

## **cobas**<sup>®</sup> EBV

---

**Количественный тест  
для определения нуклеиновых кислот  
в системах cobas<sup>®</sup> 6800/8800 System**

*Для диагностики in vitro*

<b>cobas<sup>®</sup> EBV</b>	P/N: 08688206190
<b>cobas<sup>®</sup> EBV/BKV Control Kit</b>	P/N: 08688214190
<b>cobas<sup>®</sup> Buffer Negative Control Kit</b>	P/N: 07002238190

# Содержание

<b>Назначение</b> .....	<b>4</b>
<b>Описание теста</b> .....	<b>4</b>
<b>Реагенты и материалы</b> .....	<b>7</b>
Реагенты и контроли теста <b>cobas® EBV</b> .....	7
Реагенты <b>cobas omni</b> для пробоподготовки .....	10
Хранение реагентов и правила работы с ними.....	11
Необходимые дополнительные материалы .....	12
Необходимое оборудование и программное обеспечение .....	12
<b>Меры предосторожности и правила работы с реагентами</b> .....	<b>13</b>
Меры предосторожности .....	13
Обращение с реагентами.....	13
Надлежащая лабораторная практика .....	14
<b>Сбор, транспортировка и хранение образцов</b> .....	<b>14</b>
Образцы.....	14
<b>Инструкция по работе с набором</b> .....	<b>16</b>
Рекомендации по процедуре.....	16
Постановка теста <b>cobas® EBV</b> .....	16
<b>Результаты</b> .....	<b>17</b>
Контроль качества и валидности результатов.....	17
Интерпретация результатов .....	18
Ограничения процедуры .....	18

---

<b>Результаты неклинических испытаний теста .....</b>	<b>19</b>
Основные характеристики набора.....	19
Предел обнаружения (LoD).....	19
Линейный диапазон .....	20
Внутрилабораторная воспроизводимость.....	21
Верификация генотипов .....	21
Специфичность .....	22
Аналитическая специфичность.....	22
Аналитическая специфичность: интерферирующие вещества .....	23
Корреляция методов .....	24
Системные нарушения .....	24
Перекрестная контаминация .....	25
<b>Дополнительная информация .....</b>	<b>26</b>
Основные характеристики теста .....	26
Условные обозначения.....	27
Производитель и распространители.....	28
Товарные знаки и патенты.....	28
Авторское право .....	28
Литература .....	29
Редакция документа .....	31

## Назначение

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

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

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

## Описание теста

### Введение

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

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

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

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

Раннее выявление первичных ВЭБ-инфекций и мониторинг уровня ДНК могут помочь в оперативном терапевтическом вмешательстве для предотвращения прогрессирования заболевания, связанного с ВЭБ. В руководствах рекомендуется проводить регулярный мониторинг ВЭБ-инфекции с использованием количественных тестов для определения нуклеиновых кислот (НАТ), особенно у ВЭБ-негативных реципиентов трансплантатов, которые находятся в группе высокого риска<sup>4, 5</sup>. Хотя точный порог обнаружения вируса, значимый с медицинской точки зрения, все еще является предметом дискуссий из-за вариабельности результатов между тестами, концепция

критического порога представляется обоснованной и была обозначена в исследованиях естественного течения заболевания, показывающих, что более высокие уровни ДНК ВЭБ коррелируют с повышенным риском развития заболевания, связанного с ВЭБ, и ПТЛР<sup>4,5,7</sup>. Для тестирования на наличие ВЭБ используют образцы как плазмы, так и цельной крови, но факты свидетельствуют о том, что плазма более специфична для обнаружения ПТЛР<sup>4,5,7,8</sup>.

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

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

## Обоснование тестирования нуклеиновых кислот (НАТ)

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

## Принципы теста

**cobas® EBV** — это количественный тест, проводимый в системах **cobas® 6800 System** и **cobas® 8800 System**. **cobas® EBV**, который позволяет осуществлять детекцию и количественное определение ДНК ВЭБ в плазме с ЭДТА от инфицированных пациентов. Количественное определение вирусной нагрузки проводится относительно количественного стандарта ДНК (DNA-QS), не являющейся ДНК ВЭБ, который вносится в каждый образец во время пробоподготовки. DNA-QS также используется как внутренний контроль для мониторинга всего процесса пробоподготовки и амплификации в ПЦР. Также в тесте применяются три внешних контроля: положительный высокотитражный, положительный низкотитражный и отрицательный.

## Процедуры, лежащие в основе теста

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

Нуклеиновые кислоты образца и вносимых в него молекул лямбды DNA-QS выделяются одновременно. Вирусные нуклеиновые кислоты освобождаются в результате внесения в образец протеазы и лизирующего

реагента. Освободившаяся нуклеиновая кислота связывается с кремниевой поверхностью внесенных в образец магнитных стеклочастиц. Несвязавшиеся вещества и примеси, например денатурировавшие белки, клеточный дебрис, потенциальные ингибиторы ПЦР, удаляются на последующих этапах с помощью промывочного реагента, и очищенная нуклеиновая кислота элюируется со стеклочастиц буфером для элюции при повышенной температуре.

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

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

# Реагенты и материалы

## Реагенты и контроли теста cobas® EBV

Все неоткрытые емкости с реагентами и контролями должны храниться как рекомендовано в Табл. 1 до Табл. 4.

Табл. 1 cobas® EBV

cobas® EBV Хранить при 2–8 °С Кассета на 192 тестов (P/N 08688206190)		
Компоненты набора	Состав реагента	Количество в наборе 192 тестов
<b>Раствор протеазы (PASE)</b>	Трис буфер, < 0,05 % ЭДТА, хлорид кальция, ацетат кальция, 8 % протеаза  EUN210: паспорт безопасности предоставляется по запросу. EUN208: содержит субтилизин, может вызывать аллергическую реакцию.	22,3 мл
<b>Количественный стандарт ДНК (DNA QS)</b>	Трис буфер, < 0,05 % ЭДТА, < 0,001 % не относящийся к ВЭБ конструктор ДНК, содержащий не относящиеся к ВЭБ сайты посадки праймеров и уникального зонда (неинфекционная ДНК), < 0,002 % поли гА РНК (синтетическая), < 0,1 % азид натрия	21,2 мл
<b>Буфер для элюции (EB)</b>	Трис буфер, 0,2 % метил-4-гидроксибензоат	21,2 мл
<b>Мастермикс реагент 1 (MMX-R1)</b>	Ацетат марганца, гидроксид калия, < 0,1 % азид натрия	7,5 мл
<b>EBV мастермикс реагент 2 (EBV MMX-R2)</b>	Трициновый буфер, ацетат калия, глицерин, < 18 % диметилсульфоксид, глицерин, < 0,1 % Tween 20, ЭДТА, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01 % прямые и обратные праймеры для ВЭБ, < 0,01 % прямые и обратные праймеры для количественного стандарта, < 0,01 % меченные флуоресцентным красителем олигонуклеотидные зонды для ВЭБ и количественного стандарта ВЭБ, < 0,01 % олигонуклеотидный аптамер, < 0,1 % Z05D ДНК-полимераза, < 0,10 % фермент AmpErase (урацил-N-гликозилаза) (бактериальный), < 0,1 % азид натрия	9,7 мл

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

<b>cobas® EBV/BKV Control Kit</b> Хранить при 2–8 °C (P/N 08688214190)			
<b>Компоненты набора</b>	<b>Состав реагента</b>	<b>Количество в наборе</b>	<b>Маркировка безопасности и предупреждения *</b>
<b>Низкотитражный положительный контроль EBV/BKV (EBV/BKV L(+))</b>	< 0,001 % синтетическая (плазмидная) ДНК ВЭБ в оболочечном белке бактериофага Лямбда, нормальная плазма человека, негативная по ДНК ВЭБ при тестировании методом ПЦР. 0,1 % консервант ProClin® 300 **	4 мл (8 × 0,5 мл)	  <p><b>ВНИМАНИЕ</b>  H317: при контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию.  P261: избегать вдыхания пыли/дыма/газа/ тумана/паров/аэрозолей.  P272: не выносить загрязненную одежду с рабочего места.  P280: использовать защитные перчатки.  P333 + P313: при раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться к врачу.  P362 + P364: снять загрязненную одежду и выстирать ее перед использованием.  P501: утилизировать содержимое/контейнер в специализированном центре.  55965-84-9 Реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-он [ЕС № 247-500-7] и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он [ЕС № 220-239-6] (3:1)</p>
<b>Высокотитражный положительный контроль EBV/BKV (EBV/BKV H(+))</b>	< 0,001 % синтетическая (плазмидная) ДНК ВЭБ в оболочечном белке бактериофага Лямбда, нормальная плазма человека, негативная по ДНК ВЭБ при тестировании методом ПЦР. 0,1 % консервант ProClin® 300 **	4 мл (8 × 0,5 мл)	  <p><b>ВНИМАНИЕ</b>  H317: при контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию.  P261: избегать вдыхания пыли/дыма/газа/ тумана/паров/аэрозолей.  P272: не выносить загрязненную одежду с рабочего места.  P280: использовать защитные перчатки.  P333 + P313: при раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться к врачу.  P362 + P364: снять загрязненную одежду и выстирать ее перед использованием.  P501: утилизировать содержимое/контейнер в специализированном центре.  55965-84-9 Реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-4-изотиазолин-3-он [ЕС № 247-500-7] и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он [ЕС № 220-239-6] (3:1)</p>

\* Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

\*\* Опасное для здоровья вещество.

**Табл. 3** Набор буферных отрицательных контролей cobas® Buffer Negative Control Kit**cobas® Buffer Negative Control Kit**

Хранить при 2–8 °С

(P/N 07002238190)

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

## Реагенты cobas omni для пробоподготовки

Табл. 4 Реагенты cobas omni для пробоподготовки \*

Реагенты	Состав реагента	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения **
<b>Реагент cobas omni MGP Reagent (MGP)</b> Хранить при 2–8 °C (P/N 06997546190)	Магнитные стеклочастицы, трис буфер, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат, < 0,1 % азид натрия	480 тестов	Неприменимо
<b>Дилуэнт для образцов cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL)</b> Хранить при 2–8 °C (P/N 06997511190)	Трис буфер, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат, < 0,1 % азид натрия	4 × 875 мл	Неприменимо
<b>Лизирующий реагент cobas omni Lysis Reagent (LYS)</b> Хранить при 2–8 °C (P/N 06997538190)	43 % (м/м) гуанидин тиоцианат ***, 5 % (м/о) полидоканол ***, 2 % (м/о) дитиотреитол ***, дигидрат цитрата натрия	4 × 875 мл	  <p><b>ОПАСНО</b></p> <p>H302 + H332: вредно при проглатывании или вдыхании.            H314: вызывает серьезные ожоги и повреждения глаз.            H412: вредно для водной флоры и фауны с долгосрочными последствиями.            EUH032: при контакте с кислотой выделяет особо токсичный газ.</p> <p>P261: избегать вдыхания пыли/дыма/газа/тумана/паров/аэрозолей.            P273: избегать попадания в окружающую среду.            P280: использовать перчатки, спецодежду и средства для защиты глаз/лица.            P303 + P361 + P353 ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой/под душем.            P304 + P340 + P310 ПРИ ВДЫХАНИИ: вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту.            P305 + P351 + P338 + P310 ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту.</p> <p>593-84-0 гуанидин тиоцианат            9002-92-0 полидоканол            3483-12-3 (R*,R*)-1,4-димеркаптобутан-2,3-диол</p>
<b>Промывочный реагент cobas omni Wash Reagent (WASH)</b> Хранить при 15–30 °C (P/N 06997503190)	Дигидрат цитрата натрия, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат	4,2 л	Неприменимо

\* Данные реагенты не входят в набор cobas® EBV. См. перечень необходимых дополнительных материалов (Табл. 7).

\*\* Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

\*\*\* Опасное для здоровья вещество.

## Хранение реагентов и правила работы с ними

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

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

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

Реагент	Температура хранения
cobas® EBV – 192	2–8 °C
cobas® EBV/BKV Control Kit	2–8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2–8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2–8 °C
cobas omni MGP Reagent	2–8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2–8 °C
cobas omni Wash Reagent	15–30 °C

Когда реагенты загружены в системы cobas® 6800/8800 System, они хранятся при необходимых температурах и их сроки годности отслеживаются системой. Системы cobas® 6800/8800 System допускают использование реагентов, только если они соответствуют всем условиям, приведенным в Табл. 6. Система автоматически блокирует использование реагентов с истекшим сроком годности. Табл. 6 содержит сведения об условиях использования реагентов в соответствии с требованиями систем cobas® 6800/8800 System.

**Табл. 6** Требования систем cobas® 6800/8800 System к срокам хранения реагентов

Реагент	Срок годности набора	Стабильность открытого набора	Число постановок, для которых может использоваться набор	Стабильность после загрузки (общее время в системе, вне холодильника)
cobas® EBV – 192	Не истек	90 дней после первого использования	Максимум 40 постановок	Максимум 40 часов
cobas® EBV/BKV Control Kit	Не истек	Неприменимо <sup>a</sup>	Неприменимо	Максимум 8 часов
cobas® Buffer Negative Control Kit	Не истек	Неприменимо <sup>a</sup>	Неприменимо	Максимум 10 часов
cobas omni Lysis Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni MGP Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni Specimen Diluent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni Wash Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо

<sup>a</sup> Реагенты для однократного применения.

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

## Необходимые дополнительные материалы

Табл. 7 Реагенты и расходные материалы для работы с системами **cobas®** 6800/8800 System

Материал	P/N
Планшет для обработки образцов <b>cobas omni</b>	05534917001
Планшет для амплификации <b>cobas omni</b>	05534941001
Наконечники <b>cobas omni</b>	05534925001
Контейнер для жидких отходов <b>cobas omni</b>	07094388001
<b>cobas omni</b> Lysis Reagent	06997538190
<b>cobas omni</b> MGP Reagent	06997546190
<b>cobas omni</b> Specimen Diluent	06997511190
<b>cobas omni</b> Wash Reagent	06997503190
Пакет для твердых отходов	07435967001
Пакет для твердых отходов и контейнер для твердых отходов или Пакет для твердых отходов с вставкой и ящик для наборов	07435967001 и 07094361001 или 08030073001 и 08387281001
Контейнер для твердых отходов	07094361001
Вторичные пробирки <b>cobas omni</b> 13 × 75 (опционально)	06438776001

## Необходимое оборудование и программное обеспечение

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

Табл. 8 Приборы

Оборудование	P/N
Система <b>cobas®</b> 6800 System (опция — подвижная)	06379672001
Система <b>cobas®</b> 6800 System (фиксированная)	05524245001
Система <b>cobas®</b> 8800 System	05412722001
Модуль подачи образцов	06301037001

Дополнительную информацию см. в поддержке пользователя и/или руководстве пользователя систем **cobas®** 6800/8800 Systems.

Примечание. Обратитесь в ваше региональное представительство Roche за подробным списком штативов для образцов, штативов для засоренных наконечников и подставок для штативов, подходящих приборам.

# Меры предосторожности и правила работы с реагентами

## Меры предосторожности

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

- Только для диагностики *in vitro*.
- Тест **cobas® EBV** не валидирован для использования в качестве скринингового теста на наличие ВЭБ в крови и ее продуктах.
- Все образцы нужно рассматривать как потенциально инфекционные и соблюдать при работе с ними правила биологической безопасности, приведенные в документах Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories и CLSI Document M29-A4<sup>15, 16</sup>. Только персонал, обученный работе с инфекционными материалами, а также работе с тестом **cobas® EBV** и системами **cobas® 6800/8800 System**, может выполнять данную процедуру.
- Все материалы человеческого происхождения должны рассматриваться как потенциально инфекционные, работать с ними нужно с соблюдением стандартных мер предосторожности. При разливе материалов немедленно проведите дезинфекцию свежеприготовленным 0,5%-м раствором гипохлорита натрия в дистиллированной или деионизованной воде (соответствует разведению — 1:10 бытовой хлорки) или следуйте стандартным инструкциям, принятым в вашей организации.
- Набор контролей **cobas® EBV/BKV Control Kit** содержит плазму, полученную из человеческой крови. Исходный материал тестировался методами ПЦР, при этом обнаруживались приемлемые признаки низких уровней ДНК ВЭБ. Ни один из известных методов не может обеспечить полную гарантию отсутствия инфекционных агентов в продуктах крови человека.
- **Не замораживайте цельную кровь и другие образцы, находящиеся в первичных пробирках.**
- Для оптимального выполнения теста используйте только входящие в состав системы или рекомендованные для нее производителем расходные материалы.
- Паспорта безопасности материалов (SDS) доступны по запросу в вашем региональном представительстве компании Roche.
- Внимательно следуйте рекомендациям и инструкциям для корректного проведения теста. Любое отклонение от инструкции может повлиять на результаты теста.
- Ложноположительные результаты могут быть получены при отсутствии адекватного контроля перекрестных контаминаций образцов на этапах пробоподготовки.
- Поскольку > 90 % взрослых являются хроническими носителями ВЭБ и могут выделять до 10<sup>8</sup> копий/мл ВЭБ со слюной, а также учитывая высокую чувствительность анализа, важно применять достаточные меры контроля контаминации в лабораториях.<sup>17</sup>

## Обращение с реагентами

- Работайте со всеми реагентами, контролями и образцами в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики для предотвращения перекрестной контаминации образцов и контролей.
- Перед началом работы осмотрите все кассеты реагентов, дилуэнт, лизирующий реагент и промывочный реагент и убедитесь в отсутствии протекания. При наличии протечки не используйте данный материал для постановки теста.
- Лизирующий реагент **cobas omni Lysis Reagent** содержит гуанидин тиоцианат — потенциально опасное вещество. Не допускайте попадания реагента на кожу, в глаза, на слизистые оболочки. В случае попадания немедленно смойте большим количеством воды; в противном случае может возникнуть ожог.

- Реагенты наборов **cobas® EBV**, реагент **cobas omni MGP Reagent** и дилуэнт для образцов **cobas omni Specimen Diluent** содержат в качестве консерванта азид натрия. Не допускайте попадания реагента на кожу, в глаза, на слизистые оболочки. В случае попадания немедленно смойте большим количеством воды; в противном случае может возникнуть ожог. При проливе этих реагентов залейте их водой и затем вытрите.
- Не допускайте контакта лизирующего реагента **cobas omni Lysis Reagent**, содержащего гуанидин тиоцианат, с раствором гипохлорита натрия (хлорки). Данная смесь может выделять высокотоксичный газ.
- Утилизируйте все материалы, контактировавшие с образцами и реагентами, в соответствии с государственными, федеральными и региональными правилами.

## Надлежащая лабораторная практика

- Не пипетируйте ртом.
- Не ешьте, не пейте и не курите в рабочих лабораторных помещениях.
- Работайте с любыми реагентами и образцами в средствах для защиты глаз, лабораторном халате и одноразовых перчатках. Для предотвращения контаминации меняйте перчатки после работы с образцами и наборами **cobas® EBV**, **EBV/BKV Low Positive Control (EBV/BKV L(+))C**, **EBV/BKV High Positive Control (EBV/BKV H(+))C**, **cobas® Buffer Negative Control (eBUF (-)) C** и реагентами **cobas omni**. Не допускайте контаминации перчаток при работе с образцами и контролями.
- Тщательно мойте руки после работы с образцами и компонентами набора и после снятия перчаток.
- Тщательно очищайте и дезинфицируйте все рабочие поверхности свежеприготовленным 0,5%-м раствором гипохлорита натрия в дистиллированной или деионизованной воде (разведите бытовую хлорку в соотношении 1:10), затем протирайте их 70%-м этанолом.
- При разливе материала в приборе **cobas® 6800/8800** проведите очистку и дезинфекцию поверхности прибора(ов) в соответствии с инструкциями в поддержке пользователя и/или руководстве пользователя систем **cobas® 6800/8800 Systems**.

## Сбор, транспортировка и хранение образцов

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

Храните все образцы при рекомендованных температурах.

Стабильность образцов снижается при повышенных температурах.

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

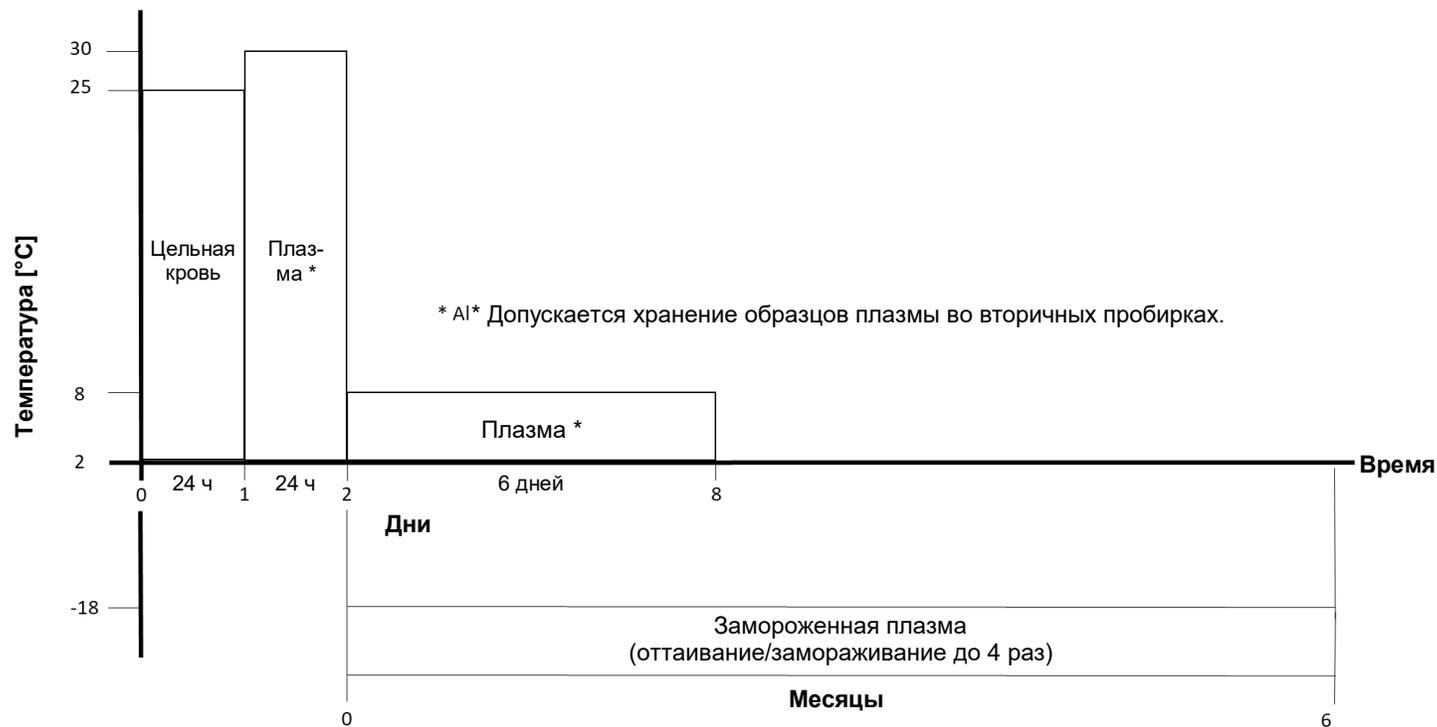
Если есть подозрение, что клетки в плазме ресуспендировались после центрифугирования, повторите центрифугирование перед обработкой на приборе.

## Образцы

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

- Образцы плазмы стабильны до четырех циклов оттаивания/замораживания при хранении при температуре  $\leq -18$  °C.

Рис. 1 Условия хранения образцов



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

# Инструкция по работе с набором

## Рекомендации по процедуре

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

## Постановка теста cobas® EBV

Тест **cobas® EBV** можно проводить для одного требующегося объема образца, равного 200 мкл. Процедура теста подробно описана в поддержке пользователя и/или руководстве пользователя систем **cobas® 6800/8800 Systems**. На Рис. 2 ниже приведена схема постановки теста.

Рис. 2 Процедура теста **cobas® EBV**

<b>1</b>	Создание задания(й)
<b>2</b>	Пополнение реагентов и расходных материалов по запросу системы: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Повторно загрузить промывочный реагент, лизирующий реагент и дилуэнт</li> <li>• Повторно загрузить планшеты для обработки и амплификации</li> <li>• Повторно загрузить магнитные стеклочастицы</li> <li>• Повторно загрузить тест-специфичные реагенты</li> <li>• Повторно загрузить кассеты с контролями</li> <li>• Повторно загрузить штативы с наконечниками</li> <li>• Заменить штатив для засоренных наконечников</li> </ul>
<b>3</b>	Начните постановку, нажав кнопку «Ручной старт» в пользовательском интерфейсе, в ином случае выберите запуск автоматически через 120 минут или если партия заполнена.
<b>4</b>	Обзор и экспорт результатов
<b>5</b>	Выгрузка реагентов и расходных материалов: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Выгрузить планшеты для амплификации из аналитического модуля</li> <li>• Выгрузить пустые кассеты для контролей</li> <li>• Удалить твердые отходы</li> <li>• Удалить жидкие отходы</li> </ul>

## Результаты

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

### Контроль качества и валидности результатов

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

Результаты автоматически инвалидируются программой **cobas**® 6800/8800, если отрицательный или положительный контроли невалидны.

### Сигнальные сообщения для контролей

**Табл. 9** Сигнальные сообщения для отрицательного и положительных контролей

Отрицательный контроль	Сообщение	Результат	Интерпретация
(-) C	Q02 (Невалидные результаты постановки для партии контролей)	Invalid	Невалидный результат, или рассчитанное значение для отрицательного контроля не является негативным.
Положительный контроль	Сообщение	Результат	Интерпретация
EBV/BKV L(+)C	Q02 (Невалидные результаты постановки для партии контролей)	Invalid	Невалидный результат, или рассчитанное значение для низкотитражного положительного контроля находится вне заданного диапазона.
EBV/BKV H(+)C	Q02 (Невалидные результаты постановки для партии контролей)	Invalid	Невалидный результат, или рассчитанное значение для высокотитражного положительного контроля находится вне заданного диапазона.

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

## Интерпретация результатов

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

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

**Табл. 10** Интерпретация результатов по отдельным мишеням

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

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

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

## Ограничения процедуры

- Тест **cobas® EBV** валидирован только для работы с набором контролей **cobas® EBV/BKV Control Kit**, набором отрицательных контролей **cobas® Buffer Negative Control Kit**, реагентом **cobas omni MGP Reagent**, лизирующим реагентом **cobas omni Lysis Reagent**, дилуентом для образцов **cobas omni Specimen Diluent** и промывочным реагентом **cobas omni Wash Reagent** в системах **cobas® 6800/8800 System**.
- Надежность результатов теста зависит от адекватности сбора, хранения и обработки образцов.
- Данный тест валидирован только для тестирования образцов плазмы человека с ЭДТА. Тестирование в **cobas® EBV** образцов другого типа может привести к неверным результатам теста. Значения вирусной нагрузки в образцах плазмы не могут сравниваться напрямую со значениями, полученными для образцов другого типа.
- Количественное определение ДНК ВЭБ зависит от методов сбора образцов, факторов пациента (например, наличие симптомов) и /или стадии инфекции.
- Как и при проведении любого молекулярного теста, мутации в участках вирусного генома, являющихся мишенями теста **cobas® EBV**, могут препятствовать связыванию праймеров или зондов и в результате приводить к заниженной оценке вирусной концентрации или неспособности обнаружить вирус.

- Вследствие естественных различий между технологиями пользователю рекомендуется, прежде чем заменить одну технологию на другую, провести корреляционные испытания для двух методов, чтобы оценить возможные различия между технологиями. Пользователи должны следовать политике и процедурам, принятым в их учреждении.
- Тест cobas® EBV не предназначен для применения в качестве скринингового теста на наличие ВЭБ в крови или ее продуктах.

## Результаты неклинических испытаний теста

### Основные характеристики набора

#### Предел обнаружения (LoD)

#### Международный стандарт ВОЗ

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

Результаты для образцов плазмы с ЭДТА приведены в Табл. 11 – Табл. 13. Полученные результаты продемонстрировали, что при использовании наименее чувствительного лота при тестировании плазмы с ЭДТА концентрация, для которой ожидается частота выявления 95 % по PROBIT, составила 18,8 МЕ/мл; при этом 95%-й доверительный интервал составил 14,5–27,5 МЕ/мл. Наиболее низкая концентрация в образцах плазмы с ЭДТА при частоте выявления  $\geq 95$  % составила 20,0 МЕ/мл.

Табл. 11 Предел обнаружения для образцов плазмы с ЭДТА, лот 1

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

Табл. 12 Предел обнаружения для образцов плазмы с ЭДТА, лот 2

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

Табл. 13 Предел обнаружения для образцов плазмы с ЭДТА, лот 3

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

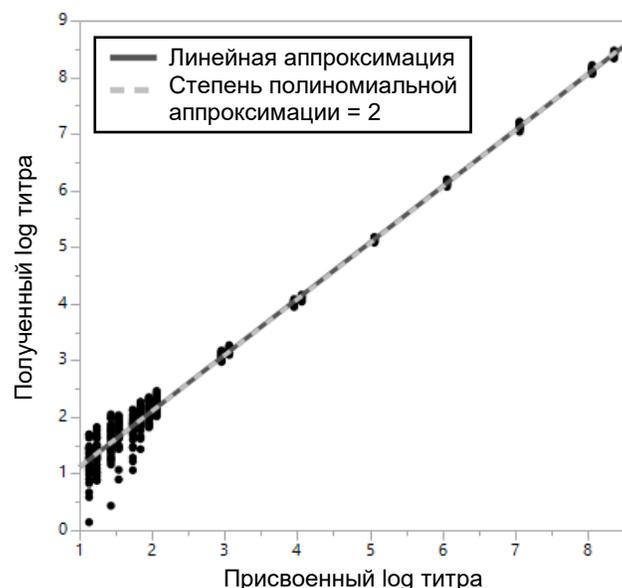
## Линейный диапазон

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

Тестирование проводили в 36 повторах для каждой концентрации с тремя лотами набора реагентов **cobas**® EBV, результаты представлены на Рис. 3.

Линейный диапазон теста **cobas**® EBV при тестировании плазмы человека с ЭДТА составил от  $1,40E+01$  МЕ/мл до  $2,30E+08$  МЕ/мл при абсолютном отклонении от оптимальной нелинейной регрессии менее или равном  $\pm 0,1 \log_{10}$  (см. Рис. 3). В пределах линейного диапазона точность теста составляет  $\pm 0,2 \log_{10}$ .

Рис. 3 Линейный диапазон определения в плазме с ЭДТА



## Внутрилабораторная воспроизводимость

Воспроизводимость теста **cobas**® EBV определяли методом анализа серии разведений высокотитражной ДНК ВЭБ (генотип 1) в ВЭБ-негативной плазме с ЭДТА. Всего тестировали шесть разведений в 72 повторах для каждого разведения с тремя лотами набора реагентов **cobas**® EBV на трех приборах с участием трех операторов на протяжении 12 дней. Каждый образец проходил полную постановку теста **cobas**® EBV в полностью автоматизированных системах **cobas**® 6800/8800 System. Таким образом, данные по воспроизводимости отражают все аспекты тестирования. Полученные результаты приведены в Табл. 14.

Тест **cobas**® EBV продемонстрировал высокую воспроизводимость для трех лотов набора реагентов, тестируемых в диапазоне концентраций от  $1,08E+02$  МЕ/мл до  $5,40E+07$  МЕ/мл.

Табл. 14 Внутрилабораторная воспроизводимость теста **cobas**® EBV

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

## Верификация генотипов

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

- Верификация предела обнаружения
- Верификация линейного диапазона

## Верификация предела обнаружения для генотипа 2

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

## Верификация линейного диапазона для генотипа 2

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

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

## Специфичность

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

## Аналитическая специфичность

Аналитическую специфичность теста **cobas® EBV** определяли путем разведения панели образцов микроорганизмов до концентрации  $1,00E+06$  единиц/мл (клеток/мл, КОЕ/мл, ИЕ/мл, ЦОЕ/мл) для бактерий и грибов и от  $3,00E+05$  до  $1,00E+06$  единиц/мл (МЕ/мл, копий/мл, клеток/мл, ИТД<sub>50</sub>/мл) для вирусов с плазмой с ЭДТА, положительной по ДНК ВЭБ, и плазмой с ЭДТА, отрицательной по ДНК ВЭБ. Тестируемые микроорганизмы приведены в Табл. 15. Каждый образец панели тестировали в тесте **cobas® EBV**. Ни один из тестируемых патогенов, не относящихся к ВЭБ, не оказывал интерферирующего влияния на результаты теста.

Табл. 15 Микроорганизмы, тестируемые для определения перекрестной реактивности

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

### Аналитическая специфичность: интерферирующие вещества

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

Кроме того, лекарственные препараты, приведенные в Табл. 16, тестировали в концентрациях, превышающих в три раза  $C_{max}$ , в присутствии и в отсутствие ДНК ВЭБ.

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

**Табл. 16** Лекарственные препараты, тестируемые для выявления интерферирующего влияния на количественное определение ДНК ВЭБ в тесте **cobas® EBV**

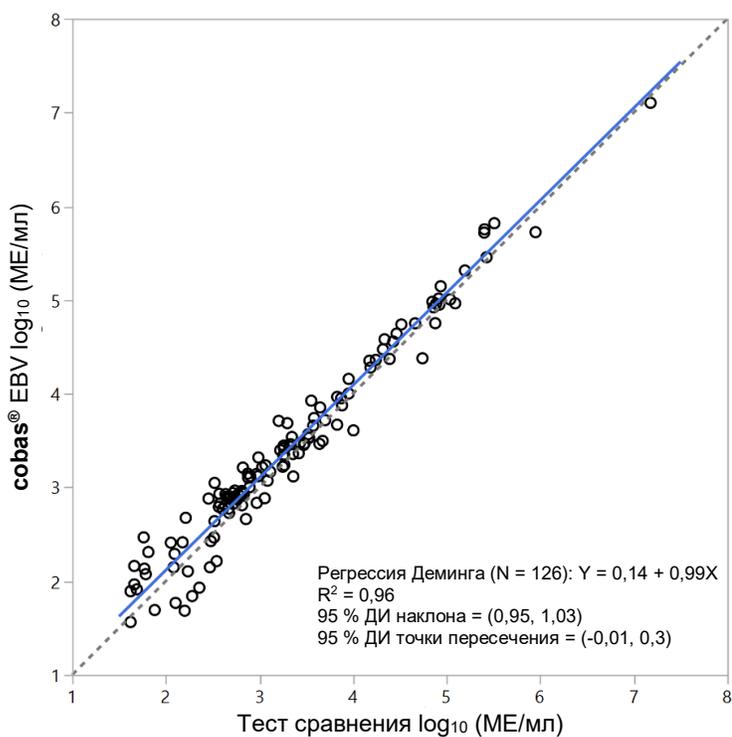
Класс лекарственного препарата	Международное непатентованное название препарата	
Антимикробный препарат	Цефотетан	Сульфаметоксазол
	Калия клавуланат	Двунатриевый тикарциллин
	Флуконазол	Триметоприм
	Пиперациллин	Ванкомицин
	Натрия тазобактам	Микафунгин
Препараты для лечения герпетических инфекций	Ганцикловир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

## Корреляция методов

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

Результаты анализа методом регрессии Деминга приведены на Рис. 4.

**Рис. 4** Регрессионный анализ результатов теста **cobas® EBV** и теста сравнения



## Системные нарушения

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

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

## Перекрестная контаминация

Частоту перекрестной контаминации в тесте **cobas**® EBV определяли при тестировании ВЭБ-негативного матрикса в 240 повторах и высокотитражного образца ВЭБ с приблизительным титром  $2,00\text{E}+07$  МЕ/мл в 225 повторах. Всего было проведено 5 постановок, в которых положительные и отрицательные образцы были расставлены в шахматном порядке.

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

## Дополнительная информация

### Основные характеристики теста

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

\* Для вторичных пробирок **cobas omni** определен мертвый объем 150 мкл. У других пробирок, используемых для тестирования, может быть иной мертвый объем, и требуемый минимальный объем может быть больше или меньше.

## Условные обозначения

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

Табл. 17 Символы, применяемые для маркировки продукции для ПЦР-диагностики компании Roche

	Вспомогательное программное обеспечение		Нижний предел заданного диапазона		Отрицательный контроль
	Авторизованный представитель в Европейском сообществе		Верхний предел заданного диапазона		Положительный контроль
	Список штрихкодов		Хранить в темноте		Контроль
	Номер лота		Рассчитано на <n> тестов		Заданный диапазон (копии/мл)
	Биологическая опасность		Температурный диапазон		Заданный диапазон (МЕ/мл)
	Номер по каталогу		Файл с описанием теста		Стандартная процедура
	Обратитесь к инструкции		Производитель		Сверхчувствительная процедура
	Состав набора		Использовать до		Копии количественного стандарта (КС) на ПЦР-реакцию; при подсчете результатов значения представляйте в виде копий КС на ПЦР-реакцию.
	Распространитель		Глобальный номер товара		МЕ КС на ПЦР-реакцию; при подсчете результатов значения представляйте в виде Международных единиц (МЕ) КС на ПЦР-реакцию.
	Только для испытаний IVD		Серийный номер		Маркировка соответствия требованиям ЕС — это изделие соответствует применимым требованиям для выдачи сертификата ЕС на медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i> .
	Только для США. Федеральное законодательство ограничивает право продажи данного устройства терапевтом или по его рецепту.		Дата производства		
	Средство медицинского назначения для диагностики <i>in vitro</i>		Не используйте повторно		

Телефон службы технической поддержки в США: 1-800-526-1247

## Производитель и распространители

Табл. 18 Производитель и распространители



Roche Molecular Systems, Inc.  
1080 US Highway 202 South  
Branchburg, NJ 08876 USA  
[www. Roche.com](http://www. Roche.com)



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics  
9115 Hague Road  
Indianapolis, IN 46250-0457 USA  
(For Technical Assistance call the  
Roche Response Center  
toll-free: 1-800-526-1247)

## Товарные знаки и патенты

См. <http://www. Roche-diagnostics.us/patents>

## Авторское право

© Roche Molecular Systems, Inc., 2020.



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Str. 116  
68305 Mannheim  
Germany



## Литература

1. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplant recipients: a global perspective. Preface. *Bone Marrow Transplant*. 2009;44:453-5. doi: 10.1038/bmt.2009.254. PubMed PMID: 19861977.
2. Green M. Introduction: Infections in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:3-8. doi: 10.1111/ajt.12093. PubMed PMID: 23464993.
3. Cohen JI. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med*. 2000;343:481-92. doi: 10.1056/NEJM200008173430707. PubMed PMID: 10944566.
4. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, et al.; Sixth European Conference on Infections in Leukemia, a joint venture of the Infectious Diseases Working Party of the European Society of Blood and Marrow Transplantation (EBMT-IDWP), the Infectious Diseases Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC-IDG), the International Immunocompromised Host Society (ICHS) and the European Leukemia Net (ELN). 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. doi:10.3324/haematol.2016.144428. Review. PubMed PMID: 27365460; PubMed Central PMCID: PMC5004459.
5. Allen UD, JK Preiksaitis; AST Infectious Diseases Community of Practice. Epstein-Barr virus and posttransplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:107-20. doi: 10.1111/ajt.12104. PubMed PMID: 23465004.
6. San-Juan R, Comoli P, Caillard S, Moulin B, Hirsch HH, P Meylan; ESCMID Study Group of Infection in Compromised Hosts. Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20 Suppl 7:109-18. doi: 10.1111/1469-0691.12534. PubMed 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*. 2015;2:e48. . doi: 10.1097/TXD.0000000000000557. eCollection 2016 Jan. PubMed PMID: 27500242; PubMed Central PMCID: PMC4946499.
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. doi: 10.1111/j.1600-6143.2008.02183.x. PubMed PMID: 18312608.
9. Fryer JF, Heath AB, Wilkinson DE, et al.; Collaborative Study Group. A collaborative study to establish the 1st WHO International Standard for Epstein-Barr virus for nucleic acid amplification techniques. *Biologicals*. 2016;44:423-33. doi: 10.1016/j.biologicals.2016.04.010. Epub 2016 Jul 22. PubMed 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. PubMed 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. PubMed PMID: 7845459.
12. Mol CD, Arvai AS, Slupphau G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78. PubMed PMID: 7697717.
13. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY)*. 1992;10:413-7. PubMed PMID: 1368485.
14. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. doi: 10.1101/gr.6.10.986. PubMed PMID: 8908518.

15. Center 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-Fourth Edition. 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(7):e1000496. doi: 10.1371/journal.ppat.1000496. Epub 2009 Jul 3. PMID: 19578433.

## Редакция документа

Сведения о редакции документа	
Doc Rev. 2.0 08/2020	<p>Увеличен срок хранения образцов во вторичных пробирках (при <math>\leq -18</math> °C) до 6 месяцев.</p> <p>В раздел <b>Меры предосторожности</b> добавлено примечание о мерах контроля контаминации.</p> <p>Обновлен раздел <b>Надлежащая лабораторная практика</b>.</p> <p>В раздел <b>Сбор, транспортировка и хранение образцов</b> добавлено примечание о повторном центрифугировании образцов.</p> <p>В <b>таблицу 10</b> в разделе <b>Интерпретация результатов</b> добавлена сноска о результатах &lt; Titer Min.</p> <p>Обновлена таблица символов.</p> <p>В случае возникновения вопросов свяжитесь с местным представительством компании Roche.</p>