

cobas[®] DPX

Dupleksowy test kwasu nukleinowego wirusa HAV i parwowirusa B19

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

cobas [®] DPX – 192	P/N: 09171126190
cobas [®] DPX Control Kit	P/N: 09040749190
cobas [®] Buffer Negative Control Kit	P/N: 09051953190
cobas omni MGP Reagent	P/N: 06997546190
cobas omni Specimen Diluent	P/N: 06997511190
cobas omni Lysis Reagent	P/N: 06997538190
cobas omni Wash Reagent	P/N: 06997503190

Spis treści

Przeznaczenie	4
Podsumowanie oraz opis testu	4
Odczynniki i materiały	8
Odczynniki i kontrole do testu cobas® DPX	8
Odczynniki cobas omni do przygotowywania próbek	11
Wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania odczynników	12
Wymagane materiały dodatkowe.....	13
Wymagane urządzenia i oprogramowanie	13
Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania	14
Ostrzeżenia i środki ostrożności.....	14
Użytkowanie odczynników	14
Dobra praktyka laboratoryjna	15
Pobieranie, transport, przechowywanie i pulowanie próbek	15
Próbki pochodzące od żywych dawców	15
Instrukcja użytkowania	18
Automatyczne pipetowanie i pulowanie próbek (opcjonalne)	18
Ustalanie wartości odcięcia dla parwowirusa B19	18
Uwagi dotyczące wykonania testu	18
Wykonywanie testu cobas® DPX	19
Wyniki	20
Kontrola jakości i ważność wyników.....	20
Interpretacja wyników	21
Powtarzanie testu dla poszczególnych próbek	22
Ograniczenia metody.....	22

Niekliniczna ocena wiarygodności	23
Najważniejsze parametry działania testu – próbki od dawców żyjących.....	23
Granica wykrywalności (LoD)	23
Zakres liniowy oznaczalności wirusa B19	24
Odtwarzalność.....	25
Precyzja	25
Reprezentatywność genotypowa – HAV	26
Weryfikacja genotypu dla parwowirusa B19.....	26
Swoistość analityczna	27
Swoistość analityczna – substancje interferujące	29
Korelacja	29
Błąd całego systemu.....	31
Kontaminacja między próbkami	31
Wiarygodność kliniczna.....	32
Odtwarzalność	32
Dodatkowe informacje	34
Najważniejsze cechy testu	34
Oznaczenia	35
Pomoc techniczna	36
Wytwórca i importer.....	36
Znaki towarowe i patenty.....	36
Prawo autorskie	36
Piśmiennictwo	37
Wersja dokumentu.....	40

Przeznaczenie

Test cobas® DPX to test *in vitro* do bezpośredniego ilościowego oznaczania DNA genotypów 1, 2 i 3 parwowirusa B19 i bezpośredniego wykrywania jakościowego RNA genotypów I, II i III wirusa zapalenia wątroby typu A (HAV) w osoczu ludzkim.

Niniejszy test jest przeznaczony do stosowania jako test procesowy do oznaczania ilościowego DNA parwowirusa B19 albo do jednoczesnego oznaczania ilościowego DNA parwowirusa B19 oraz wykrywania RNA HAV w przeznaczonym do dalszego przetwarzania osoczu pobranym od dawców krwi pełnej, składników krwi lub osocza. Osocze od wszystkich dawców lub pul produkcyjnych może być badane w formie pojedynczych próbek lub pul złożonych z równych objętości poszczególnych próbek.

Ten test nie jest przeznaczony do stosowania z próbkami krwi pępowinowej.

Test ten nie jest przeznaczony do stosowania jako pomoc w diagnozie parwowirusa B19 lub HAV.

Podsumowanie oraz opis testu

Informacje podstawowe: badania przesiewowe krwi pod kątem zakażeń wirusowych przenoszonych podczas transfuzji krwi

Ludzki parwowirus B19 to niewielki, bezotczkowy, zawierający jednoniciowy DNA wirus należący do rodzaju Erythrovirus rodziny *Parvoviridae*.¹ Ludzkie erytrowirusy są pogrupowane w trzy różne genotypy: genotyp 1 (szczyty B19), genotyp 2 (szczyty A6) oraz genotyp 3 (szczyty V9/D91/1).^{2,3} Niemal wszystkie próbki wirusa to genotyp 1.¹ Genotyp 2 występuje sporadycznie w Stanach Zjednoczonych, Europie i Ameryce Południowej, głównie u pacjentów urodzonych przed 1940 r.¹ Genotyp 3 występuje głównie w północnej i zachodniej Afryce, ale był także identyfikowany we Francji.¹

Parwowirus B19 to powszechny patogen występujący na całym świecie. Szansa występowania krążących przeciwciał IgG anty-B19, wskazujących na przebyte zakażenie, rośnie z wiekiem i waha się od około 20% w wieku 1 do 4 lat, do ponad 60% u dorosłych i nawet do 85% u osób w podeszłym wieku.⁴⁻⁶ Chociaż przeciwciała występują w populacji ogólnej, wiremia lub obecność DNA wirusa są rzadkie.⁴ Objawy oraz ciężkość choroby klinicznej zależą od stanu immunologicznego oraz hematologicznego zakażonej osoby.^{1,7,8} W przypadku osób immunokompetentnych zakażenie przebiega często bezobjawowo lub objawy są łagodne, obejmujące rumień zakaźny (choroba piąta) u dzieci i artropatię u dorosłych.^{1,7,9,10} Wirus B19 może jednak powodować również poważne schorzenia, takie jak przejściowa niedokrwistość aplastyczna u pacjentów z zaburzeniami hematologicznymi i obrzęk uogólniony płodu, niedokrwistość wrodzoną oraz utratę płodu u ciężarnych.^{1,7,11-13} Występowanie parwowirusa B19 u dawców krwi i osocza waha się od 0,16% do 0,9%, najczęściej z bardzo niskimi poziomami DNA wirusa.¹⁴⁻¹⁸ Badania pochodzące z sektora producentów osocza wskazują na niższą częstość występowania.¹⁹

Chociaż parwowirus B19 jest normalnie przenoszony drogą oddechową, może także być przenoszony za pośrednictwem produktów osocza oraz przetaczania krwinek czerwonych.^{1,20} W piśmiennictwie dobrze opisano wykrywanie DNA parwowirusa B19 w produktach osocza oraz jego przekazywanie do ich biorców, w tym w koncentracie czynnika VIII, innych czynników krzepnięcia oraz pulowanego osocza traktowanego detergentem.²⁰⁻³⁰ Przenoszenie związane z produktami osocza było łączone z wielkością pul osocza, występowaniem ostrych, niewidocznych klinicznie zakażeń wirusem B19, wysokim (do 10^{12} IU/ml) poziomem DNA wirusa w wiremicznych donacjach i opornością parwowirusa B19 na większość standardowych metod inaktywacji lub usuwania wirusa, takich jak traktowanie rozpuszczalnikiem/detergentem (S/D) lub pasteryzacja.^{20,21,27-30} Donoszono o bardzo nielicznych przypadkach klinicznych przenoszenia

parwowirusa B19 wskutek przetaczania krwinek czerwonych.²⁰ Ponadto niezwykle rzadkie jest przenoszenie do biorców składników krwi zawierających niskie do umiarkowanych poziomy DNA parwowirusa B19 ($< 10^6$ IU/ml).²⁰

HAV jest małym, pozbawionym otoczki wirusem RNA należącym do grupy hepatowirusów z rodziny *Picornaviridae*.³¹ HAV występuje na całym świecie, jest przenoszony drogą fekalno-oralną, głównie w przypadku bliskiego, osobistego kontaktu.³²⁻³⁴ Zidentyfikowano kilka genotypów i podtypów.³⁴ Epidemie występują często w krajach rozwijających się, gdzie zakażenia występują głównie u osób we wczesnym okresie życia, co skutkuje wysokim odsetkiem osób z przeciwciałami przeciwko HAV w populacji.³¹⁻³⁴ W krajach uprzemysłowionych spadek zapadalności oraz dostępność szczepionek spowodowały, że zakażenia występują głównie u osób dorosłych.^{31,34} W północnej Europie oraz w Japonii, Kanadzie i USA częstość występowania w ogólnej populacji jest niewielka ($\sim 0,01\%$), a zachorowania występują głównie w grupach podwyższonego ryzyka, na przykład u osób podróżujących do regionów endemicznego występowania wirusa.^{32,33}

Zakażenia HAV u ludzi mogą mieć różny przebieg, od bezobjawowych, głównie u małych dzieci, do zapalenia wątroby o gwałtownym przebiegu, i w niektórych przypadkach prowadzą do zgonu.^{31,32} HAV powoduje ostre zakażenie ustępujące bez przewlekłego stanu nosiciela i w konsekwencji HAV rzadko jest zakażeniem związanym z przetaczaniem. Banki krwi nie badają donacji na obecność wirusa HAV polegając zamiast tego na wywiadzie medycznym dawców w celu wyeliminowania dawców z zapaleniem wątroby w wywiadzie.³⁵ Donoszono o tylko kilku zakażeniach HAV, przenoszonych wskutek przetaczania, powodujących łagodną chorobę wątroby.^{36,37} Zakaźny HAV może być wykryty we krwi w okresie okienka serologicznego, jednak ryzyko przeniesienia HAV jest niewielkie podczas transfuzji.^{35,38} Donoszono także o przenoszeniu HAV od dawców w stanie wiremii bezobjawowej.³⁵⁻³⁸ HAV nie ma otoczki lipidowej i dlatego łatwo ulega inaktywacji przez traktowanie S/D lub pasteryzację, na przykład podczas wytwarzania produktów z osocza.³⁵ Dlatego donoszono o przenoszeniu HAV przez produkty osocza, głównie czynniki krzepnięcia.^{36,39,40}

Wprawdzie pojedyncza donacja może zawierać zarówno DNA parwowirusa B19 jak i RNA HAV, jednak częstość współzakażenia parwowirusem B19 i HAV w populacji dawców nie jest dobrze zbadana ani udokumentowana w piśmiennictwie.⁴¹⁻⁴³ Występują rzadkie zgłaszane przypadki współzakażenia ludzkim parwowirusem B19 i HAV u niemowląt i dzieci, które nie należą do populacji dawców.⁴¹⁻⁴³ Ryzyko współzakażenia można obliczyć na podstawie częstości występowania każdego wirusa. Częstość zakażeń HAV nie jest dobrze scharakteryzowana w populacji dawców, natomiast w populacji ogólnej wynosi ona $\sim 0,01\%$ a w populacji dawców osocza wyjściowego jest mniejsza ($\sim 0,0004\%$).^{32,33,44,45} Zważywszy, że częstość zakażeń parwowirusem B19 wynosi $\sim 0,9\%$ ¹⁴⁻¹⁸, obliczone ryzyko współzakażenia parwowirusem B19 i HAV wynosi $\sim 0,0000036\%$ ($0,0004\% \times 0,9\%$) lub 1 na $\sim 28\,000\,000$ donacji.

Uzasadnienie badań NAT

Badania NAT mogą być stosowane do wykrywania zakażenia HAV oraz parwowirusa B19. Na początku 2000 r. w odpowiedzi na doniesienia o przenoszeniu obu wirusów z produktami osocza, niektórzy producenci osocza rozpoczęli badania przesiewowe przeznaczonego do dalszego przetwórstwa osocza za pomocą testów NAT RNA HAV oraz DNA parwowirusa B19.⁴⁶ Badania NAT, uznawane za testy procesowe, miały na celu ograniczenie obciążenia wirusem B19 pul osocza i wyeliminowanie próbek osocza zakażonych HAV.⁴⁷ W 2004 r. Farmakopea Europejska zaczęła wymagać, aby wszyscy producenci zapewniali, by poziomy DNA parwowirusa B19 musiały być niższe niż 10^4 IU/ml w pulach produkcyjnych stosowanych do wytwarzania ludzkiej immunoglobuliny anti-D oraz pulowanym osoczu ludzkim poddawanych inaktywacji wirusów.⁴⁸ Podobnie wytyczne FDA z 2009 r. zalecają, aby producenci produktów z osocza wykonywali test NAT parwowirusa B19 na wszystkich produktach uzyskanych z osocza w celu zapewnienia, że obciążenie DNA parwowirusa B19 w pulach produkcyjnych nie przekracza 10^4 IU/ml.⁴⁷ Ani amerykańskie, ani też europejskie agencje regulacyjne obecnie nie wymagają testów NAT HAV pul osocza stosowanych do dalszego przetwórstwa, jednak w przypadku europejskich wymogów regulacyjnych pod warunkiem, że jeżeli testy NAT HAV są stosowane wobec pul produkcyjnych w ramach testów procesowych, test jest w stanie wykryć kontrolę zawierającą 100 IU/ml RNA HAV.⁴⁹

Objaśnienie testu

Test **cobas® DPX** to test dupleksowy, który jest wykonywany z użyciem systemów **cobas® 6800** oraz **cobas® 8800**. Test **cobas® DPX** umożliwia jednocześnie ilościowe oznaczanie DNA genotypów 1, 2 i 3 parwowirusa B19 i wykrywanie jakościowe RNA genotypów I, II i III wirusa zapalenia wątroby typu A (HAV) w ludzkim osoczu.

Zasady procedury

Test **cobas® DPX** opiera się na technologii reakcji PCR w czasie rzeczywistym na próbkach przygotowanych w sposób całkowicie zautomatyzowany (ekstrakcja i oczyszczanie kwasów nukleinowych), po czym przeprowadzana jest amplifikacja i detekcja podczas reakcji PCR. **cobas® 6800/8800** składa się z modułu podawania próbek, modułu transferu, modułu przetwarzania oraz modułu analitycznego. Automatyczne przetwarzanie danych jest prowadzone przez oprogramowanie **cobas® 6800/8800**, które przypisuje wynik testu o wartości ilościowej (w IU/ml) dla parwowirusa B19 wykorzystując standard Quantitation Standard (QS) oparty bezpośrednio na międzynarodowym standardzie WHO dla wirusa B19.⁴⁷ Oprogramowanie **cobas® 6800/8800** przypisuje także wynik testu obecności wirusa zapalenia wątroby typu A jako niereaktywny, reaktywny lub nieważny. Wyniki można analizować bezpośrednio na ekranie systemu lub wydrukować w postaci raportu.

Próbki można badać pojedynczo lub opcjonalnie w puli składającej się z wielu próbek. Jeżeli należy przeprowadzić pulowanie, aparatu **cobas p 680** lub oprogramowania **cobas® Synergy** z urządzeniem Hamilton Microlab® STAR/STARlet IVD można opcjonalnie użyć na etapie preanalitycznym.

Jednocześnie zachodzi ekstrakcja kwasu nukleinowego z próbki dawcy i dodanej kontroli wewnętrznej Armored RNA oraz cząsteczek standardu ilościowego DNA QS (które służą jako kontrola procesów przygotowywania próbek i amplifikacji/detekcji). Kwasy nukleinowe wirusów są uwalniane poprzez dodanie do próbki proteiny i odczynnika lizującego. Uwolniony kwas nukleinowy wiąże się z silikonową powierzchnią dodanych szklanych cząstek magnetycznych. Niezwiązane substancje i zanieczyszczenia, takie jak zdenaturowane białka, pozostałości komórek i potencjalne inhibitory reakcji PCR (np. hemoglobina), są usuwane na kolejnych etapach z użyciem odczynnika płuczącego, a oczyszczony kwas nukleinowy jest następnie wmywany w podwyższonej temperaturze ze szklanych cząstek z użyciem buforu do elucji.

Wybiórcza amplifikacja docelowego kwasu nukleinowego z próbki dawcy jest możliwa poprzez zastosowanie swoistych dla wirusa starterów, przedniego (ang. *forward*) i wstecznego (ang. *reverse*), które są projektowane w obrębie wysoce konserwatywnych obszarów wirusowego kwasu nukleinowego. Do odwrotnej transkrypcji oraz amplifikacji wykorzystywana jest termostabilna polimeraza DNA. Odczynnik Master Mix zamiast trifosforanu deoksytymidyny (dTTP) zawiera trifosforan deoksyurydyny (dUTP), który wbudowywany jest do nowo syntetyzowanego DNA (amplikonu).⁵⁰⁻⁵² Każdy zanieczyszczający amplikon z poprzednich reakcji PCR zostanie zniszczony podczas podgrzewania w pierwszym etapie cyklu termicznego, dzięki aktywności enzymu AmpErase (uracylo-N-glikozylazy), który znajduje się w mieszaninie Master Mix do reakcji PCR. Jednak nowo powstały amplikon nie ulega degradacji, gdyż enzym AmpErase jest inaktywowany w temperaturze przekraczającej 55°C.

Odczynnik Master Mix **cobas® DPX** zawiera sondy wykrywające, które są swoiste dla kwasów nukleinowych wirusów B19 i HAV oraz standardu QS i kontroli wewnętrznej. Swoiste dla wirusów B19, HAV, kontroli wewnętrznej oraz standardu QS sondy wykrywające są znakowane jednym z czterech unikatowych barwników fluorescencyjnych, pełniących rolę barwnika reporterowego. Każda sonda jest również wyznakowana piątym barwnikiem pełniącym rolę wygaszacza. Fluorescencja pochodząca z każdego z czterech barwników reporterowych jest mierzona przy określonej długości fali, co umożliwia jednoczesną detekcję oraz rozróżnienie zamplifikowanych docelowych sekwencji wirusów B19, HAV, kontroli wewnętrznej oraz standardu QS.^{53,54} Sygnał fluorescencyjny nienaruszonych sond jest tłumiony przez barwnik wygaszający. Podczas amplifikacji PCR hybrydyzacja sond do swoistych sekwencji jednoniciowej matrycy DNA powoduje

rozszczerpienie nici przez polimerazę DNA dzięki jej aktywności nukleolitycznej w kierunku 5' do 3', co powoduje rozdzielanie barwników reporterowych i wygaszających oraz wygenerowanie sygnału fluorescencyjnego. Z każdym cyklem PCR generowana jest zwiększająca się liczba rozszczepionych sond i jednocześnie wzrasta sumaryczny sygnał barwnika reporterowego. Ponieważ fluorescencja czterech swoistych barwników reporterowych jest mierzona przy określonych długościach fali, możliwa jest równoczesna detekcja i rozróżnienie zamplifikowanych sekwencji docelowych wirusów B19, HAV oraz standardu QS i kontroli wewnętrznej.

Odczynniki i materiały

Odczynniki i kontrole do testu cobas® DPX

Wszystkie nieotwarte odczynniki i kontrole należy przechowywać zgodnie z zaleceniami, które zawiera Tabela 1 do Tabela 4.

Tabela 1 Test cobas® DPX

Test cobas® DPX

Przechowywać w temperaturze 2–8°C

Kaseta na 192 testów (P/N 09171126190)





Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw
Roztwór proteinyzy (PASE)	Bufor Tris, < 0,05% EDTA, chlorek wapnia, octan wapnia, 8% proteinyzy, glicerol EUH210: Karta charakterystyki dostępna na żądanie. EUH208: Zawiera subtylizynę z <i>Bacillus subtilis</i> . Może powodować wystąpienie reakcji alergicznej.	22,3 ml
Kontrola wewnętrzna i standard ilościowy DPX (DPX IC/QS)	Bufor Tris, < 0,05% EDTA, < 0,01% konstruktowi kontroli wewnętrznej Armored RNA (niezakaźnego RNA w bakteriofagu MS2), < 0,01% niezakaźnego, syntetycznego DNA standardu ilościowego B19 QS opłaszczanego białkiem kapsydowym bakteriofaga lambda, < 0,002% poli-rA RNA (syntetycznego), < 0,1% azydku sodu	21,2 ml
Bufor do elucji (EB)	Bufor Tris, 0,2% metylo-4-hydroksybenzoesan	21,2 ml
Odczynnik Master Mix 1 (MMX-R1)	Octan magnezu, wodorotlenek potasu, < 0,1% azydku sodu	7,5 ml
Odczynnik DPX Master Mix 2 (DPX MMX-R2)	Bufor trycynowy, octan potasu, glicerol, 18% dimetylosulfotlenku, Tween 20, EDTA, < 0,06% dATP, dGTP, dCTP, < 0,14% dUTP, < 0,01% starterów sensownych i antysensownych dla parwowirusa B19, HAV, kontroli wewnętrznej oraz standardu ilościowego, < 0,01% znakowanych fluorescencyjnie sond dla parwowirusa B19 i HAV, < 0,01% znakowanych fluorescencyjnie sond dla standardu QS B19 oraz kontroli wewnętrznej HAV, < 0,01% aptameru oligonukleotydowego, < 0,01% polimerazy DNA Z05D, < 0,01% enzymu AmpErase (uracylo-N-glikozylazy) (pochodzenia bakteryjnego), < 0,1% azydku sodu	9,7 ml

Tabela 2 cobas® DPX Control Kit

cobas® DPX Control Kit

Przechowywać w temperaturze 2–8°C

(P/N 09040749190)

Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie*
Podwójna kontrola dodatnia DPX (DPX D(+))C)	<p>< 0,001% syntetycznego (Armored) RNA HAV opłaszczanego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, < 0,001% syntetycznego (plazmidowego) DNA parwowirusa B19 opłaszczanego białkiem kapsydowym bakteriofaga Lambda, prawidłowe osocze ludzkie niewykazujące reaktywności w licencjonowanych testach względem przeciwciał przeciwko wirusowi B19, RNA HAV niewykrywalne metodami PCR, DNA B19 niewykrywalne metodami PCR lub poniżej poziomu wpływającego na funkcjonalność kontroli (≤ 5 IU/ml)</p> <p>0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**</p>	8 ml (8 × 1 ml)	  <p>OSTRZEŻENIE</p> <p>H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P261: Unikać wdychania mgły lub par. P273: Unikać uwolnienia do środowiska. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Masa reakcyjna 5-chloro-2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu i 2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu (3:1).</p>
Kontrola wysoko dodatnia DPX (DPX H(+))C)	<p>< 0,001% syntetycznego (plazmidowego) DNA parwowirusa B19 opłaszczanego białkiem kapsydowym bakteriofaga Lambda, prawidłowe osocze ludzkie niewykazujące reaktywności w licencjonowanych testach względem przeciwciał przeciwko wirusowi B19, RNA HAV niewykrywalne metodami PCR, DNA B19 niewykrywalne metodami PCR lub poniżej poziomu wpływającego na działanie kontroli (≤ 5 IU/ml)</p> <p>0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**</p>	8 ml (8 × 1 ml)	  <p>OSTRZEŻENIE</p> <p>H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P261: Unikać wdychania mgły lub par. P273: Unikać uwolnienia do środowiska. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Masa reakcyjna 5-chloro-2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu i 2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu (3:1).</p>

* Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

** Substancja niebezpieczna.

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


Przechowywać w temperaturze 2-8°C

(P/N 09051953190)

Element zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie
Buforowa kontrola ujemna (Buffer-NC)	Bufor Tris, EDTA, 0,002% poli-rA RNA (syntetyczny), < 0,1% azydku sodu	16 ml (16 × 1 ml)	Nie dotyczy

Odczynniki cobas omni do przygotowywania próbek

Tabela 4 Odczynniki **cobas omni** do przygotowywania próbek*

Odczynniki	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Przechowywać w 2–8°C (P/N 06997546190)	Szklane cząstki magnetyczne, bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesu, < 0,1% azodyku sodu	480 testów	Nie dotyczy
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Przechowywać w 2–8°C (P/N 06997511190)	Bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesu, < 0,1% azodyku sodu	4 × 875 ml	Nie dotyczy
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Przechowywać w 2–8°C (P/N 06997538190)	42,56% (udział wagowy) tiocyjanian guanidyny**, 5% (udział wagowo-obj.) polidokanol**, 2% (udział wagowo-obj.) ditiotretitol**, dwuwodny cytrynian sodu	4 × 875 ml	 <p>NIEBEZPIECZEŃSTWO</p> <p>H302: Działa szkodliwie po połknięciu. H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. H411: Działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. EUH032: W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy. EUH071: Działa żrąco na drogi oddechowe. P273: Unikać uwolnienia do środowiska. P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy/ochronę słuchu. P303 + P361 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): natychmiast zdjąć całą skażoną odzież. Splukać skórę pod strumieniem wody. P304 + P340 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P305 + P351 + P338 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P391: Zebrać wyciek. 593-84-0 Tiocyjanian guanidyny 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diol</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Przechowywać w 15–30°C (P/N 06997503190)	Dwuwodny cytrynian sodu, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesan	4,2 l	Nie dotyczy

* Te odczynniki nie są dołączone do zestawu testu **cobas® DPX**. Należy zapoznać się z listą wymaganych materiałów dodatkowych (Tabela 7).

** Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

Wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania odczynników

Odczynniki należy przechowywać i użytkować zgodnie z informacjami, które zawiera Tabela 5 i Tabela 6.

Jeśli odczynniki nie zostały umieszczone w cobas® 6800/8800, należy przechowywać je w odpowiedniej temperaturze, zgodnie z informacjami, które zawiera Tabela 5.

Tabela 5 Przechowywanie odczynników (umieszczonych poza systemem)

Odczynnik	Temperatura przechowywania
cobas® DPX – 192	2–8°C
cobas® DPX 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

Odczynniki umieszczone w systemach cobas® 6800/8800 przechowywane są w odpowiedniej temperaturze, a ich data przydatności do użycia monitorowana jest przez system. System umożliwia wykorzystanie odczynników tylko w przypadku spełnienia wszystkich warunków, które zawiera Tabela 6. System automatycznie uniemożliwia wykorzystanie przeterminowanych odczynników. Tabela 6 pozwala na zrozumienie wymuszonych przez systemy cobas® 6800/8800 warunków użytkowania odczynników.

Tabela 6 Warunki dotyczące daty ważności odczynników wymuszane przez systemy cobas® 6800/8800

Odczynnik	Data ważności zestawu	Stabilność otwartego zestawu	Liczba przebiegów pracy, do których można wykorzystać zestaw	Stabilność na pokładzie urządzenia (łącznie czas w urządzeniu poza chłodziarką)
cobas® DPX – 192	Nieprzekroczona	90 dni od pierwszego użycia	Maksymalnie 40 przebiegów	Maksymalnie 40 godzin
cobas® DPX Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy	Nie dotyczy	Maksymalnie 8 godzin
cobas® Buffer Negative Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy	Nie dotyczy	Maksymalnie 10 godzin
cobas omni Lysis Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni MGP Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Specimen Diluent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Wash Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy

* Czas jest mierzony od umieszczenia po raz pierwszy odczynnika w systemach cobas® 6800/8800.

Wymagane materiały dodatkowe

Tabela 7 Materiały i materiały zużywalne do użytku z systemami **cobas®** 6800/8800

Material	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Worek na odpady stałe	07435967001
lub	lub
Worek na odpady stałe z wkładką	08030073001
Pojemnik na odpady stałe	07094361001

Wymagane urządzenia i oprogramowanie

Na urządzeniu(-ach) należy zainstalować oprogramowanie **cobas®** 6800/8800 oraz pakiet oprogramowania do analizy **cobas®** DPX. Z systemem dostarczany jest serwer Instrument Gateway (IG).

Tabela 8 Urządzenia

Systemy cobas® 6800/8800	P/N
cobas® 6800 System (opcja, na ruchomej platformie)	05524245001 i 06379672001
cobas® 6800 System (nieruchomy)	05524245001 i 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Moduł dostarczania próbek	06301037001
Opcje pipetowania i pulowania	P/N
Aparat cobas p 680	06570577001
Licencja elektroniczna oprogramowania cobas® Synergy	09311238001
Hamilton Microlab® STAR IVD	04640535001
Hamilton Microlab® STARlet IVD	04872649001

Dodatkowe informacje dotyczące pierwotnych i wtórnych próbek akceptowanych przez urządzenia znajdują się w Asystencie użytkownika systemów **cobas®** 6800/8800 i Asystencie użytkownika aparatu **cobas p** 680 lub w Asystencie użytkownika oprogramowania **cobas®** Synergy.

Uwaga: szczegółową listę zamówień na statywy próbkowe, statywy na niedrożne końcówki i tace na statywy akceptowane przez urządzenia można uzyskać po skontaktowaniu się z przedstawicielem serwisu Roche.

Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania

Ostrzeżenia i środki ostrożności

Podobnie jak w przypadku każdej procedury testowej, dla prawidłowego przeprowadzenia badania kluczowe znaczenie ma zachowanie zasad dobrej praktyki laboratoryjnej. Z uwagi na wysoką czułość niniejszego testu podczas użytkowania odczynników oraz mieszanin do amplifikacji należy zachować szczególną ostrożność, aby zapobiec zanieczyszczeniu.

- Do stosowania wyłącznie w diagnostyce *in vitro*.
- Ze wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak jak z materiałem zakaźnym, stosując procedury dobrej praktyki laboratoryjnej, takie jak określone w dokumentach Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories oraz CLSI Document M29-A4.^{55,56} Procedurę tę może wykonywać wyłącznie personel biegły w obchodzeniu się z materiałem zakaźnym i w użytkowaniu testu **cobas® DPX**, systemów **cobas® 6800/8800** i, opcjonalnie, aparatu **cobas p 680** lub urządzenia Hamilton Microlab® STAR/STARlet IVD z oprogramowaniem **cobas® Synergy**.
- Wszystkie materiały pochodzenia ludzkiego należy uważać za potencjalnie zakaźne i postępować z nimi z zastosowaniem ogólnych środków ostrożności. W przypadku rozlania materiału należy natychmiast odkazić świeżo przygotowanym 0,6% roztworem podchlorynu sodu w destylowanej lub dejonizowanej wodzie lub postępować zgodnie z procedurami przyjętymi w danym ośrodku.
- Zestaw **cobas® DPX Control Kit** zawiera osocze pochodzące z krwi ludzkiej. Materiał źródłowy był badany z wykorzystaniem licencjonowanego testu i nie wykazywał obecności przeciwciał przeciwko IgG i IgM B19. Badanie prawidłowego osocza ludzkiego metodami PCR wykazało brak wykrywalnego RNA HAV, a poziomy DNA B19 były niewykrywalne lub na tyle niskie, aby nie wpływać na funkcjonalność dodatnich kontroli DPX. Żadna ze znanych metod badania nie może zaoferować całkowitej pewności, że produkty otrzymane z ludzkiej krwi nie będą przenosić czynników zakaźnych.
- Nie zamrażać krwi pełnej.
- Zaleca się używanie jałowych jednorazowych pipet oraz końcówek pipet wolnych od nukleazy. W celu zagwarantowania optymalnego działania testu należy stosować wyłącznie dostarczone lub wymienione potrzebne materiały zużywalne.
- Karty charakterystyki są dostępne na żądanie w lokalnym przedstawicielstwie firmy Roche.
- Ścisłe przestrzegać podanych procedur i wytycznych w celu zapewnienia prawidłowego wykonania testu. Wszelkie odchylenia od procedur i wytycznych mogą mieć wpływ na optymalną skuteczność testu.
- Odsetek nieważnych wyników może wzrosnąć w przypadku naruszenia powierzchni styku warstwy komórek i osocza lub w przypadku dyfuzji materiału po odwirowaniu.
- Jeżeli w trakcie pracy z próbkami i na etapie ich przygotowywania nie stosuje się odpowiedniej kontroli kontaminacji pomiędzy próbkami, może dojść do uzyskania fałszywie dodatnich wyników.
- Należy poinformować lokalny właściwy organ o wszelkich poważnych zdarzeniach, które mogą wystąpić podczas stosowania tego testu.

Użytkowanie odczynników

- Aby uniknąć zanieczyszczenia pomiędzy próbkami lub kontrolami, ze wszystkimi odczynnikami, kontrolami i próbkami należy postępować zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej.
- Przed użyciem należy ocenić wzrokowo każdą kasetę odczynnikową, rozcieńczalnik, odczynnik do lizy i odczynnik płuczający, aby upewnić się, że nie ma jakiegokolwiek wycieku. W razie wystąpienia wycieku nie wolno używać tego materiału do badania.

- **cobas omni** Lysis Reagent zawiera izotiocyanian guanidyny, potencjalnie niebezpieczną substancję chemiczną. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia.
- Zestawy testu **cobas® DPX**, **cobas omni** MGP Reagent oraz **cobas omni** Specimen Diluent zawierają azydek sodu jako substancję konserwującą. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia. Jeżeli dojdzie do rozlania wymienionych odczynników, przed wytarciem należy rozcieńczyć je wodą.
- Nie wolno dopuszczać do kontaktu **cobas omni** Lysis Reagent, zawierającego tiocyjanian guanidyny, z roztworem podchlorynu sodu (wybielaczem). Połączenie to może skutkować wytworzeniem silnie trującego gazu.
- Wszystkie materiały, które przypadkowo weszły w kontakt z próbkami i odczynnikami, należy utylizować zgodnie z przepisami krajowymi i lokalnymi.

Dobra praktyka laboratoryjna

- Nie należy pipetować za pomocą ust.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić tytoniu w obszarach roboczych.
- Podczas pracy z próbkami i odczynnikami należy nosić rękawiczki laboratoryjne, fartuch oraz osłonę oczu. W celu uniknięcia zanieczyszczenia należy zmieniać rękawice pomiędzy czynnościami związanymi z próbkami i użytkowaniem zestawów **cobas® DPX** oraz odczynników **cobas omni**. Podczas pracy z próbkami i kontrolami należy unikać zanieczyszczenia rękawiczek.
- Po zakończeniu pracy z próbkami i zestawami odczynnikowymi oraz po zdjęciu rękawiczek należy dokładnie umyć ręce.
- Dokładnie oczyścić i odkazić wszystkie laboratoryjne powierzchnie robocze świeżo przygotowanym roztworem 0,6% podchlorynu sodu w wodzie dejonizowanej lub destylowanej. Następnie przetrzeć powierzchnię 70% etanolem.
- Jeśli do rozlania płynu dojdzie na powierzchni urządzenia **cobas® 6800/8800**, należy postępować zgodnie z instrukcjami zamieszczonymi w podręczniku użytkownika systemów **cobas® 6800/8800** w celu prawidłowego wyczyszczenia i odkażenia powierzchni urządzenia (urządzeń).

Pobieranie, transport, przechowywanie i pulowanie próbek

Uwaga: ze wszystkimi próbkami należy obchodzić się jak z materiałem potencjalnie zakaźnym.

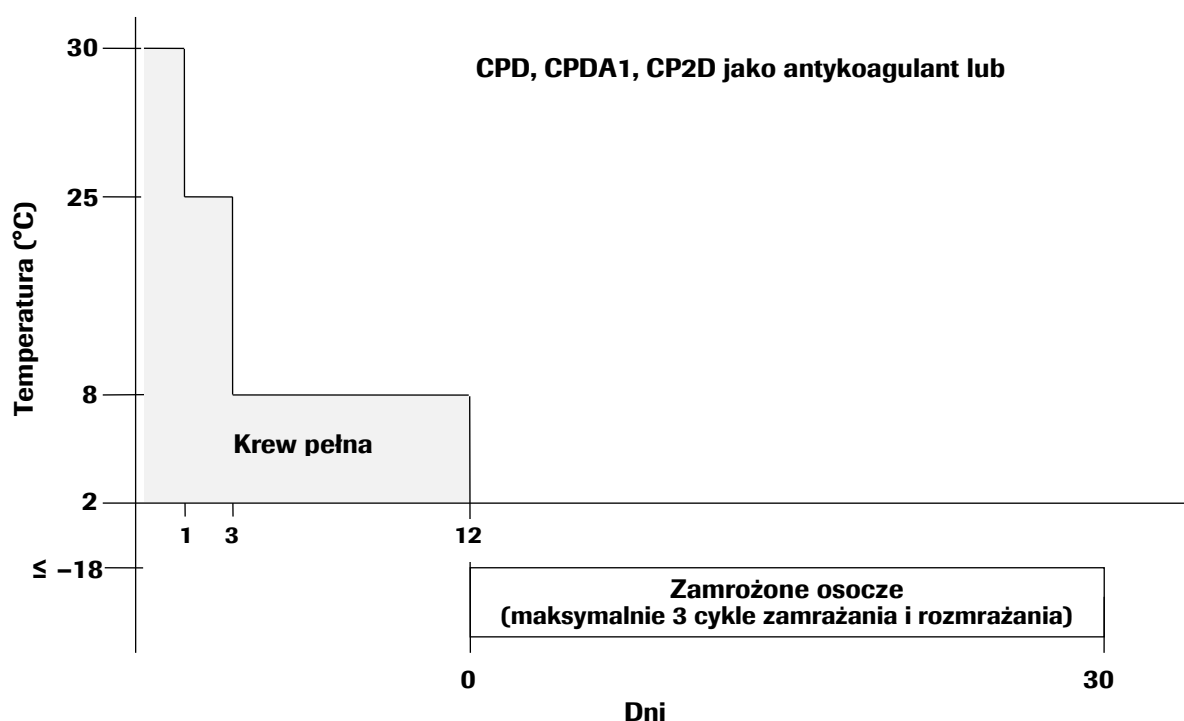
Wszystkie próbki dawców należy przechowywać w określonych temperaturach.
Podwyższona temperatura wpływa na stabilność próbek.

Próbki pochodzące od żywych dawców

- Z testem **cobas® DPX** można używać próbek osocza pobranych do próbek z antykoagulantem EDTA, CPD, CPDA1, CP2D i 4% roztworem cytrynianu sodu. Należy postępować zgodnie z instrukcjami producenta próbki/worka do pobierania próbek podczas ich używania i wirowania.
- Krew pobrana na EDTA, w próbkach Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) może być poddana dodatkowemu wirowaniu przy 600 × g przez 5 minut przed załadowaniem, opcjonalnym pulowaniem lub ponownym badaniem.

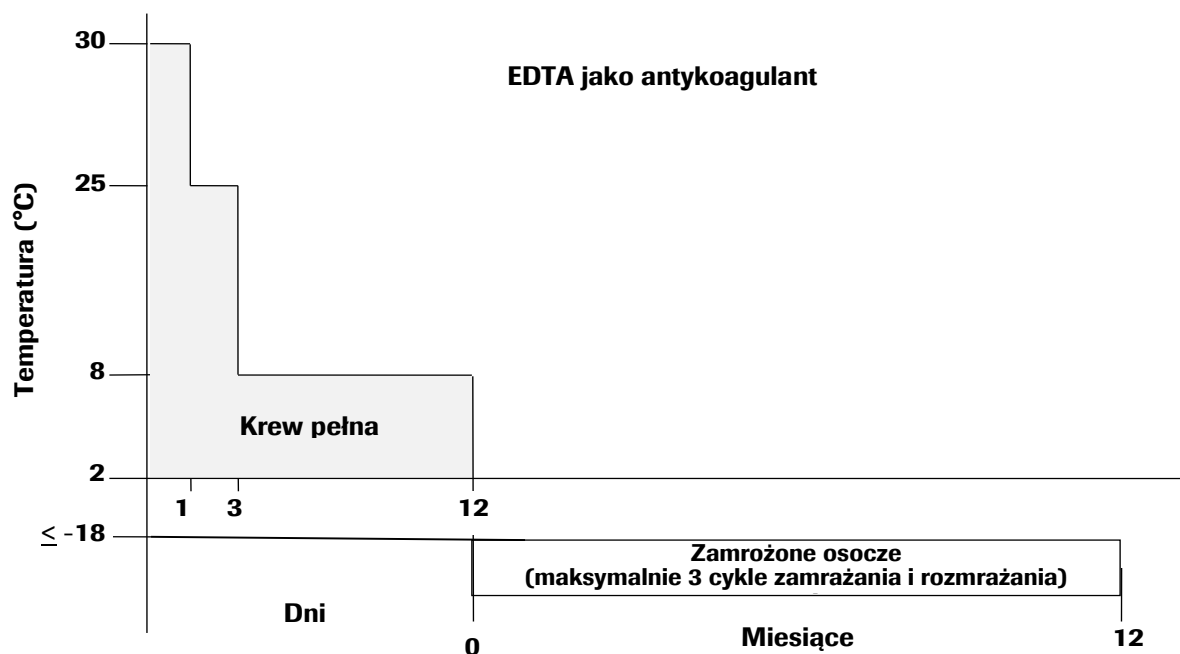
- Krew pobraną na CPD, CPDA1, CP2D jako antykoagulant lub do probówek EDTA Plasma Preparation Tubes firmy Becton-Dickinson (BD PPT™) można przechowywać przez maksymalnie 12 dni w następujących warunkach:
 - Próbkę należy odwirować w ciągu 72 godzin po pobraniu.
 - W przypadku przechowywania w temperaturze powyżej 8°C próbki można przechowywać przez 72 godziny w temperaturze nieprzekraczającej 25°C i przez 24 godziny w okresie 72 godzin w temperaturze nieprzekraczającej 30°C.
 - W innych niż opisane sytuacjach próbki przechowuje się w temperaturze 2–8°C. Dodatkowo osocze oddzieloną od elementów morfotycznych można przechowywać przez maksymalnie 30 dni w temperaturze $\leq -18^{\circ}\text{C}$ z trzema cyklami zamrażania/rozmarzania. Patrz Ryc. 1.

Ryc. 1 Warunki przechowywania próbek od dawców



- Próbkę krwi pobrane do probówek zawierających EDTA jako antykoagulant można przechowywać przez maksymalnie 12 dni w temperaturze w następujących warunkach:
 - Próbkę należy odwirować w ciągu 72 godzin po pobraniu.
 - W przypadku przechowywania w temperaturze powyżej 8°C próbki można przechowywać przez 72 godziny w temperaturze nieprzekraczającej 25°C i przez 24 godziny w okresie 72 godzin w temperaturze nieprzekraczającej 30°C.
 - W innych niż opisane sytuacjach próbki przechowuje się w temperaturze 2–8°C. Dodatkowo osocze oddzielone od elementów morfotycznych można przechowywać przez maksymalnie 12 miesięcy w temperaturze $\leq -18^{\circ}\text{C}$ z trzema cyklami zamrażania/rozmarzania. Patrz Ryc. 2.

Ryc. 2 Warunki przechowywania próbek od dawców



- Osocze pobrane na antykoagulant 4% cytrynianu sodu można przechowywać przez maksymalnie 30 dni w temperaturze 2–8°C.
 - W przypadku przechowywania w temperaturze powyżej 8°C próbki można przechowywać przez 72 godziny w temperaturze nieprzekraczającej 25°C i przez 24 godziny w okresie 72 godzin w temperaturze nieprzekraczającej 30°C.
 - W innych niż opisane sytuacjach próbki przechowuje się w temperaturze 2–8°C. Dodatkowo osocze oddzielone od elementów morfotycznych można przechowywać przez maksymalnie 12 miesięcy w temperaturze ≤ -18°C z trzema cyklami zamrażania/rozmrażania.
- Jeśli próbki mają być przesyłane, należy je opakować i oznaczyć zgodnie z odpowiednimi krajowymi i/lub międzynarodowymi przepisami dotyczącymi transportu próbek i czynników zakaźnych.

Instrukcja użytkowania

Automatyczne pipetowanie i pulowanie próbek (opcjonalne)

Z urządzeniem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD można użyć aparatu **cobas p 680** lub oprogramowania **cobas® Synergy** jako opcjonalnego elementu systemów **cobas® 6800/8800** do automatycznego pipetowania i pulowania alikwotów wielu próbek pierwotnych w celu uzyskania próbki spulowanej.

Więcej informacji można znaleźć w Asystencie użytkownika **cobas p 680** lub w Asystencie użytkownika oprogramowania **cobas® Synergy**.

Ustalanie wartości odcięcia dla parwowirusa B19

Systemy **cobas® 6800/8800**

Kierownik laboratorium określa wartość odcięcia miana B19V ustalając wartość odcięcia dla pul z 1. Wprowadzona tu wartość jest używana przez oprogramowanie do przypisania wyniku „B19V < wartości odcięcia” lub „B19V ≥ wartości odcięcia” (Tabela 10). Oprogramowanie automatycznie oblicza wynik na podstawie wprowadzonej wartości odcięcia oraz wielkości puli.

Aby przypisać wartość odcięcia miana B19V:

Wartość odcięcia DPX-B19V można znaleźć w interfejsie użytkownika (UI) wybierając „Administration” (Administracja) --> „Settings” (Ustawienia) --> „Processing settings” (Ustawienia przetwarzania) --> „Roche tests” (Testy Roche). Po wybraniu „Settings” (Ustawienia) DPX-B19V ASAP za pomocą przycisku „Edit” (Edytuj) można ustawić wartość odcięcia.

Rozwiązanie **cobas® Synergy**

Końcowe wyniki testu B19 i DPX są dostępne jedynie w oprogramowaniu **cobas® Synergy**, ale nie w systemach **cobas® 6800/8800**.

Aby przydzielić wartości odcięcia mian B19V (na wielkość puli w IU/ml), należy postępować zgodnie z opisem w podręczniku użytkownika oprogramowania **cobas® Synergy**. Wartość odcięcia zaleca się ustawić w oprogramowaniu **cobas® 6800/8800** na 1.

Uwagi dotyczące wykonania testu

- Nie należy używać odczynników testu **cobas® DPX**, **cobas® DPX Control Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit** i odczynników **cobas omni** po upływie ich daty ważności.
- Nie wykorzystywać ponownie materiałów zużywalnych. Są one przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku.
- Informacje na temat właściwej konserwacji urządzeń, patrz Asystent użytkownika systemów **cobas® 6800/8800**.

Wykonywanie testu cobas® DPX

Procedura testu jest szczegółowo opisana w Asystencie użytkownika systemów **cobas® 6800/8800**. Szczegóły opcjonalnych procedur pulowania, patrz Asystent użytkownika aparatu **cobas p 680** lub Asystent użytkownika oprogramowania **cobas® Synergy**.

Ryc. 3 podsumowuje tę procedurę.

Ryc. 3 Procedura testu **cobas® DPX**

1	Pipetowanie i pulowanie
2	Utworzenie zlecenia
3	<p>Po poproszeniu przez system uzupełnij odczynniki i materiały zużywalne przez system:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Uzupełnij odczynnik płuczący, odczynnik do lizy oraz rozcieńczalnik • Uzupełnij płytki do przetwarzania oraz płytki amplifikacyjne • Uzupełnij szklane cząstki magnetyczne • Uzupełnij odczynniki specyficzne dla testu • Uzupełnij kasety z kontrolami • Uzupełnij statywy na końcówki • Wymień statyw na niedrożne końcówki
4	<p>Rozpoczęcie przebiegu:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Umieść statyw z próbkami • Wybierz przycisk rozpoczęcia w interfejsie
5	Sprawdź i wyeksportuj wyniki
6	<p>Wyładowanie materiałów zużywalnych:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Wyjmij płytki do amplifikacji z modułu analitycznego • Wyjmij puste kasety z kontrolami • Usuń odpady stałe • Usuń odpady płynne

Wyniki

System **cobas**® 6800/8800 automatycznie określa stężenie DNA parwowirusa B19 dla próbek od dawców i kontroli. Stężenie DNA parwowirusa B19 wyraża się w jednostkach międzynarodowych IU (International Units) na mililitr (IU/ml). Ponadto systemy **cobas**® 6800/8800 automatycznie wykrywają RNA HAV dla próbek i kontroli.

Kontrola jakości i ważność wyników

- W każdej partii należy uwzględnić jedną kontrolę ujemną [(-) C] i dwie kontrole dodatnie [DPX D(+)C oraz DPX H(+)C].
- W celu zagwarantowania ważności partii należy sprawdzić w oprogramowaniu **cobas**® 6800/8800 i/lub w raporcie obecność flag oraz powiązane z nimi wyniki.
- Partia jest ważna, jeśli nie ma oflagowań dla wszystkich trzech kontroli.

Wyniki zostaną automatycznie unieważnione przez oprogramowanie **cobas**® 6800/8800 na podstawie uzyskania niepomysłnych wyników kontroli ujemnej i kontroli dodatnich.

Znaczniki kontroli

Tabela 9 Oflagowania kontroli ujemnej i kontroli dodatnich

Kontrola ujemna	Oflagowanie	Wynik	Interpretacja
(-) C	Q02	Invalid	Cała partia zostanie unieważniona, jeśli wynik dla kontroli (-) C będzie nieważny.
Kontrola dodatnia	Oflagowanie	Wynik	Interpretacja
DPX D(+)C	Q02	Invalid	Wynik nieważny lub obliczony wynik miana dla parwowirusa B19 nie mieści się w określonym zakresie lub wynik jest niereaktywny dla HAV. Tylko B19: Wynik nieważny, ponieważ odpowiedni standard QS lub obliczony wynik miana dla parwowirusa B19 nie mieści się w określonym zakresie. Tylko HAV: Wynik nieważny, ponieważ odpowiednia kontrola wewnętrzna lub wynik HAV jest niereaktywny.
DPX H(+)C	Q02	Invalid	Wynik oznaczony jako nieważny lub obliczone miano dla kontroli wysoko dodatniej nie mieści się w określonym zakresie.

Jeśli partia zostanie unieważniona, należy powtórzyć badanie całej partii z uwzględnieniem próbek i kontroli.

Interpretacja wyników

W przypadku ważnej partii należy sprawdzić w oprogramowaniu **cobas®** 6800/8800 i/lub raportach poszczególne próbki pod kątem obecności flag. Wyniki należy interpretować w następujący sposób:

- Ważna partia może zawierać ważne i nieważne wyniki próbek dawców w zależności od oflagowań uzyskanych w przypadku poszczególnych próbek.
- Wyniki próbek są ważne jedynie wtedy, gdy odpowiednie kontrole dodatnie oraz kontrola ujemna danej partii dały ważny wynik.

Dla każdej próbki mierzone są jednocześnie cztery parametry: jeden dla parwowirusa B19, jeden dla HAV, jeden dla standardu ilościowego i jeden dla kontroli wewnętrznej. Ostateczne wyniki testu **cobas®** DPX dla próbek są przedstawiane przez oprogramowanie. Próbki od dawców z nieważnych pul należy przebadać ponownie. Oprócz wyników ogólnych w oprogramowaniu **cobas®** 6800/8800 zostaną wyświetlone wyniki poszczególnych materiałów docelowych, które należy interpretować w następujący sposób:

Tabela 10 Interpretacja wyników dla poszczególnych targetów

Wyniki targetu	Interpretacja
HAV Non-Reactive	Nie wykryto sygnału materiału docelowego dla wirusa HAV przy obecności sygnału kontroli wewnętrznej.
HAV Reactive	Wykryto sygnał materiału docelowego dla wirusa HAV przy obecności lub braku sygnału kontroli wewnętrznej.
B19 < wartości odcięcia	Miano B19 jest mniejsze od zdefiniowanej przez użytkownika wartości odcięcia; miano jest podane. B19 Niereaktywny: nie wykryto sygnału materiału docelowego dla DNA B19 i wykryto sygnał QS. B19 < Titer Min: wykryto B19 i obliczone miano jest poniżej dolnej granicy oznaczalności testu (LLoQ) testu. Uwaga: cobas p 680 – wartość odcięcia B19 jest wyświetlana w oprogramowaniu systemów cobas® 6800/8800. cobas® Synergy – wartość odcięcia B19 jest wyświetlana w oprogramowaniu cobas® Synergy .
B19 ≥ wartości odcięcia	Miano B19 jest większe od zdefiniowanej przez użytkownika wartości odcięcia; miano jest podane. B19 > Titer Max: obliczone miano jest powyżej górnej granicy oznaczalności testu (ULoQ) testu. ^a Uwaga: cobas p 680 – wartość odcięcia B19 jest wyświetlana w oprogramowaniu systemów cobas® 6800/8800. cobas® Synergy – wartość odcięcia B19 jest wyświetlana w oprogramowaniu cobas® Synergy .
Invalid	Nie wykryto sygnału HAV ani kontroli wewnętrznej. Wyniki niereaktywne wobec HAV będą zgłaszane jako nieważne, jeżeli miano B19 jest > 10 ⁶ IU/ml. Sygnał QS B19 nie został wykryty przy obecności lub braku sygnału materiału docelowego B19.

^a Jeśli wymagany jest wynik ilościowy, oryginalną próbkę powinno się rozcieńczyć B19-ujemnym ludzkim osoczem z dodatkiem EDTA, po czym należy powtórzyć test. Otrzymany wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia. W przypadku korzystania z oprogramowania **cobas® Synergy** z wynikiem końcowym obliczenia należy zapoznać się przez oprogramowanie **cobas® Synergy**.

Powtarzanie testu dla poszczególnych próbek

Próbki z końcowym wynikiem nieważnym dla jednego z materiałów docelowych wymagają powtórzenia testu niezależnie od uzyskania wyników ważnych dla pozostałych materiałów docelowych. Powtórny wynik nieważnego HAV z powodu wysokiego miana B19 ($> 10^6$ IU/ml) pozostanie nieważny. W przypadku próbek krwi pobranych na EDTA jako antykoagulant, do probówek Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) w zmniejszeniu częstości uzyskiwania powtarzających się nieważnych wyników może pomóc dodatkowe odwirowanie przy $600 \times g$ przez 5 minut.

Ograniczenia metody

- Test **cobas® DPX** został oceniony jedynie pod kątem stosowania z **cobas® DPX Control Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit**, **cobas omni MGP Reagent**, **cobas omni Lysis Reagent**, **cobas omni Specimen Diluent** oraz **cobas omni Wash Reagent** do użytku w systemach **cobas® 6800/8800**.
- Uzyskanie wiarygodnych wyników zależy od prawidłowych procedur pobierania, przechowywania i dalszego postępowania z próbkami.
- Do przeprowadzenia tego testu nie należy wykorzystywać heparynizowanego osocza, gdyż heparyna hamuje przebieg reakcji PCR.
- Detekcja DNA parwowirusa B19 i RNA wirusa HAV zależna jest od liczby cząstek wirusa obecnych w próbce i mogą na nią mieć wpływ metoda pobrania, przechowywania i postępowania z próbką, czynniki zależne od pacjenta (np. wiek, obecność objawów), i/lub stadium zakażenia oraz wielkość puli.
- Mutacje w obrębie wysoko konserwatywnych regionów genomu wirusowego, z którymi wiążą się startery i (lub) sondy używane w teście **cobas® DPX** – chociaż rzadkie – mogą wpływać na wiązanie starterów i (lub) sond oraz spowodować zniżenie miana lub niewykrycie wirusa.
- Z uwagi na różnice pomiędzy metodami zaleca się, aby przed zmianą użytkownik przeprowadził w laboratorium badania korelacji stosowanych metod w celu określenia występujących pomiędzy nimi różnic jakościowych. Użytkownicy powinni postępować zgodnie z własnymi określonymi zasadami/procedurami.

Niekliniczna ocena wiarygodności

Najważniejsze parametry działania testu – próbki od dawców żyjących

Granica wykrywalności (LoD)

Międzynarodowe standardy WHO

Granice wykrywalności (*Limit of Detection*, LoD) dla testu cobas® DPX zostały określone dla RNA HAV i DNA parwowirusa B19 z zastosowaniem międzynarodowych standardów WHO odpowiednio dla HAV (kod NIBSC 00/560) i dla parwowirusa B19 (kod NIBSC 99/802).

Trzy niezależne serie rozcieńczeń każdego standardu wirusowego zostały przygotowane w pulowanym, ujemnym pod względem obecności wirusów, osoczu ludzkim pobranym z antykoagulantem EDTA. Wszystkie serie rozcieńczeń badano przy użyciu trzech różnych serii zestawu odczynników testu cobas® DPX z około 21 powtórzeniami na serię, co dało w sumie około 189 powtórzeń na stężenie. Do oszacowania granicy wykrywalności i dwustronnego, 95-procentowego znacznikowego przedziału ufności została użyta analiza PROBIT łącznych danych ze wszystkich powtórzeń badanych dla każdego wirusa. Tabela 11 do Tabela 13 podsumowują całkowite wyniki badania granicy wykrywalności.

Tabela 11 Wyniki analizy PROBIT z wykorzystaniem danych LoD uzyskanych podczas oznaczeń standardów wirusowych w osoczu pobranym na EDTA

Oznaczany składnik	Jednostki miary	LoD	Dolna granica 95% przedziału ufności	Górna granica 95% przedziału ufności
HAV	IU/ml	1,1	0,9	1,3
Parwovirus B19	IU/ml	13,9	11,7	17,4

Tabela 12 Zestawienie częstości wyników reaktywnych dla wirusa HAV w osoczu pobranym na EDTA

Stężenie RNA HAV (IU/ml)	Liczba reaktywnych próbek	Liczba ważnych powtórzeń testu	% wyników reaktywnych	Dolny zakres 95% przedziału ufności (jednostronny)
6	189	189	100%	98,4%
3	189	189	100%	98,4%
1,5	186	189	98,4%	95,9%
0,75	165	189	87,3%	82,6%
0,375	119	189	63,0%	56,8%

Tabela 13 Zestawienie częstości wyników reaktywnych dla parwowirusa B19 w osoczu pobranym na EDTA

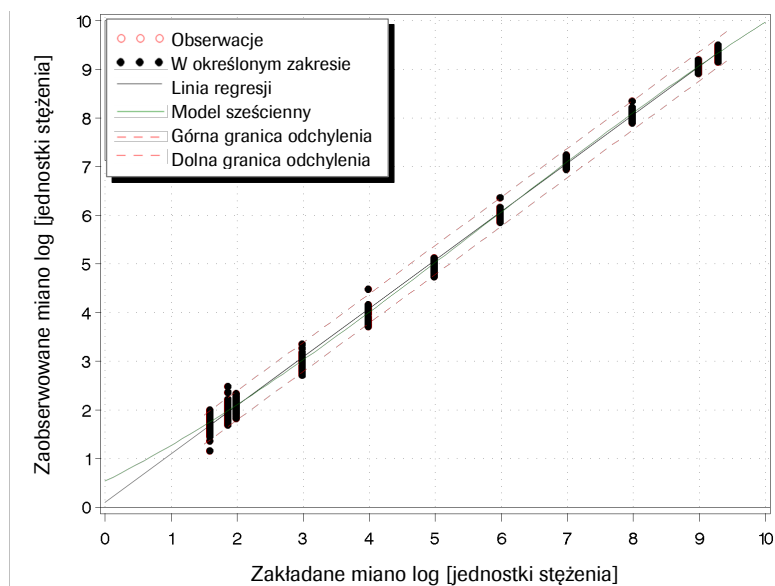
Stężenie DNA parwowirusa B19 (IU/ml)	Liczba reaktywnych próbek	Liczba ważnych powtórzeń testu	% wyników reaktywnych	Dolny zakres 95% przedziału ufności (jednostronny)
40	187	189	98,9%	96,7%
20	184	189	97,4%	94,5%
10	175	189	92,6%	88,7%
5	145	189	76,7%	71,1%
2,5	91	189	48,1%	42,0%

Zakres liniowy oznaczalności wirusa B19

Badanie liniowości oznaczalności parwowirusa B19 testu **cobas**® DPX przeprowadzono z seriami rozcieńczeń obejmującymi 12-elementowy panel obejmujący zamierzony zakres liniowy dominującego genotypu 1 parwowirusa B19. Przeprowadzono ocenę według wytycznych EP6-A CLSI. Trzy serie odczynników analizowano z wykorzystaniem trzech systemów **cobas**® 6800/8800, trzech operatorów i łącznie w 16 powtórzeniach na element panelu i serie przez 12 dni badania.

Badanie przeprowadzono z użyciem trzech serii odczynników. Zakres liniowy określono jako wynoszący od 40 IU/ml do 1,00E+09 IU/ml (38,5–1,93E+09 IU/ml) i pokazuje bezwzględne odchylenie od lepiej pasującej regresji nieliniowej poniżej $\pm 0,3 \log_{10}$ w ludzkim osoczu EDTA (patrz Ryc. 4).

Ryc. 4 Określenie zakresu liniowego dla parwowirusa B19 w osoczu pobranym na EDTA



Odtwarzalność

Powtarzalność testu **cobas**® DPX oceniono dla trzech serii odczynników, trzech różnych dni, czterech różnych systemów/operatorów oraz zmienności międzyseryjnej. Wyniki dla serii odczynników podsumowuje Tabela 14.

Tabela 14 Międzyseryjna powtarzalność odczynników

Oznaczany składnik	Stężenie	Seria odczynnika	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne / ważne powtórzenia)	Dolna granica 95% przedziału ufności	Górna granica 95% przedziału ufności
HAV	2 × LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 × LoD	1	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
		2	96,8% (61/63)	89,0%	99,6%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	0,5 × LoD	1	79,4% (50/63)	67,3%	88,5%
		2	90,5% (57/63)	80,4%	96,4%
		3	92,1% (58/63)	82,4%	97,4%

Precyzja

Precyzję testu **cobas**® DPX określono dla parwovirusa B19 przez analizę rozcieńczeń seryjnych próbki dodatniej pod względem parwovirusa B19 w ujemnym osoczu EDTA. Osiem poziomów rozcieńczeń zbadano w 48 powtórzeniach dla każdego poziomu w trzech seriach odczynników testu **cobas**® DPX przy użyciu trzech urządzeń oraz trzech operatorów przez 12 dni. Każda próbka przechodziła całą procedurę testu **cobas**® DPX na w pełni zautomatyzowanych systemach **cobas**® 6800/8800. Dlatego podana precyzja odzwierciedla wszystkie aspekty procedury badawczej. Wyniki przedstawia Tabela 15.

Test **cobas**® DPX dla parwovirusa B19 wykazywał wysoką precyzję dla trzech serii odczynników badanych w zakresie stężeń od 1,00E+03 do 2,0E+09 IU/ml.

Tabela 15 Precyzja wewnątrzlaboratoryjna testu **cobas**® DPX*

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie założone (IU/ml)	Materiał źródłowy	Osocze krwi pobranej na EDTA			
			Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie serie
			OS	OS	OS	OS pulowane
2,00E+09	1,93E+09	Próbka kliniczna	0,08	0,05	0,04	0,06
1,00E+09	9,63E+08	Próbka kliniczna	0,05	0,06	0,04	0,05
1,00E+08	9,63E+07	Próbka kliniczna	0,04	0,07	0,04	0,05
1,00E+07	9,63E+06	Próbka kliniczna	0,04	0,04	0,03	0,04
1,00E+06	9,63E+05	Próbka kliniczna	0,12	0,04	0,04	0,08
1,00E+05	9,63E+04	Próbka kliniczna	0,06	0,05	0,02	0,05
1,00E+04	9,63E+03	Próbka kliniczna	0,06	0,12	0,04	0,08
1,00E+03	9,63E+02	Próbka kliniczna	0,05	0,09	0,04	0,06

* Uważa się, iż wartości miana mają charakter rozkładu logarytmiczno-normalnego i są analizowane po zamianie na log₁₀. Kolumny odchylenia standardowego (OS) przedstawiają całkowite przekształcone logarytmicznie miano dla każdej z trzech serii odczynników.

Reprezentatywność genotypowa – HAV

Wiarygodność testu **cobas**® DPX w wykrywaniu trzech genotypów HAV określano badając łącznie 12 unikatowych próbek klinicznych, standard WHO HAV (kod NIBSC 00/560) oraz osiem izolatów z hodowli HAV o znanych genotypach. Wszystkie próbki kliniczne oraz izolaty z hodowli oznaczano ilościowo za pomocą testu **cobas**® DPX wykorzystując metodę bracketingu kalibratora. Wszystkie próbki kliniczne przebadano bez rozcieńczenia i po rozcieńczeniu z użyciem prawidłowego osocza ludzkiego niezawierającego wirusa (HAV) i pobranego na EDTA do stężenia na poziomie 3,6-krotności wartości LoD testu **cobas**® DPX. Wszystkie osiem izolatów z hodowli oraz standard WHO HAV przebadano po rozcieńczeniu z użyciem prawidłowego osocza ludzkiego niezawierającego wirusa (HAV) i pobranego na EDTA do stężenia na poziomie 3,6-krotności wartości LoD testu **cobas**® DPX. Wszystkie próbki kliniczne i izolaty z hodowli wykryto bez rozcieńczenia i/lub w stężeniu wynoszącym 3,6-krotność wartości LoD (Tabela 16).

Tabela 16 Próbki kliniczne i izolaty HAV z hodowli

Genotyp	Próbki kliniczne		Izolaty z hodowli
	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/ przebadane próbki) nierozcieńczone	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/ przebadane próbki) rozcieńczone do stężenia 3,6 × LoD	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/ przebadane próbki) rozcieńczone do stężenia 3,6 × LoD
I A	100,0% (11/11)	100,0% (12/12)**	Nie przebadano*
I B	100,0% (1/1)	100,0% (1/1)	100,0% (1/1)
II A	Nie przebadano*	Nie przebadano*	100,0% (1/1)
II B	Nie przebadano*	Nie przebadano*	100,0% (1/1)
III A	Nie przebadano*	Nie przebadano*	100,0% (3/3)
III B	Nie przebadano*	Nie przebadano*	100,0% (2/2)

* Niewystarczająca ilość do oznaczenia bez rozcieńczenia/z rozcieńczeniem.

** W tym standard WHO HAV (kod NIBSC 00/560).

Weryfikacja genotypu dla parwowirusa B19

Wiarygodność testu **cobas**® DPX na genotypach parwowirusa B19 oceniano w następujący sposób:

- Weryfikacja granicy wykrywalności dla genotypów 1, 2 i 3
- Weryfikacja liniowości dla genotypów 2 i 3

Weryfikacja granicy wykrywalności dla genotypów od 1 do 3

Próbki kliniczne DNA parwowirusa B19 dla trzech różnych genotypów (1, 2, 3a) rozcieńczono do jednego poziomu w osoczu EDTA. Plazmid genotypu 3b parwowirusa B19 rozcieńczono do jednego poziomu stężenia w osoczu krwi pobranej na EDTA. Określenie współczynnika reaktywności przeprowadzono w 21 powtórzeniach. Badanie przeprowadzono z jedną serią odczytników **cobas**® DPX. Wyniki dla osocza EDTA przedstawia Tabela 17. Wyniki te weryfikują, że test **cobas**® DPX wykrył DNA parwowirusa B19 dla trzech różnych genotypów przy stężeniach 10,3–17,4 IU/ml ze współczynnikiem reaktywności wynoszącym 100%.

Tabela 17 Reprezentatywność genotypów parwowirusa B19

Genotyp	Stężenie	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/ważne powtórzenia)	Dolna granica 95% przedziału ufności	Górna granica 95% przedziału ufności
1	17,4 IU/ml	100% (21/21)	83,9%	100,0%
2	10,3 IU/ml	100% (21/21)	83,9%	100,0%
3a	10,3 IU/ml	100% (21/21)	83,9%	100,0%
3b	17,4 IU/ml	100% (20/20)	83,2%	100,0%

Weryfikacja zakresu liniowego dla genotypów 2 i 3a

Rozcieńczenia seryjne stosowane podczas weryfikacji badania liniowości genotypów testu **cobas**® DPX zawierają siedem elementów panelu rozciągającego się na zamierzony zakres liniowy. Elementy panelu o wysokim mianie przygotowano z podstawowego DNA plazmidowego o wysokim mianie, natomiast elementy o niskim mianie przygotowano z panelu 1st WHO International Reference Panel dla genotypów parwowirusa B19 (NIBSC 09/110). Panel liniowości opracowano tak, aby pomiędzy dwoma materiałami próbki występowało zachodzenie miana wynoszące około $2 \log_{10}$. Zakres liniowy testu **cobas**® DPX rozciągał się od LLoQ (40 IU/ml) do ULoQ ($1,00E+09$ IU/ml) i obejmował jeden punkt decyzji medycznej. Badanie przeprowadzono z jedną serią odczynnika **cobas**® DPX; zbadano 11 powtórzeń na poziom w osoczu EDTA. Zakres liniowy **cobas**® DPX zweryfikowano dla obu genotypów (2 i 3a). Maksymalne odchylenie między regresją liniową oraz lepiej dopasowaną regresją nieliniową było równe lub mniejsze niż $0,3 \log_{10}$.

Swoistość analityczna

Swoistość analityczna testu **cobas**® DPX została oceniona dla reaktywności krzyżowej przez badanie panelu 27 drobnoustrojów przy 10^6 cząstek, IU, kopii lub CFU/ml jak pokazuje to Tabela 18. Drobnoustroje dodawano do prawidłowego, ujemnego pod względem wirusa, ludzkiego osocza pulowanego i badano bez dodatku wirusa oraz z wirusem HAV lub parwowirusem B19 dodanym do uzyskania stężenia wynoszącego 3-krotność wartości LoD testu **cobas**® DPX w przypadku HAV oraz 5-krotność wartości LLoQ tego testu w przypadku parwowirusa B19. Wyniki niereaktywne uzyskano z testem **cobas**® DPX w przypadku wszystkich próbek drobnoustrojów bez dodanego wirusa HAV lub parwowirusa B19 oraz wyniki reaktywne uzyskano w przypadku wszystkich próbek drobnoustrojów z dodanym wirusem HAV lub parwowirusem B19. Ponadto średni \log_{10} miana każdej próbki dodatniej pod względem parwowirusa B19 zawierającej potencjalnie reagujący krzyżowo mikroorganizm mieścił się w granicach $\pm 0,5 \log_{10}$ średniej \log_{10} miana odpowiedniej dodanej kontroli. Badane drobnoustroje nie wykazują reaktywności krzyżowej ani nie zakłócają działania testu **cobas**® DPX.

Badane drobnoustroje nie zakłócają działania testu **cobas**® DPX.

Tabela 18 Drobnoustroje badane pod kątem swoistości analitycznej

Wirusy	Flawiwirusy	Bakterie	Drożdżaki
Adenowirus 5	Wirus gorączki Zachodniego Nilu (WNV)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Wirus Chikungunya	Wirus gorączki Denga typu 1	<i>Propionibacterium acnes</i>	-
Cytomegalowirus (CMV)	Wirus Usutu	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Wirus Epsteina-Barra (EBV)	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Wirus zapalenia wątroby typu B (HBV)	-	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-
Wirus zapalenia wątroby typu C (HCV)	-	<i>Streptococcus viridans</i>	-
Wirus zapalenia wątroby typu E (HEV)	-	-	-
Wirus zapalenia wątroby typu G (GBV C)	-	-	-
Wirus opryszczki pospolitej typu 1 (HSV-1)	-	-	-
Wirus opryszczki pospolitej typu 2 (HSV-2)	-	-	-
Ludzki wirus opryszczki typu 6A (HHV-6)	-	-	-
Ludzki wirus niedoboru odporności (podtypy HIV-1M oraz HIV-2)	-	-	-
Ludzki wirus T-limfotropowy typu I (HTLV I)	-	-	-
Ludzki wirus T-limfotropowy typu II (HTLV II)	-	-	-
Wirus grypy typu A	-	-	-
Wirus ospy wietrznej-półpaśca (VZV)	-	-	-

Próbki osocza od każdego stanu chorobowego, wymienionego w Tabeli 19, badano z dodatkiem wirusów HAV lub parwowirusów B19 do uzyskania stężenia wynoszącego 3-krotność wartości LoD testu **cobas**® DPX w przypadku HAV, 5-krotność wartości LLoQ tego testu w przypadku parwowirusa B19 oraz bez dodatku tych wirusów. Test **cobas**® DPX dawał wyniki niereaktywne dla wszystkich próbek stanów chorobowych bez dodanego wirusa HAV lub parwowirusa B19. Test **cobas**® DPX dawał wyniki reaktywne dla wszystkich próbek stanów chorobowych z dodanym wirusem HAV lub parwowirusem B19. Ponadto średni \log_{10} miana każdej próbki dodatkowo pod względem parwowirusa B19 zawierającej potencjalnie reagujący krzyżowo mikroorganizm mieścił się w granicach $\pm 0,5 \log_{10}$ średniej \log_{10} miana odpowiedniej dodanej kontroli. Te stany chorobowe nie zakłócały działania testu **cobas**® DPX.

Tabela 19 Próbki dla poszczególnych stanów chorobowych przebadane pod kątem swoistości analitycznej

Stan chorobowy		
Adenowirus typu 5	Wirus zapalenia wątroby typu C	Ludzki wirus T-limfotropowy typu I
Wirus cytomegalii	Wirus zapalenia wątroby typu E	Ludzki wirus T-limfotropowy typu II
Wirus gorączki Denga	Wirus opryszczki pospolitej typu 1	Wirus gorączki Zachodniego Nilu
Wirus Epsteina-Barra	Wirus opryszczki pospolitej typu 2	-
Wirus zapalenia wątroby typu B	Ludzki wirus upośledzenia odporności (HIV-1M)	-

Swoistość analityczna – substancje interferujące

Endogenne substancje wpływające na wynik testu

Przeprowadzono oznaczenia próbek osocza z nieprawidłowo wysokimi stężeniami trójglicerydów (do 33 g/l), hemoglobiny (do 2 g/l), bilirubiny niezwiązanej (do 0,2 g/l), bilirubiny związanej (do 0,2 g/l), albuminy (do 60 g/l) oraz ludzkiego DNA (do 1,8 mg/l) po dodaniu wirusa HAV oraz parwowirusa B19 do uzyskania stężenia wynoszącego 3-krotność wartości LoD w przypadku HAV oraz 5-krotność wartości LLoQ w przypadku parwowirusa B19 dla testu cobas® DPX oraz bez dodatku tych wirusów. Próbki zawierające wyżej wymienione substancje endogenne nie wpłynęły na czułość ani swoistość testu cobas® DPX.

Egzogenne substancje wpływające na wynik testu

Próbki prawidłowego, ujemnego pod względem wirusa osocza ludzkiego EDTA zawierającego nieprawidłowo wysokie stężenia leków (Tabela 20) badano z i bez HAV oraz parwowirusa B19 dodanego do uzyskania stężenia wynoszącego 3-krotność wartości LoD w przypadku HAV oraz 5-krotność wartości LLoQ w przypadku parwowirusa B19 testu cobas® DPX. Wyżej wymienione substancje egzogenne nie wpłynęły na czułość ani swoistość testu cobas® DPX.

Tabela 20 Próbki kliniczne badane z dodatkiem leków

Nazwa badanego leku	Stężenie
Paracetamol	1324 µmol/l
Kwas acetylosalicylowy	3620 µmol/l
Kwas askorbinowy	342 µmol/l
Atorwastatyna	600 µg równ./l
Fluoksetyna	11,2 µmol/l
Ibuprofen	2425 µmol/l
Loratadyna	0,78 µmol/l
Nadolol	3,88 µmol/l
Naproksen	2170 µmol/l
Paroksetyna	3,04 µmol/l
Chlorowodorek fenylefryny	491 µmol/l
Sertralina	1,96 µmol/l

Korelacja

Ocena skuteczności testu cobas® DPX w porównaniu z testem cobas® TaqScreen DPX

Wiarygodność testu cobas® DPX oraz testu cobas® TaqScreen DPX porównywano wykorzystując 84 próbek osocza dodatniego pod względem HAV w teście NAT, 100 próbek osocza dodatniego pod względem parwowirusa B19 w teście NAT oraz 100 próbek ujemnych pod względem wirusa HAV oraz parwowirusa B19.

W przypadku próbek ujemnych w obu metodach wykazano swoistość na poziomie 100% poprzez uzyskanie 100 wyników niereaktywnych na 100 przebadane próbki.

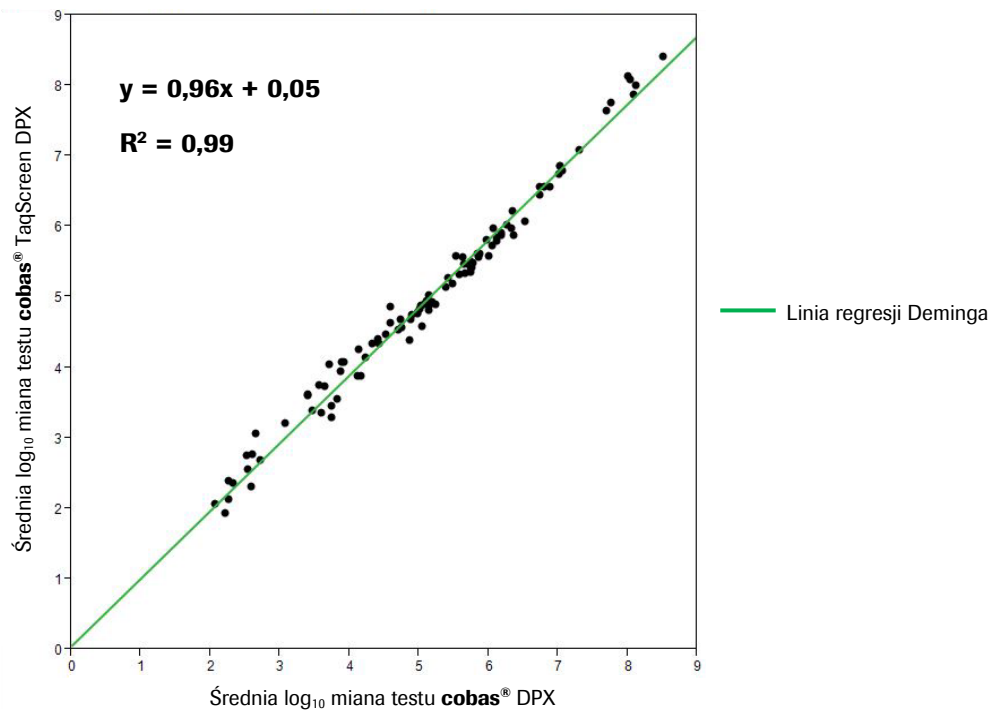
W przypadku próbek dodatnich pod względem wirusa HAV, test cobas® DPX oraz test cobas® TaqScreen DPX wykazywały zgodność 84 na 84 próbek (Tabela 21). Wynik ten oznacza odsetek zgodności wyników dodatnich równy 100%.

Tabela 21 Korelacja próbek dodatnich / ujemnych pod względem HAV

Metody		Wyniki HAV	
cobas® TaqScreen DPX	cobas® DPX	Próbki dodatnie	Próbki ujemne
Niereaktywne	Niereaktywne	0	100
Reaktywne	Niereaktywne	0	0
Niereaktywne	Reaktywne	0	0
Reaktywne	Reaktywne	84	0
Ogółem		84	100
Wartość p w teście McNemara (dwustronny, $\alpha = 0,05$)		1,00	1,00

Wyniki dodatnie pod względem parwowirusa B19 badano za pomocą testu **cobas® DPX** oraz testu **cobas® TaqScreen DPX** w powtórzeniach. Przeprowadzono analizę regresji Deminga. Średnie odchylenie miana próbek badanych dwoma testami wynosiło $0,15 \log_{10}$. Ponadto w obrębie zakresu miana $1,0E+03-1,0E+06$ IU/ml średnie odchylenie miana w dwóch testach wynosiło $0,14 \log_{10}$.

Ryc. 5 zawiera wyniki regresji Deminga.

Ryc. 5 Analiza regresji testu **cobas® DPX** w porównaniu z testem **cobas® TaqScreen DPX**, 100 próbek dodatnich pod względem parwowirusa B19

Błąd całego systemu

Częstotliwość błędu całego systemu dla testu **cobas**® DPX określono badając 100 powtórzeń osocza EDTA z dodanym wirusem HAV oraz parwowirusem B19. Próbki oznaczono przy stężeniach docelowych wynoszących w przybliżeniu 3-krotność wartości LoD, a oznaczenia wykonywano w pulach z jednej próbki (nierozcieńczonych). Badanie zostało przeprowadzone z wykorzystaniem systemu **cobas**® 8800 wraz z aparatem **cobas p** 680 (pipetowanie i pulowanie).

Wyniki tego badania wykazały, że we wszystkich powtórzeniach stwierdzono reaktywność względem parwowirusa B19, co dało częstość występowania błędu systemowego na poziomie 0%. Dolna granica dwustronnego 95% dokładnego przedziału ufności wyniosła 0%, a górna 3,62% [0%: 3,62%].

Wyniki tego badania wykazały, że w przypadku 99 na 100 powtórzeń stwierdzono reaktywność względem HAV, co dało częstość występowania błędu systemowego na poziomie 1%. Dolna granica dwustronnego 95% dokładnego przedziału ufności wyniosła 0%, a górna 5,45% [0%: 5,45%].

Kontaminacja między próbkami

Częstość występowania zanieczyszczenia pomiędzy próbkami w teście **cobas**® DPX określono poprzez oznaczenie w 239 powtórzeniach buforu kontroli ujemnej i 223 powtórzeń wysokiego miana parwowirusa B19 na poziomie $1,00E+08$ IU/ml. Badanie przeprowadzono z wykorzystaniem **cobas**® 8800. Łącznie wykonano pięć przebiegów z użyciem próbek dodatnich i ujemnych w układzie naprzemiennym.

Wszystkie 239 powtórzeń dla bufora kontroli ujemnej były niereaktywne, co dało częstość występowania zanieczyszczenia pomiędzy próbkami na poziomie 0%. Dolna granica dwustronnego 95% dokładnego przedziału ufności wyniosła 0%, a górna 1,53% [0%: 1,53%].

Wiarygodność kliniczna

Odtwarzalność

Odtwarzalność testu cobas® DPX ustalono badając 16-elementowy panel zawierający dwa elementy osocza ujemne pod względem wirusa HAV i poniżej dolnej granicy oznaczalności (ang. *Lower Limit of Quantitation*, LLOQ) dla parwowirusa B19 i 14 dodatnich próbek osocza, które obejmowały dwie próbki dodatnie pod względem HAV, każda w 3 różnych stężeniach (około $0,5 \times$, $1,0 \times$ i $3,0 \times$ LoD testu cobas® DPX dla HAV), oraz dwie próbki parwowirusa B19, każda w 4 różnych stężeniach (od 10^3 do 10^6 IU/ml).

Operatorzy w każdym z trzech ośrodków stosowali test cobas® DPX przez pięć dni badań używając 3 serii odczynników cobas® DPX w celu uzyskania dwóch prawidłowych partii na dzień. Badano dwa powtórzenia na stężenie uzyskując do 180 testów na element panelu wirusów w każdym z trzech stężeń wirusa HAV i w każdym z czterech stężeń parwowirusa B19.

W przypadku HAV, wszystkie ważne partie i wyniki testów przeanalizowano, obliczając odsetek reaktywnych wyników testów dla każdego elementu panelu, a także odsetek niereaktywnych wyników dla elementów panelu kontroli ujemnej (Tabela 22). Badanie to pokazało, że test cobas® DPX wykazuje odtwarzalność wyników wśród ocenianych zmiennych (seria, ośrodek/analizator, dzień, partia i w obrębie partii) dla każdego z trzech różnych badanych stężeń wirusa HAV.

Tabela 22 Wyniki testu HAV podsumowane według ośrodka/analizatora, serii, dnia i partii (dodatnie elementy panelu)

Stężenie HAV	Średnia wartość Ct	SD Ct	CV% Ct	Liczba reaktywnych wyników testów/całkowita liczba ważnych wyników											
				Seria			Ośrodek/aparat			Dzień			Partia		
				Nr ID	Reaktywny/ważny	%	Nr ID	Reaktywny/ważny	%	Nr ID	Reaktywny/ważny	%	Nr ID	Reaktywny/ważny	%
0,5 × LoD	37,50	0,799	2,1	1	53/60	88,3	1	48/60	80,0	1	30/36	83,3	1	76/90	84,4
				2	48/60	80,0	2	51/60	85,0	2	33/36	91,7	2	77/90	85,6
				3	52/60	86,7	3	54/60	90,0	3	31/36	86,1			
										4	26/36	72,2			
										5	33/36	91,7			
1,0 × LoD	37,04	0,763	2,1	1	57/59	96,6	1	55/60	91,7	1	34/36	94,4	1	88/89	98,9
				2	58/60	96,7	2	59/59	100,0	2	35/35	100,0	2	85/90	94,4
				3	58/60	96,7	3	59/60	98,3	3	36/36	100,0			
										4	34/36	94,4			
										5	34/36	94,4			
3,0 × LoD	35,95	0,725	2,0	1	60/60	100,0	1	60/60	100,0	1	36/36	100,0	1	90/90	100,0
				2	60/60	100,0	2	60/60	100,0	2	36/36	100,0	2	90/90	100,0
				3	60/60	100,0	3	60/60	100,0	3	36/36	100,0			
										4	36/36	100,0			
										5	36/36	100,0			

Uwaga: Ct = wartość progowa cyklu.

W przypadku parwowirusa B19, wszystkie ważne partie i wyniki testu analizowano obliczając odchylenie standardowe dla każdej zmiennej (seria, ośrodek/analizator, dzień, partia i w ramach partii) oraz odchylenie standardowe precyzji całkowitej dla każdego stężenia B19 (Tabela 23). Badanie to pokazało, że test cobas® DPX wykazuje odtwarzalność wyników wśród ocenianych zmiennych (seria, ośrodek/analizator, dzień, partia i w obrębie partii) dla każdego z czterech różnych badanych stężeń parwowirusa B19.

Tabela 23 Wyniki testu parwowirusa B19 podsumowane według ośrodka/analizatora, serii, dnia i partii (dodatnie elementy panelu)

Oczekiwane stężenie DNA B19 (log ₁₀ IU/ml)	Oczekiwane stężenie DNA B19 (IU/ml)	Średnie stężenie DNA B19 (log ₁₀ IU/ml)	Średnia rozkładu log-normalnego stężenia DNA B19 (IU/ml) ^a	Liczba testów ^b	Seria	Ośrodek/Analiz.	Dzień	Partia	W ramach partii	Całkowite odchylenie standardowe log ₁₀ stężenia DNA B19
3,000	1000	3,09	1252	176	0,0444	0,0092	0,0000	0,0000	0,0559	0,072
4,000	10 000	4,04	11 008	178	0,0348	0,0141	0,0248	0,0135	0,0543	0,072
5,000	100 000	5,04	111 745	179	0,0305	0,0221	0,0000	0,0265	0,0663	0,081
6,000	1 000 000	6,08	1 216 471	179	0,0248	0,0181	0,0166	0,0141	0,0718	0,081

^a Średnia rozkładu log-normalnego = $10^{\hat{\mu} + \hat{\sigma}^2 \cdot 1.151}$, gdzie średnia i odchylenie standardowe są szacunkami z modeli składowych efektów losowych.

^b Liczba testów z wykrywalnym obciążeniem wirusowym. Planowano przynajmniej 180 testów/elementów panelu. Nieważnych testów nie powtarzano.

Dodatkowe informacje

Najważniejsze cechy testu












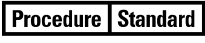








































Rodzaj próbki	Osocze*
Wymagana ilość próbki	1000 µl
Przetwarzana ilość próbki	850 µl

* Probówki używane do testów mogą mieć inne objętości martwe i wymagać większej lub mniejszej objętości minimalnej. Aby uzyskać więcej informacji, należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Roche.

Oznaczenia

Na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR stosuje się następujące oznaczenia.

Tabela 24 Oznaczenia stosowane na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR

 Age/DOB Wiek lub data urodzenia	 Wyrób nieprzeznaczony do testów przy pacjencie	 QS IU/PCR IU QS na reakcję PCR, użyć jednostek międzynarodowych (IU) QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.
 Oprogramowanie pomocnicze	 Wyrób nieprzeznaczony do samodzielnego testowania	 SN Numer seryjny
 Assigned Range [copies/mL] Przypisany zakres (kopie/ml)	 Dystrybutor (Uwaga: pod symbolem może być wskazany właściwy kraj/region.)	 Site Ośrodek
 Assigned Range [IU/mL] Przypisany zakres (IU/ml)	 Nie używać powtórnie	 Procedure Standard Procedura standardowa
 EC REP Autoryzowany Przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej	 Kobieta	 STERILE EO Produkt sterylizowany tlenkiem etylenu
 BARCODE Arkusze kodów kreskowych	 Wyłącznie do oceny działania w badaniach IVD	 Przechowywać z dala od światła
 LOT Kod partii	 GTIN Numer globalny jednostki handlowej	 Przestrzegać zakresu temperatury
 Zagrożenie biologiczne	 Importer	 TDF Plik definicji testów
 REF Numer katalogowy	 IVD Wyrób do diagnostyki <i>in vitro</i>	 Tą stroną do góry
 Oznaczenie zgodności CE – wyrób ten jest zgodny z obowiązującymi wymogami dotyczącymi oznaczenia CE dla wyrobu medycznego do diagnostyki <i>in vitro</i>	 LLR Dolna granica przypisanego zakresu	 Procedure UltraSensitive Procedura ultraczula
 Collect Date Data pobrania	 Mężczyzna	 UDI Niepowtarzalny kod identyfikacyjny wyrobu
 Sprawdź w instrukcji użytkowania	 Wytwórca	 ULR Górna granica przypisanego zakresu
 Zawartość wystarczająca na $<n>$ testów	 CONTROL - Kontrola ujemna	 Urine Fill Line Linia napełniania moczem
 CONTENT Zawartość zestawu	 Wyrób niejadalny	 Rx Only Tylko Stany Zjednoczone: prawo federalne zezwala na sprzedaż tego wyrobu wyłącznie lekarzowi lub na zamówienie takiego lekarza.
 CONTROL Próba kontrolna	 Nazwisko pacjenta	 Termin przydatności
 Data produkcji	 Numer pacjenta	
 Wyrób do testów przy pacjencie	 Rozerwać tutaj	
 Wyrób do samodzielnego testowania	 CONTROL + Kontrola dodatnia	
	 QS copies / PCR Kopie QS na reakcję PCR, użyć kopii QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.	

Pomoc techniczna

W celu uzyskania wsparcia (pomocy) technicznego należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Wytwórca i importer

Tabela 25 Wytwórca i importer



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

Wyprodukowano w Stanach Zjednoczonych



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Znaki towarowe i patenty

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

Prawo autorskie

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Piśmiennictwo

1. Blümel J, Burger R, Drosten C, et al. Parvovirus B19-Revised. *Transfus Med Hemother*. 2010;37:339-50.
2. Molenaar-de Backer MW, Lukashov VV, van Binnendijk RS, Boot HJ, Zaaijer HL. Global co-existence of two evolutionary lineages of parvovirus B19 1a, different in genome-wide synonymous positions. *PloS One*. 2012;7:e43206.
3. Servant A, Laperche S, Lallemand F, et al. Genetic diversity within human erythroviruses: identification of three genotypes. *J Virol*. 2002;76:9124-34.
4. Heegaard ED, Brown KE. Human parvovirus B19. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:485-505.
5. Vyse AJ, Andrews NJ, Hesketh LM, Pebody R. The burden of parvovirus B19 infection in women of childbearing age in England and Wales. *Epidemiol Infect*. 2007;135:1354-62.
6. Röhrer C, Gärtner B, Sauerbrei A, et al. Seroprevalence of parvovirus B19 in the German population. *Epidemiol Infect*. 2008;136:1564-75.
7. Valentin MN, Cohen PJ. Pediatric parvovirus B19: spectrum of clinical manifestations. *Cutis*. 2013;92:179-84.
8. Young NS, Brown KE. Parvovirus B19. *N Engl J Med*. 2004;350:586-97.
9. Oiwa H, Shimada T, Hashimoto M, et al. Clinical findings in parvovirus B19 infection in 30 adult patients in Kyoto. *Mod Rheumatol*. 2011;21:24-31.
10. Waza K, Inoue K, Matsumura S. Symptoms associated with parvovirus B19 infection in adults: a pilot study. *Intern Med*. 2007;46:1975-8.
11. Lassen J, Jensen AK, Bager P, et al. Parvovirus B19 infection in the first trimester of pregnancy and risk of fetal loss: a population-based case-control study. *Am J Epidemiol*. 2012;176:803-7.
12. Lamont RF, Sobel JD, Vaisbuch E, et al. Parvovirus B19 infection in human pregnancy. *BJOG*. 2011;118:175-86.
13. Sarfraz AA, Samuelsen SO, Bruu AL, Jenum PA, Eskild A. Maternal human parvovirus B19 infection and the risk of fetal death and low birthweight: a case-control study within 35 940 pregnant women. *BJOG*. 2009;116:1492-8.
14. Kleinman SH, Glynn SA, Lee TH, et al. Prevalence and quantitation of parvovirus B19 DNA levels in blood donors with a sensitive polymerase chain reaction screening assay. *Transfusion*. 2007;47:1756-64.
15. Thomas I, Di Giambattista M, Gérard C, et al. Prevalence of human erythrovirus B19 DNA in healthy Belgian blood donors and correlation with specific antibodies against structural and non-structural viral proteins. *Vox Sang*. 2003;84:300-7.
16. Candotti D, Etiz N, Parsyan A, Allain JP. Identification and characterization of persistent human erythrovirus infection in blood donor samples. *J Virol*. 2004;78:12169-78.
17. Plentz A, Hahn J, Knöll A, et al. Exposure of hematologic patients to parvovirus B19 as a contaminant of blood cell preparations and blood products. *Transfusion*. 2005;45:1811-5.
18. Lee TH, Kleinman SH, Wen L, et al. Distribution of parvovirus B19 DNA in blood compartments and persistence of virus in blood donors. *Transfusion*. 2011;51:1896-908.
19. Koppelman MH, Cuypers HT, Emrich T, Zaaijer HL. Quantitative real-time detection of parvovirus B19 DNA in plasma. *Transfusion*. 2004;44:97-103.
20. Kleinman SH, Glynn SA, Lee TH, et al. A linked donor-recipient study to evaluate parvovirus B19 transmission by blood component transfusion. *Blood*. 2009;114:3677-83.

21. Wu C-G, Mason B, Jong J, et al. Parvovirus B19 transmission by a high-purity factor VIII concentrate. *Transfusion*. 2005;45:1003-10.
22. Saldanha J, Minor P. Detection of human parvovirus B19 DNA in plasma pools and blood products derived from these pools: implications for efficiency and consistency of removal of B19 DNA during manufacture. *Br J Haematol*. 1996;93:714-9.
23. Eis-Hübinger AM, Sasowski U, Brackmann HH, et al. Parvovirus B19 DNA is frequently present in recombinant coagulation factor VIII products. *Thromb Haemost*. 1996;76:1120.
24. Schmidt I, Blümel J, Seitz H, Willkommen H, Löwer J. Parvovirus B19 DNA in plasma pools and plasma derivatives. *Vox Sang*. 2001;81:228-35.
25. Mortimer PP, Luban NL, Kelleher JF, Cohen BJ. Transmission of serum parvovirus-like virus by clotting-factor concentrates. *Lancet*. 1983;2:482-4.
26. Azzi A, Ciappi S, Zakvrzewska K, et al. Human parvovirus B19 infection in hemophiliacs first infused with two high-purity, virally attenuated factor VIII concentrates. *Am J Hematol*. 1992;39:228-30.
27. Blümel J, Schmidt I, Effenberger W, et al. Parvovirus B19 transmission by heat-treated clotting factor concentrates. *Transfusion*. 2002;42:1473-81.
28. Koenigbauer UF, Eastlund T, Day JW. Clinical illness due to parvovirus B19 infection after infusion of solvent/detergent-treated pooled plasma. *Transfusion*. 2000;40:1203-6.
29. Santagostino E, Mannucci PM, Gringeri A, et al. Transmission of parvovirus B19 by coagulation factor concentrates exposed to 100 degrees C heat after lyophilization. *Transfusion*. 1997;37:517-22.
30. Geng Y, Wu CG, Bhattacharyya SP, et al. Parvovirus B19 DNA in Factor VIII concentrates: effects of manufacturing procedures and B19 screening by nucleic acid testing. *Transfusion*. 2007;47:883-9.
31. Martin A, Lemon SM. Hepatitis A virus: from discovery to vaccines. *Hepatology*. 2006;43:S164-72.
32. Matheny SC, Kingery JE. Hepatitis A. *Am Fam Physician*. 2012;86:1027-34.
33. Keeffe EB. Hepatitis A and B superimposed on chronic liver disease: vaccine-preventable diseases. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2006;117:227-37.
34. Vaughan G, Goncalves Rossi LM, Forbi JC, et al. Hepatitis A virus: host interactions, molecular epidemiology and evolution. *Infect Genet Evol*. 2014;21:227-43.
35. Perkins HA, Busch MP. Transfusion-associated infections: 50 years of relentless challenges and remarkable progress. *Transfusion*. 2010;50:2080-99.
36. Gowland P, Fontana S, Niederhauser C, Taleghani BM. Molecular and serologic tracing of a transfusion-transmitted hepatitis A virus. *Transfusion*. 2004;44:1555-61.
37. Diwan AH, Stubbs JR, Carnahan GE. Transmission of hepatitis A via WBC-reduced RBCs and FFP from a single donation. *Transfusion*. 2003;43:536-40.
38. Normann A, Jung C, Vallbracht A, Flehmig B. Time course of hepatitis A viremia and viral load in the blood of human hepatitis A patients. *J Med Virol*. 2004;72:10-6.
39. Soucie JM, Robertson BH, Bell BP, McCaustland KA, Evatt BL. Hepatitis A virus infections associated with clotting factor concentrate in the United States. *Transfusion*. 1998;38:573-9.
40. Chudy M, Budek I, Keller-Stanislawski B, et al. A new cluster of hepatitis A infection in hemophiliacs traced to a contaminated plasma pool. *J Med Virol*. 1999;57:91-9.

41. Kishore J, Sen M. Parvovirus B19-induced thrombocytopenia and anemia in a child with fatal fulminant hepatic failure coinfecting with hepatitis A and E viruses. *J Trop Pediatr*. 2009;55:335-7.
42. Ozçay F, Bikmaz YE, Canan O, Ozbek N. Hepatitis A and parvovirus B19 infections in an infant with fulminant hepatic failure. *Turk J Gastroenterol*. 2006;17:148-50.
43. Dwivedi M, Manocha H, Tiwari S, Tripathi G, Dhole TN. Coinfection of parvovirus b19 with other hepatitis viruses leading to fulminant hepatitis of unfavorable outcome in children. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:649-50.
44. Hughes JA, Fontaine MJ, Gonzalez CL, et al. Case report of a transfusion-associated hepatitis A infection. *Transfusion*. 2014;54:2202-6.
45. Jones S, Leighton K, Chapa J, et al. Prevalence of hepatitis A virus (HAV) and high-titer parvovirus B19 in recovered and source plasma donations. Poster SP395 presented at: ABB Annual Meeting and CTTXPO; 2013 October 12-15; Denver, CO. *Transfusion*. 2013;53(Suppl 2):211A.
46. Müller MM, Fraile MI, Hourfar MK, et al. Evaluation of two, commercial, multi-dye, nucleic acid amplification technology tests, for HBV/HCV/HIV-1/HIV-2 and B19V/HAV, for screening blood and plasma for further manufacture. *Vox Sang*. 2013;104:19-29.
47. U.S. Food and Drug Administration. Guidance for industry: nucleic acid testing (NAT) to reduce the possible risk of human parvovirus B19 transmission by plasma-derived products. Updated July 2009; Accessed: 09 September 2022. <https://www.fda.gov/files/vaccines%2C%20blood%20%26%20biologics/published/Guidance-for-Industry---Nucleic-Acid-Testing--to-Reduce-the-Possible-Risk-of-Parvovirus-B19-Transmission-by-Plasma-Derived-Products.pdf>.
48. Council of Europe. Human anti-D immunoglobulin (monograph 0557) (since 1/1/2004); Human anti-D immunoglobulin for intravenous administration (monograph 1527) (since 1/1/2004); Human plasma pooled and treated for virus inactivation (monograph 1646) (since 1/7/2004). In: *European Pharmacopoeia*. 6th Edition. Strasbourg, France: Council of Europe; 2011.
49. Council of Europe. Human plasma pooled and treated for virus inactivation (monograph 1646) (since 1/2011). In: *European Pharmacopoeia*. 6th Edition. Supplement 6.3. Strasbourg, France: Council of Europe; 2011.
50. 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.
51. 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.
52. 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.
53. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7.
54. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
55. Chosewood LC, Wilson DE, eds. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. US Department of Health and Human Services; 2009.
56. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*. 4th ed. M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2014.

Wersja dokumentu

Informacje dotyczące wersji dokumentu	
Doc Rev. 1.0 01/2023	Pierwsza publikacja.

Podsumowanie sprawozdania na temat bezpieczeństwa i parametrów działania można znaleźć pod następującym linkiem:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>