egyike sem kapott jelzőt. Egy negatív és két pozitív kontroll van: EBV/BKV L(+)C, EBV/BKV H(+)C. A negatív kontroll eredménye „(-) Ctrl”-ként jelenik meg, az alacsony és magas pozitív kontroll eredménye pedig „EBV/BKV L(+)C” és „EBV/BKV H(+)C”.

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

Kontrollok jelzői a cobas® 6800/8800 rendszereken

11. táblázat A negatív és pozitív kontrollok kontrolljelzései

Negatív kontroll	Jelzés	Eredmény	Értelmezés
(-) Ctrl	Q02 (A kontrollcsoport sikertelen)	Invalid	Érvénytelen eredmény, vagy a negatív kontroll számított titereredménye nem negatív.
Pozitív kontroll	Jelzés	Eredmény	Értelmezés
EBV/BKV L(+)C	Q02 (A kontrollcsoport sikertelen)	Invalid	Érvénytelen eredmény vagy az alacsony pozitív kontroll számított titer eredménye nem esik a megadott tartományba.
EBV/BKV H(+)C	Q02 (A kontrollcsoport sikertelen)	Invalid	Érvénytelen eredmény vagy a magas pozitív kontroll számított titer eredménye nem esik a megadott tartományba.

Ha a kontrollmintacsoport érvénytelen, ismételje meg az érintett csoport minden mintájának a tesztelését.

Eredmények értelmezése

Érvényes csoport esetén ellenőrizze az egyes minták jelzőit a **cobas® 5800** rendszer és a **cobas® 6800/8800** rendszerek szoftverében és/vagy jelentésben. Az eredményeket így kell értelmezni:

- Egy érvényes mintacsoport érvényes és érvénytelen mintaeredményeket is tartalmazhat.

12. táblázat Az egyes targetek eredményének értelmezése

Eredmények	Értelmezés
Target Not Detected	Nincs kimutatható EBV-DNS. Az eredmény a jelentésben „Nincs kimutatható EBV”.
< Titer Min ^a	A számított titer a vizsgálat alsó mennyiségi kvantifikációs határa (LLOQ) alatt van. Az eredmény a jelentésben „A kimutatott EBV titere nem éri el a minimális értéket”. Titer Min = 35,0 IU/ml
Titer	A számított titer a teszt lineáris tartományába esik: legalább Titer Min, és legfeljebb Titer Max. Az eredmény a jelentésben „Adott titerű EBV mutatható ki”.
> Titer Max ^b	A számított titer a vizsgálat felső mennyiségi kvantifikációs határa (ULOQ) fölött van. Az eredmény a jelentésben „A kimutatott EBV titere meghaladja a maximális értéket”. Titer Max = 1,0E+08 IU/ml

^a Ha a mintaeredmény „< Titer Min” (a kimutatott target < az alsó mennyiségi meghatározási határ), a többi klinikai adattal együtt kell értelmezni őket, és nem szabad csak rájuk alapozva kezelési döntéseket hozni.

^b A minta eredménye „> Titer Max” olyan kimutatott EBV-pozitív titert jelent, ami meghaladja a felső mennyiségi meghatározási határt (ULOQ). Ha mennyiségi eredményre van szükség, hígítsa az eredeti mintát EBV-negatív humán EDTA-s plazmával, és tesztelje újra. Szorozza meg a mért eredményt a hígítási faktoral.

Eredmények értelmezése a cobas® 5800 rendszeren

A minták eredménye a **cobas® 5800** szoftverben a „Results” alkalmazásban jelenik meg.

Érvényes mintacsoport esetén ellenőrizze az egyes minták jelzőit a **cobas® 5800** rendszer szoftverében és/vagy jelentésben.

Az eredményeket így kell értelmezni:

- Az érvényes kontrollmintacsoportoz tartozó mintáknál a „Control result” oszlopban „Valid” szerepel, ha az összes kontroll-targeteredmény érvényes lett. A sikertelen kontrollmintacsoportoz tartozó mintáknál a „Control result” oszlopban „Invalid” szerepel, ha az összes kontroll-targeteredmény érvénytelen lett.
- Ha egy minta eredményéhez tartozó kontrollok érvénytelenek, erre utaló jelző kerül a minta eredményéhez a következők szerint:
 - Q05D: A minta validálása sikertelen egy érvénytelen pozitív kontroll miatt
 - Q06D: A minta validálása sikertelen egy érvénytelen negatív kontroll miatt
- Az egyes minták „Results” oszlopban szereplő targeteredményeit a fenti 11. táblázat szerint kell értelmezni.

Ha egy vagy több mintatarget „Invalid” értékű, a **cobas® 5800** szoftverben jelző szerepel a „Flags” oszlopban. A részletes nézetben további információkat talál arról, hogy a mintatarget(ek) miért lett(ek) érvénytelen(ek), valamint hogy mit jelent a jelző.

Eredmények értelmezése a cobas® 6800/8800 rendszereken

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

- Ha egy minta „Valid” oszlopában „Yes” van, minden kért target eredménye érvényes volt. Ha egy minta „Valid” oszlopában „No” van, lehetséges, hogy további értelmezésre és lépésekre van szükség.
- Az egyes minták targeteredményeit a fenti 12. táblázat szerint kell értelmezni.

Az eljárással kapcsolatos korlátozások

- A **cobas® EBV** tesztet a **cobas® EBV/BKV** kontrollkészlet, a **cobas®** puffer negatívkontroll-készlet, a **cobas® omni** MGP reagens, a **cobas® omni** lízisreagens, a **cobas® omni** mintaoldószer és a **cobas® omni** mosóreagens használatával értékelték ki a **cobas® 5800/6800/8800** rendszereken.
- A megbízható eredmény a megfelelő mintalevételen, -tároláson és -kezelési eljárásokon múlik.
- Ezt a tesztet csak EDTA-s plazmával való használatra validálták. Más típusú minták tesztelése a **cobas® EBV** tesztrel pontatlan eredménnyel járhat. A plazma víruskoncentráció-mérési eredményei nem hasonlíthatók közvetlenül össze az egyéb mintatípusok eredményeivel.
- Az EBV-DNS mennyiségi meghatározását befolyásolhatja a mintavételi mód, a beteggel kapcsolatos tényezők (azaz a kor és a tünetek jelenléte) és/vagy a fertőzés stádiuma.
- Mint minden molekuláris teszt esetén, a **cobas® EBV** targetregióiban előforduló mutációk is hatással lehetnek a primerek és/vagy próbák kötődésére, ami miatt a vírus kimutatott mennyisége kevesebb lesz, vagy a teszt nem mutatja ki a vírus jelenlétét.
- A technológiák különbözősége miatt javasolt, hogy az egyik technológiáról a másira áttéréskor a felhasználók végezzenek korrelációs laboratóriumi vizsgálatokat, hogy a technológiák közötti különbség minősíthető legyen. A felhasználóknak a helyi specifikus irányelveket/eljárásokat kell követniük.
- A **cobas® EBV** tesztnek nem célja a EBV vérben vagy vértermékekben való szűrése.

A nem klinikai teljesítmény értékelése

A cobas® 6800/8800 rendszereken történő feldolgozás legfontosabb teljesítményjellemzői

Kimutatási határ (LoD)

WHO Nemzetközi standard

A cobas® EBV kimutatási határát a WHO 1. nemzetközi EBV standardja sorozathígításainak elemzésével állapították meg EBV-negatív humán EDTA-s plazmában (WHO 1. nemzetközi Epstein-Barr-vírus standardja nukleinsav-amplifikációs technológiához; NIBSC 09/260). Hat koncentrációsintből és egy referenciamintából álló paneleket teszteltek a cobas® EBV reagensek három gyártási tételével, több futtatásban, napon, kezelővel és készüléken.

Az EDTA-s plazmából származó eredményeket a 13. táblázatban – 15. táblázatban tartalmazza. A vizsgálat szerint a legkevésbé érzékeny gyártási tétel esetén PROBIT-elemzés szerinti 95%-os találati arány 18,8 IU/ml koncentrációnál várható, és a 95%-os konfidenciaintervallum 14,5–27,5 IU/ml EDTA-s plazmában. $\geq 95\%$ -os találati arányt legalább 20,0 IU/ml koncentrációnál figyeltek meg EDTA-s plazmánál.

13. táblázat Kimutatási határ EDTA-s plazmában, 1. gyártási tétel

Bemeneti titer koncentrációja (EBV-DNS, IU/ml)	Érvényes ismétlések száma	Pozitívok száma	Találati arány (%)
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 PROBIT szerinti 95% találati arány mellett	18,8 IU/ml 95% konfidenciaintervallum: 14,5–27,5 IU/ml		

14. táblázat Kimutatási határ EDTA-s plazmában, 2. gyártási tétel

Bemeneti titer koncentrációja (EBV-DNS, IU/ml)	Érvényes ismétlések száma	Pozitívok száma	Találathi arány (%)
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 PROBIT szerinti 95% találathi arány mellett	12,4 IU/ml 95% konfidenciaintervallum: 10,0–17,0 IU/ml		

15. táblázat Kimutatási határ EDTA-s plazmában, 3. gyártási tétel

Bemeneti titer koncentrációja (EBV-DNS, IU/ml)	Érvényes ismétlések száma	Pozitívok száma	Találathi arány (%)
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 PROBIT szerinti 95% találathi arány mellett	18,6 IU/ml 95% konfidenciaintervallum: 14,4–27,1 IU/ml		

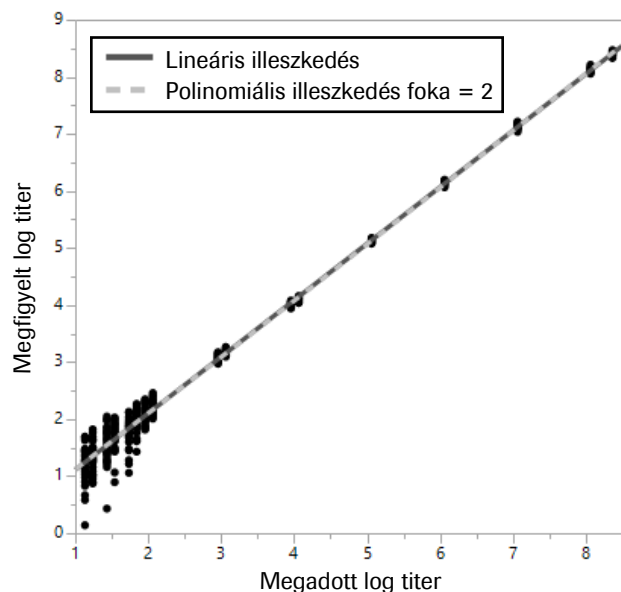
Lineáris tartomány

A **cobas**® EBV teszt linearitását 17 paneltagból álló hígítási sorozat elemzésével végezték, ahol az EBV 1. genotípusának DNS-e lefedte a teszt lineáris tartományát. Magas titerű lambda DNS-törzsből készítettek 11 paneltagot, amely lefedte a teljes lineáris tartományt. Egy klinikai mintából 6 paneltagot készítettek, amely lefedte a lineáris tartomány középső és alsó részét.

Minden paneltagot 36 ismétlésben tesztelték a **cobas**® EBV reagensek három gyártási tételével; a vizsgálat eredményeit a 4. ábra tartalmazza.

A **cobas**® EBV lineárisnak bizonyult 1,40E+01 IU/ml és 2,30E+08 IU/ml között, és az abszolút eltérés a jobban illeszkedő nemlineáris regressziótól nem nagyobb mint $\pm 0,1 \log_{10}$ humán EDTA-s plazmában (lásd 4. ábra). A lineáris tartományban a teszt pontossága $\pm 0,2 \log_{10}$ értéken belül volt.

4. ábra A lineáris tartomány meghatározása EDTA-s plazmában



Pontosság – laboratóriumon belül

A **cobas®** EBV pontosságát magas titerű EBV-DNS (1-es genotípus) sorozathígításainak elemzésével határozták meg EBV-negatív EDTA-s plazmában. Hat hígítási szintet vizsgáltak szintenként 72 ismételéssel a **cobas®** EBV reagensek három gyártási tételével, három készüléken és három kezelővel, 12 napon keresztül. Minden mintát végigvittek a teljes **cobas®** EBV eljárás a teljesen automatizált **cobas®** 6800/8800 rendszereken. Ezért az itt közölt pontosság a vizsgálati eljárás valamennyi aspektusát reprezentálja. Az eredményeket a 16. táblázatban tartalmazza.

A **cobas®** EBV nagy pontosságot mutatott a reagensek három gyártási tételén az 1,08E+02 IU/ml – 5,40+07 IU/ml koncentrációtartományban.

16. táblázat A **cobas®** EBV laboratóriumi pontosságán belül

Névleges koncentráció [IU/ml]	Megadott koncentráció [IU/ml]	EDTA-s plazma			
		1. tétel	2. tétel	3. tétel	Összes gyártási tétel
		SD	SD	SD	Poolozott SD
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

Genotípus szerinti ellenőrzés

A **cobas**® EBV teljesítményét az EBV 2-es genotípusán a következőkkel értékelték ki:

- A kimutatási határ ellenőrzése
- A lineáris tartomány ellenőrzése

A kimutatási határ ellenőrzése a 2-es genotípusra

Az EBV-DNS 2-es genotípusát három különböző koncentrációszintre hígították EBV-negatív EDTA-s plazmával. A találati arány megállapítását minden szint esetén 63 ismétléssel végezték. A tesztelést a **cobas**® EBV reagensok három gyártási tételével végezték több munkamenetben, napon, kezelővel és készüléken. Az eredmények igazolják, hogy a **cobas**® EBV az EBV-DNS 2-es genotípusát $\geq 95\%$ -os találati aránnyal 18,8 IU/ml koncentrációnál mutatja ki.

A lineáris tartomány ellenőrzése a 2-es genotípusra

A **cobas**® EBV-genotípusok linearitási vizsgálatában használt hígítási sorozat nyolc paneltagból állt, amelyek lefedték a teszt lineáris tartományát. A tesztelést a **cobas**® EBV reagens három gyártási tételével végezték. Szintenként 12 ismétlést teszteltek EDTA-s plazmában.

A **cobas**® EBV lineáris tartományát a 2-es genotípusra igazolták.

Specifititás

A **cobas**® EBV specifitását különböző donoroktól származó EBV-negatív EDTA-s plazmaminták elemzésével határozták meg. Százegy különböző EDTA-s plazmamintát teszteltek a **cobas**® EBV reagensok három gyártási tételével. A teszt szerint valamennyi minta negatív volt EBV-DNS-re. A tesztpanelben a **cobas**® EBV specifitása 100% volt (97,08% értékű alsó egyoldali 95%-os konfidenciaintervallum).

Analitikai specificitás

A **cobas®** EBV analitikai specificitását mikroorganizmusok panelje hígításainak elemzésével állapították meg EBV-DNS-pozitív és EBV-DNS-negatív EDTA-s plazmában. A koncentráció 1,00E+06 egység/ml (sejt/ml, CFU/ml, IFU/ml, CCU/ml) volt baktériumok és élesztőgomba esetén, és 3,00E+05 és 1,00E+06 egység/ml (IU/ml, kópia/ml, sejt/ml, TCID₅₀/ml) vírusok esetén. A tesztelt organizmusokat a 17. táblázatban tartalmazza. Minden paneltagot a **cobas®** EBV teszttel vizsgáltak. A nem EBV kórokozók egyike sem mutatott zavaró hatást a teszt teljesítményére.

17. táblázat Keresztreaktivitásra vizsgált mikroorganizmusok

Vírusok	Baktériumok	Sarjadzógomba
Adenovírus 5-ös típus	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
BK Polyomavírus	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovírus	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatitis B vírus	<i>Clostridium perfringens</i>	-
Hepatitis C vírus	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
Herpes simplex vírus 1	<i>Escherichia coli</i>	-
Herpes simplex vírus 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
Humán herpeszvírus 6	<i>Listeria monocytogenes</i>	-
Humán herpeszvírus 7	<i>Mycobacterium avium</i>	-
Humán herpeszvírus 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
Humán immundeficiencia vírus 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Humán immundeficiencia vírus 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Humán papillomavírus	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
JC vírus	<i>Salmonella enterica</i>	-
Parvovírus B19 SV40	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Varicella-zoster vírus	-	-

Analitikai specificitás – zavaró anyagok

Magas triglicerid (33,0 g/l), konjugált bilirubin (0,2 g/l), nem konjugált bilirubin (0,2 g/l), albumin (60,0 g/l), hemoglobin (2,0 g/l) és humán DNS (2 mg/l) tartalmú mintákat teszteltek EBV-DNS jelenlétében, illetve hiányában. A vizsgált endogén anyagok nem mutattak zavaró hatást a **cobas®** EBV teszt teljesítményével.

A 18. táblázatban felsorolt gyógyszervegyületeket is vizsgálták a C_{max} háromszorosánál, EBV-DNS jelenlétében, illetve hiányában.

A vizsgálat minden potenciálisan zavaró anyagról kimutatta, hogy nincs hatással a teszt teljesítményére.

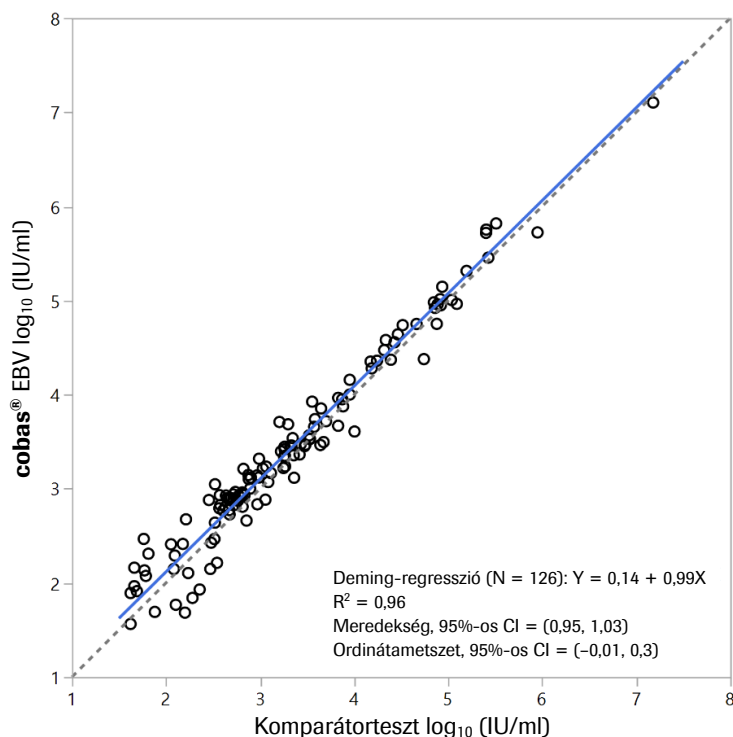
18. táblázat A cobas® EBV teszt EBV-DNS mennyiségi meghatározását esetlegesen zavaró gyógyszervegyületek vizsgálata

Gyógyszerosztály	Gyógyszer generikus neve	
Antimikrobiális	Cefotetan	Sulfamethoxazol
	Kálium-klavulanát	Ticarcillin dinátrium
	Flukonazol	Trimethoprim
	Piperacillin	Vancomycin
	Tazobactam nátrium	Mikafungin
Herpes vírusok kezelésére szolgáló vegyületek	Ganciclovir	Cidofovir
	Valganciclovir	Foscarnet
	Acyclovir	Letermovir
Immunszuppresszív szerek	Azathioprin	Prednizon
	Cyclosporin	Sirolimus
	Everolimus	Tacrolimus
	Mycophenolát mofetil	Mikofenolsav

Módszerkorreláció

A cobas® EBV teljesítményét komparátorteszttel hasonlították össze EBV-fertőzött betegek EDTA-s plazmamintáinak elemzésével. A mindkét teszt mennyiségi meghatározási tartományába eső EDTA-s plazmamintákat egy ismétléssel tesztelték. Deming-regressziós analízist végeztek.

A Deming-regresszióanalízis eredményeit a 5. ábra tartalmazza.

5. ábra A cobas® EBV és a komparátorteszt összehasonlítása regresszióelemzéssel

Teljes rendszerhiba

A cobas® EBV teljes rendszerhiba-arányát EBV-pozitív klinikai mintával oltott EDTA-s plazma 100 ismételéssel határozták meg. Ezeket a mintákat a kimutatási határ háromszorosának megfelelő koncentráción vizsgálták ($3 \times \text{LoD}$).

A vizsgálat eredményei szerint az összes ismételés teszteredménye érvényes és az EBV targetre pozitív volt, vagyis a teljes rendszerhiba aránya 0% (2,95% értékű felső egyoldali 95%-os konfidenciaintervallum).

Keresztszennyeződés

A cobas® EBV keresztszennyeződési arányát egy EBV-negatív mátrixminta 240 ismételéssel és egy magas titerű (kb. $2,00\text{E}+07$ IU/ml) EBV-minta 225 ismételéssel határozták meg. Összesen öt futtatást végeztek pozitív és negatív mintákkal, sakktáblaszerű konfigurációban.

A negatív minták mind a 240 ismételése negatív volt, vagyis a keresztszennyeződési arány 0% (egyoldali, felső, 1,24% értékű 95%-os konfidenciaintervallum).

Klinikai teljesítmény értékelése a cobas® 6800/8800 rendszereken

A cobas® EBV reprodukálhatósága

A cobas® EBV reprodukálhatóságát többféle olyan tényező (pl. reagensek gyártási tétele, teszt helyszíne, mintacsoportok és tesztelési napok) kombinációival vizsgálták, amelyek hatással lehetnek a rutin klinikai tesztek jelentett eredményeire. A vizsgálatot 3 teszthelyszínen, a reagensek 3 gyártási tételével, pozitív és negatív mintákból álló mintapanellel végezték, ami összesen 270 tesztet eredményezett (a kontrollokon felül). A panelek alapja EDTA-s, EBV VCA IgG-re negatív plazma volt, és ezeket tesztelték EBV-re a plazmából felszabaduló nukleinsavak protokolljával. Egyes paneleket a WHO egyik nemzetközi EBV-standardjával oltották, másokat EBV-sejttenyészet-felülszóval, ismét másokat pedig EBV-DNS-t tartalmazó lambdafággal. Mindegyik helyszínen két kezelő tesztelte mindegyik gyártási tételt 5 napon át. A kezelők naponta két futtatást végeztek (1 futtatás = 1 mintacsoport; 1 mintacsoport = 1 panel + 3 kontroll), és minden futtatásban minden paneltag 3-3 ismételése szerepelt. A kiértékelés eredményeit a 19. táblázat tartalmazza.

19. táblázat A teljes variancia (%TV) és a teljes pontossági szórás (SD) százalékaránya, valamint a EBV-DNS-koncentráció lognormális variációs együtthatója (CV%; log₁₀ IU/ml) pozitív paneltagonként

Várt EBV-DNS-koncentráció (log ₁₀ IU/ml)	Az EBV-DNS megfigyelt átlagos ^a koncentrációja (log ₁₀ IU/ml)	Tesztek száma ^b	Tétel %TV ^c (CV%) ^d	Hely %TV ^c (CV%) ^d	Nap/ kezelő %TV ^c (CV%) ^d	Futás %TV ^c (CV%) ^d	Futáson belül %TV ^c (CV%) ^d	Összes pontosság SD ^e	Összes pontosság 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 SAS MIXED eljárással számítva.

^b Kimutatható DNS-szintet eredményező érvényes tesztek száma.

^c %TV = a teljes variancia százalékos aránya.

^d CV% = lognormális százalékos relatív szórások = $\sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

^e A SAS MIXED eljárás szerinti teljes változékonyságból számítva.

Megjegyzés: A táblázat csak a kimutatható DNS-szintű eredményeket tartalmazza. SD = szórás. CV = relatív szórás; EBV = Epstein-Barr-vírus.

A **cobas® EBV** elfogadható klinikai reprodukálhatóságot mutatott a megfelelő összehasonlítható koncentráción. Ezenfelül a rendszer 100%-ban kimutatta az alsó mennyiségi meghatározási határ háromszorosának megfelelő koncentrációjú mintákat. A **cobas® 6800** és a **cobas® 8800** rendszerek hasonlóan moduláris kialakításúak, és a **cobas® EBV** teszt szempontjából ekvivalensnek bizonyultak. Az összes becsült 95%-os konfidenciahatár (CL) $\pm 0,53$ log₁₀ IU/ml-en belül volt egy-egy alanytól származó minta két mérésénél, ami arra utal, hogy a teszt ki tudja mutatni az EBV-DNS-szintek klinikailag relevánsnak tartott változásait.

A negatív paneltagokon 270 érvényes tesztet végeztek a **cobas® 6800/8800** rendszereken, és 14 mintánál (5,19%-nál) tapasztaltak pozitivitást az alsó mennyiségi meghatározási határ alatt. Az eredmények nem kapcsolódtak adott készülékhez, helyszínhez vagy reagenstételhez. A félig beágyazott PCR- és DNS-szekvenálás megerősítette az EBV-DNS jelenlétét ezekben a mintákban.

A cobas® EBV teljesítménye

A **cobas® EBV** klinikai teljesítményét tovább vizsgálták három helyszínen. EBV-vel fertőzött és nem fertőzött betegektől származó (hígítatlan és hígított) klinikai mintákat, valamint tenyésztett EBV-vel oltott mesterséges EDTA-s plazmaminták EBV-DNS-szintjét mérték, majd összehasonlították egy már bizonyított, laboratóriumban fejlesztett nukleinsavteszt eredményével („komparátor EBV-LDT”-vel). A **cobas® EBV**, valamint a komparátor EBV-teszttel vizsgált összes mintából 464 db (439 hígítatlan vagy hígított minta 72 transzplantált alanytól és 25 mesterséges minta) volt érvényes mindkét teszt szerint, és volt kiértékelhető a klinikai konkordanciaelemzéshez.

20. táblázat Konkordanciaelemzés a **cobas®** EBV és a komparátor LDT között az összes minta EBV-DNS-szintjének tekintetében

cobas® EBV (log ₁₀ IU/ml)	Komparátor EBV-LDT (log ₁₀ IU/ml) Target Not Detected	Komparátor EBV-LDT (log ₁₀ IU/ml) < LLoQ (< 2)	Komparátor EBV-LDT (log ₁₀ IU/ml) 2– < 2,6	Komparátor EBV-LDT (log ₁₀ IU/ml) 2,6– < 3,2	Komparátor EBV-LDT (log ₁₀ IU/ml) 3,2–3,8	Komparátor EBV-LDT (log ₁₀ IU/ml) > 3,8	Össze- sen
Target Not Detected	95	17	17	0	0	0	129
< LLoQ (< 2)	39	46	75	11	0	0	171
2– < 2,6	1	2	16	37	6	0	62
2,6– < 3,2	1	0	5	15	30	1	52
3,2–3,8	0	0	0	0	9	11	20
> 3,8	0	0	0	0	1	29	30
Összesen	136	65	113	63	46	41	464
Oszlop egyezése (%)	(134/136) 98,5%	(65/65) 100%	(96/113) 85,0%	(52/63) 82,5%	(40/46) 87,0%	(40/41) 97,6%	-
(95%-os CI) ^a	(94,8%, 99,6%)	(94,4%, 100%)	(77,2%, 90,4%)	(71,4%, 90,0%)	(74,3%, 93,9%)	(87,4%, 99,6%)	-

Megjegyzés: LLoQ = a komparátor EBV-LDT alsó mennyiségi meghatározási határa (100 IU/ml).

A komparátor EBV-LDT szórása a becslés szerint 0,3 log₁₀ IU/ml (EBV-LDT analitikai precizitási vizsgálata).

Ez a táblázat a klinikai konkordanciaelemzésre alkalmas összes mintapárt tartalmazza.

^a Az összes minta feltételezett függetlensége.

CI = konfidenciaintervallum.

Az olyan alanyok reprezentatív mintáin végzett DNS-szekvenálás, ahol az eredmények következetesen 1 log₁₀ IU/ml-nél DNS-szintnél többel tértek el, nem fedett fel szekvenciaeltérést a **cobas®** EBV teszt primer- és próbatargetjeinél.

Eltérő eredményeknek azt tekintették, amikor az eltérés a táblázat átlójánál egy mezőnél több (árnyékolt mezők). Az LDT-vel ki nem mutatott target (Target Not Detected by LDT) oszlop egyezése a **cobas®** EBV-vel ki nem mutatott target (Target Not Detected) és az „< LLoQ (< 2)” mezők kombinációja. Az adja a szomszédos „< LLoQ” és „TND” mezők összeadásának értelmét a „TND” oszlophoz, hogy a különbség egy „TND” és egy „< LLoQ” eredmény között klinikailag nem jelentős, és hogy ezek analitikai szempontból mindketten a mérési tartomány alján vannak, és így véletlen hibák hathatnak rájuk.

A 43 komparátor EBV-LDT negatív minta közül, amelyeket a **cobas®** EBV tesztel való negatív megfelelési arány (NPA) becsléséhez gyűjtöttek, 41 negatív volt a **cobas®** EBV szerint, vagyis az NPA 95,4% volt 84,2–99,4%-os pontos 95%-os konfidenciahatárnál. A két komparátor EBV-LDT negatív minta pozitív (< LLoQ) volt a **cobas®** EBV szerint, és szeropozitív EBV VCA IgG-re és EBNA-1 IgG-re a kiegészítő szerológiai eredmények szerint.

A **cobas®** EBV és a komparátor EBV-LDT közötti konkordanciát is kiértékelték különböző klinikai küszöbök mellett.

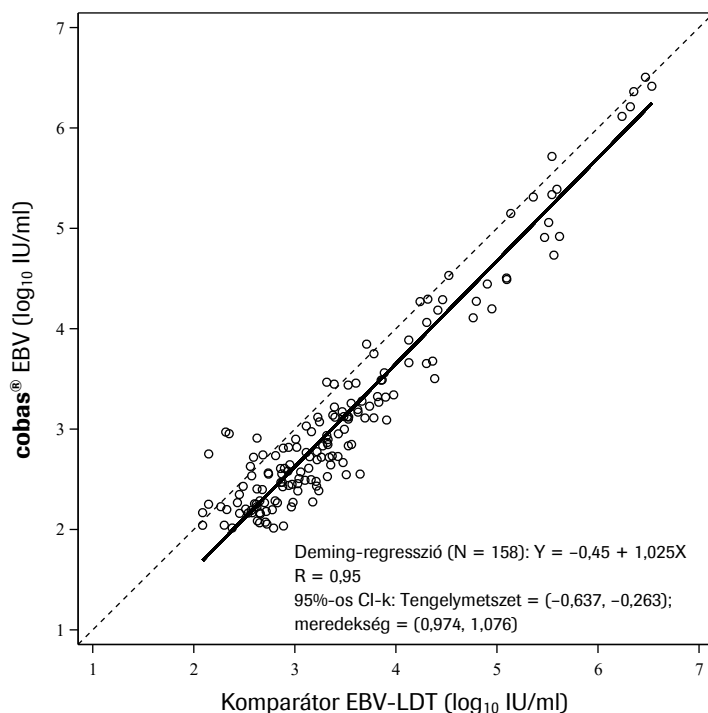
21. táblázat A cobas® EBV és a komparátor EBV-LDT konkordanciájának összegzése minden mintára, különböző küszöbök mellett

	Megfelelési arány < küszöb 95% CI^b (n/N)	Megfelelési arány ≥ küszöb 95% CI^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 IU/ml)	98,0% (197/201) (95,0%, 99,2%)	60,8% (160/263) (54,8%, 66,5%)
3,0 log ₁₀ IU/ml	100,0% (363/363) (99,0%, 100,0%)	64,4% (65/101) (54,6%, 73,0%)
4,0 log ₁₀ IU/ml	100,0% (431/431) (99,1%, 100,0%)	84,8% (28/33) (69,1%, 93,3%)

^a LLoQ = a komparátor EBV-LDT alsó mennyiségi meghatározási határa (100 IU/ml).

^b CI = konfidenciaintervallum.

Az összes cobas® EBV teszttel vizsgált, a komparátor EBV teszt szerint EBV-pozitív mintából 158 db (139 hígítatlan vagy hígított minta 28 transzplantált alanytól és 19 mesterséges minta) volt kiértékelhető korrelációelemzésre mindhárom vizsgálati helyszínen.

6. ábra Korreláció a cobas® EBV és a komparátor EBV-LDT teszt között az összes mintára: DNS-szintek Deming-féle lineáris regressziójának grafikonja (log₁₀ IU/ml)

A DNS-szintek különbségének további torzítási elemzése szerint szisztematikus, a lineáris tartományok átfedésében konstans különbség volt a két vizsgálat között. A torzítási grafikonok lineáris közelítése tengelymetszetének 95%-os CI-je $-0,456$ és $0,104$ között volt, ami a $\pm 0,6 \log_{10}$ IU/ml tartományba esik (ez a komparátor EBV-LDT analitikai precizitása szórásának ± 2 -szerese).

Ezenfelül az átlagos torzítást $-0,364 \log_{10}$ IU/ml-ként becsülték, a szisztematikus különbség pedig $-0,352 \log_{10}$ IU/ml, illetve $-0,376 \log_{10}$ IU/ml volt a két teszt között 3, illetve $4 \log_{10}$ IU/ml DNS-szint esetén.

Rendszerek ekvivalenciája/összehasonlítása

A **cobas® 5800**, **cobas® 6800** és **cobas® 8800** rendszerek ekvivalenciáját a teljesítmény vizsgálataival bizonyították.

A használati útmutatóban bemutatott eredmények alátámasztják, hogy az összes rendszer teljesítménye ekvivalens.

További információk

A teszt legfontosabb tulajdonságai

Mintatípus	EDTA-s plazma
Minimálisan szükséges mintamennyiség	350 µl*
Mintafeldolgozási térfogat	200 µl
Analitikai érzékenység	18,8 IU/ml
Lineáris tartomány	35,0 IU/ml – 1E+08 IU/ml
Specifitás	100%
Kimutatott genotípusok	EBV 1-es és 2-es genotípusa

* cobas® omni másodlagos csövek esetében 150 µl-es holt térfogattal kell számolni. A teszthez használt egyéb csöveknek eltérő holt térfogata lehet, és a minimális térfogat is eltérhet. További információkért forduljon a Roche helyi szervizképviselőjéhez.

Szimbólumok

A Roche PCR diagnosztikai termékek jelölésére a következő szimbólumokat használják.

22. táblázat A Roche PCR diagnosztikai termékek címkéjén használt szimbólumok

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

Technikai segítségnyújtás

Technikai segítségnyújtásért (segítségért) forduljon a helyi kirendeltséghez:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Gyártó és importőr

23. táblázat Gyártó és importőr



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

Készült az USA-ban



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Védjegyek és szabadalmak

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

Szerzői jogok

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Hivatkozások

1. 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.

Dokumentumverzió

Dokumentum verzióinformációi	
Doc Rev. 2.0 09/2022	Az első oldal és a 2. és 3. táblázat frissítve a kontrollkészletek további P/N kódjaival. A védjegyekre és szabadalmakra vonatkozó rész és a hivatkozás frissítve. Esetleges kérdésével forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.
Doc Rev. 3.0 05/2023	A minimális mintatérfogat szintje ismét az eredeti a Használati útmutatóban és A teszt legfontosabb tulajdonságai részben. Az illetékes hatóságra vonatkozó állítás frissítve. A cobas® márka jelzése frissítve. Kisebb átfogalmazások. Esetleges kérdésével forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

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