

cobas[®] CHIKV/DENV

Nukleinsäuretest zur Verwendung auf den cobas[®] 6800/8800 Systems

In-vitro-Diagnostikum

cobas[®] CHIKV/DENV – 480	P/N: 08042276190
cobas[®] CHIKV/DENV Control Kit	P/N: 08042136190
cobas[®] NHP Negative Control Kit	P/N: 07002220190
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

Inhaltsverzeichnis

Verwendungszweck	4
Zusammenfassung und Erklärung des Tests	4
Reagenzien und Materialien	9
cobas® CHIKV/DENV-Reagenzien und Kontrollen	9
cobas omni-Reagenzien für die Probenvorbereitung	11
Lagerung und Handhabung der Reagenzien	13
Zusätzlich benötigtes Material	14
Benötigte Geräte und Software	14
Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung	15
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	15
Umgang mit Reagenzien	16
Gute Laborpraxis	16
Entnahme, Transport, Lagerung und Pooling von Proben	17
Proben lebender Spender	17
Gebrauchsanleitung	19
Automatisches Pipettieren und Poolen von Proben (optional)	19
Hinweise zum Verfahren	19
Durchführen des cobas® CHIKV/DENV-Tests	19
Ergebnisse	20
Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse	20
Interpretation der Ergebnisse	20
Wiederholungsmessung für einzelne Proben	21
Verfahrenseinschränkungen	21

Nichtklinische Leistungsmerkmale	22
Wichtigste Leistungsmerkmale - Proben von Lebendspendern	22
Nachweisgrenze (LoD).....	22
Reproduzierbarkeit.....	25
Genotypverifizierung	27
Analytische Spezifität	27
Korrelation.....	30
Gesamtsystemausfall	30
Weitere Informationen	31
Wichtigste Leistungsmerkmale des Tests	31
Symbole	32
Herstellung und Vertrieb	33
Marken und Patente.....	33
Copyright.....	33
Literatur	34
Dokumentversion.....	36

Verwendungszweck

Beim cobas® CHIKV/DENV-Test zur Verwendung auf den cobas® 6800/8800 Systems handelt es sich um einen qualitativen *in-vitro*-Test zur direkten Detektion von RNA des Chikungunya-Virus (CHIKV) und RNA des Dengue-Virus (DENV) der Serotypen 1-4 in Humanplasma.

Der Test wurde für das Screening von Spenderproben auf jeweils CHIKV-RNA oder DENV-RNA sowie auf CHIKV- und DENV-RNA gleichzeitig in Plasmaproben einzelner menschlicher Spender konzipiert, einschließlich Spender von Vollblut und Blutbestandteilen sowie anderer Lebendspenden. Des Weiteren kann dieser Test für das Screening von Organ- und Gewebespendern verwendet werden, wenn die Organ- bzw. Gewebeproben entnommen werden, während das Herz des Spenders noch schlägt. Das Plasma sämtlicher Spender kann dem Screening in Form von Einzelproben unterzogen werden. Bei Vollblutspenden und Spenden von Blutbestandteilen können die Plasmaproben einzeln oder in Pools, die aus gleichen Aliquots einzelner Proben bestehen, getestet werden.

Dieser Test ist nicht für die Verwendung mit Nabelschnurblutproben bestimmt.

Dieser Test ist nicht als Hilfsmittel bei der CHIKV- oder DENV-Diagnose vorgesehen.

Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Hintergrund

DENV ist ein durch Arthropoden übertragenes (Arbovirus) RNA-Virus aus der Familie der Flaviviridae, zu der neben dem West-Nil-Virus (WNV) und Gelbfieberevirus noch ungefähr 70 weitere Viren gehören.¹ Wie andere Arboviren vermehrt sich DENV in einem enzootischen Zyklus zwischen blutsaugenden Stechmücken (hauptsächlich *Aedes aegypti*) und anfälligen Wirbeltieren (Menschen) als Wirten.^{2,3} Schätzungen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) zufolge ist DENV in über 100 Ländern endemisch. Dazu gehören über 2,5 Milliarden Menschen, die in tropischen und subtropischen Regionen der Welt potenziell bedroht sind.² Ein Anstieg der DENV-Inzidenz wurde in den vergangenen Jahren in Lateinamerika und der Karibik, einschließlich Puerto Rico, festgestellt. Damit stieg auch die Angst vor einer möglichen Ausbreitung von *Ae. aegypti* (dem Stechmückenvektor des DENV) und somit des DENV auf die USA.⁴ Die DENV-Pandemie aus dem Jahr 2010 umfasste Schätzungen zufolge weltweit ungefähr 390 Millionen Infektionen, darunter 96 Millionen symptomatische DENV-Infektionen und rund 500.000 Fälle von schweren Krankheitsverläufen.⁵

Bei den meisten DENV-Infektionen handelt es sich um Dengue-Fieber, das einer Definition der WHO zufolge durch Fieber und mindestens 2 weitere Symptome charakterisiert ist. Dazu können Schüttelfrost, Knochenschmerz (häufig schwer, was dem DENV den Ruf des „Knochenbrechervirus“ einbrachte), Myalgie, Arthralgie, Augenschmerz, Hautausschlag und Anfälligkeit für Blutergüsse gehören.² „Schwere Krankheitsverläufe“ gehen mit hämorrhagischem Fieber und Schock einher.² Das DENV ist in vier verwandte, aber immunologisch unterschiedliche Serotypen klassifiziert: DENV-1, DENV-2, DENV-3 und DENV-4. Eine Infektion mit einem DENV-Typ führt zu einer lebenslangen Immunität gegen diesen DENV-Serotyp und zu einer kurzzeitigen (≤ 2 Monate) Kreuzimmunität gegen die anderen drei DENV-Typen.⁶

Das DENV kann über Transfusionen übertragen werden.^{2,6,7} Die erste dokumentierte transfusionsbedingte DENV-Infektion stammt aus dem Jahr 2002 während eines lokalen Ausbruchs in Hongkong. Anhand eines RT-PCR-Tests konnte gezeigt werden, dass sowohl die Spender- als auch die Empfängerprobe DENV-1-RNA-positiv waren.^{8,9} Cluster von transfusionsbedingten DENV-Infektionen wurden im Jahr 2007 in Singapur¹⁰ und Puerto Rico festgestellt, einschließlich eines Falls von transfusionsbedingtem hämorrhagischem Fieber.^{1,6} Während einer Epidemie in Brasilien im Jahr 2012 wurden 42 DENV-4-RNA-positiv Spenden an 35 Empfänger transfundiert, was zu sechs transfusionsbedingten DENV-Infektionen führte.^{11,12}

Da die meisten DENV-Infektionen asymptomatisch sind (53 % bis 87 %), kommt es vor, dass infizierte Personen Blut spenden.² Das Screening von Blutspenden im Rahmen einer in Puerto Rico durchgeführten Studie ergab eine Rate von 0,03 % bis 0,31 % in den letzten Jahren des Ausbruchs (2005, 2007, 2010, 2011 und 2012).² Eine Untersuchung von 39.134 Blutspenden, die während der DENV-Epidemie im Jahr 2012 in Brasilien entnommen wurden, ergab eine DENV-4-Virämie von 0,51 % in den Spenden aus Rio de Janeiro und 0,80 % der Spenden aus Recife.^{11,12} Ein ähnlicher Trend wurde in einer Modellierung der US-amerikanischen Behörde CDC (Centers for Disease Control and Prevention) ermittelt.⁴ Ein Impfstoff befindet sich zwar in Entwicklung, es gibt derzeit jedoch keine Impfung gegen DENV-Infektionen; Standard ist eine unterstützende Therapie.⁵

Das durch Arthropoden übertragene (Arbovirus) RNA-Virus CHIKV gehört zur Familie der Togaviridae. Sein Überleben verdankt das CHIKV dem enzootischen Zyklus zwischen blutsaugenden Stechmücken (*Ae. aegypti* und – seit mindestens 2005 – *Ae. albopictus*) und Menschen.² Das CHIKV („Chikungunya“ bedeutet in Makonde, einer Landessprache in Tansania und Mosambik, „der gekrümmt Gehende“) ist mit ähnlichen Symptomen verbunden und tritt in denselben endemischen Zeiträumen auf wie das DENV, jedoch ist CHIKV durch schwere Gelenkschmerzen und quälende Arthritis charakterisiert, die so schwerwiegend sein können, dass der Betroffene nicht aufstehen kann.^{2,13} Todesfälle durch CHIKV wurden zwar nur selten berichtet, treten jedoch normalerweise infolge einer Enzephalitis oder einer anderen Enzephalopathie, Myokarditis, Hepatitis oder eines Multiorganversagens auf.¹⁴

Das CHIKV wurde 1952 in Tansania entdeckt und führte mehrere Jahrzehnte lang zu sporadischen Ausbrüchen in Afrika und Asien.¹⁴ Für das CHIKV wurden drei verschiedene Linien identifiziert: die westafrikanische Linie (WA), die ost-zentral-südafrikanische Linie (ECSA) und die asiatische Linie (Asian), die sich vom ECSA-Virus ableitet.¹⁴ Das CHIKV ist seit dem Jahr 2000 in verschiedenen Ausbrüchen erneut aufgetreten, die sich durch schwerwiegendere Verlaufsformen auszeichnen, als dies früher beobachtet wurde.¹⁴ In den Jahren 2006 und 2007 führte das CHIKV nach 32 Jahren Abwesenheit zu einem großen Ausbruch in Indien, von dem 13 Staaten betroffen waren.^{14,15} 2006 und 2007 gab es in Indien einen großen Ausbruch von CHIKV. CHIKV-Ausbrüche traten auch in verschiedenen anderen Ländern Südostasiens auf. Seit 2005 wurden über 1,9 Millionen CHIKV-Fälle in Indien, Indonesien, den Malediven, Myanmar und Thailand gemeldet.¹⁵ Auch Pakistan und Kenia werden derzeit (Stand Juli 2017) von andauernden Epidemien heimgesucht, die im Jahr 2016 begannen.¹⁵

Ein besonders explosiv verlaufender Ausbruch trat von Ende 2005 bis 2007 auf der Insel La Réunion und anderen Inseln im südwestlichen Indischen Ozean auf, mit 300.000 klinischen Fällen auf La Réunion (40 % der Inselbevölkerung), von denen 75 % symptomatisch waren.^{2,16} Bei dem Ausbruch auf La Réunion wurde eine Mutation in einem Virushüllprotein entdeckt, die zu einer Virusreplikation in *Ae. albopictus* führte (einer verwandten Spezies von *Ae. aegypti*, dem zuvor bekannten Überträger des CHIKV). Diese Mutation war beim La-Réunion-Ausbruch durch eine erhöhte Viruslast und eine stärkere Virulenz charakterisiert.¹⁷ *Ae. albopictus* war in der Folge als Stechmückenvektor auch an einer Reihe von Ausbrüchen in Indien, Norditalien und der Karibik beteiligt.^{2,18,19} Bei dem La-Réunion-Ausbruch von 2005 bis 2007 wurden zwar keine transfusionsbedingten CHIKV-Infektionen gemeldet, es wurden jedoch aggressive Maßnahmen ergriffen, um dem Risiko transfusionsbedingter Infektionen entgegenzuwirken, welches Schätzungen zufolge bis zu 1500 von 100.000 Spenden (1,5 %) betraf.^{2,16}

Sporadische Fälle von CHIKV wurden auch in Europa gemeldet. Der erste lokale Ausbruch (197 Fälle) in Europa fand 2007 in Nordostitalien statt. Damit galt die Möglichkeit von Ausbrüchen unter Beteiligung von *Ae. albopictus* in Europa als bestätigt.¹⁵ Im Jahr 2014 wurden mindestens 11 autochthone Fälle von CHIKV-Infektionen aus dem französischen Montpellier gemeldet, die von der Asiatischen Tigermücke (*Ae. albopictus*) verursacht wurden und im Umfeld eines importierten Falls auftraten.²⁰

Vor 2013 wurden Ausbrüche von CHIKV-Infektionen in Afrika, Asien, Europa und auf Inseln im Indischen Ozean und Pazifik gemeldet, Nachweise für eine CHIKV-Übertragung in Amerika liegen jedoch nicht vor.^{2,21} Das Potenzial für CHIKV-Ausbrüche ist jedoch schon seit langem bekannt. Hierfür sprechen das große Vorkommen der Überträger und ihre Effizienz bei der Übertragung des Dengue-Virus.²¹ Die erste lokal erworbene CHIKV-Infektion in Amerika wurde im Dezember 2013 aus St. Martin gemeldet.²¹

Das CHIKV stellt auch weiterhin eine Bedrohung für Amerika und die Karibik dar. Die Panamerikanische Gesundheitsorganisation (PAHO) meldete für 2017 (Stand 14. Juli) 58.806 Verdachtsfälle (28.654 bestätigte Fälle) einer autochthonen CHIKV-Übertragung in Südamerika, der Karibik und Nordamerika, darunter 13 Todesfälle in Brasilien.²² Die meisten dieser Fälle (52.724) stammen aus Brasilien, die übrigen Fälle wurden aus Bolivien, Kolumbien, Costa Rica, El Salvador, Französisch-Guayana, Guadeloupe, Guatemala, Martinique, Nicaragua, Panama, Paraguay, Peru, Puerto Rico, Saint-Barthélemy, St. Martin und Venezuela gemeldet.²²

Die Angst vor einer Ausbreitung des CHIKV auf die USA nimmt zu. Die CHIKV-Erkrankung kam vor 2006 kaum bei Reisenden aus den USA vor und es liegen keine Berichte über in den USA erworbene Fälle vor.²³ Über den Zeitraum von 2006 bis 2013 wurden in den USA durchschnittlich 28 Personen pro Jahr (zwischen 5 und 65) positiv auf CHIKV-Infektionen getestet. Dabei handelte es sich in allen Fällen entweder um Besucher oder rückkehrende Reisende aus den betroffenen Regionen in Asien, Afrika oder dem Indischen Ozean.²³ Im Jahr 2014 registrierte ArboNET 2811 Meldungen von CHIKV-Infektionen aus 47 US-Staaten (mit Ausnahme von Alaska, Nebraska und Wyoming), darunter 12 lokal übertragene Fälle in Florida.²³ In allen anderen Fällen waren Reisende betroffen, die aus betroffenen Regionen zurückkehrten.²³ Im Jahr 2014 wurden ArboNET insgesamt 4710 Fälle von CHIKV-Infektionen aus US-Territorien gemeldet, darunter Puerto Rico, Amerikanische Jungferninseln und Amerikanisch-Samoa.²³

Seit 2015 gehört CHIKV zu den national meldepflichtigen Erkrankungen in den USA. Im Jahr 2015 wurden ArboNET 679 Fälle von CHIKV-Infektionen aus 44 US-Staaten (alle Staaten mit Ausnahme von Delaware, Louisiana, New Mexiko, South Dakota, West Virginia und Wyoming) gemeldet. Es waren ausnahmslos Reisende betroffen, die aus betroffenen Regionen zurückkehrten.²⁴ 2015 wurden ArboNET aus den US-Territorien (Puerto Rico und Amerikanische Jungferninseln) 202 Fälle gemeldet, bei denen es sich ausnahmslos um lokal übertragene Infektionen handelte.²⁴ Im Jahr 2016 registrierte ArboNET 175 Fälle von CHIKV-Infektionen in 37 US-Staaten (alle Staaten mit Ausnahme von Alaska, Colorado, Idaho, Maine, Mississippi, Nevada, North Dakota, Oklahoma, Oregon, South Dakota, Vermont, West Virginia und Wyoming).²⁵ Auch hier waren in allen 175 Fällen Reisende betroffen, die aus betroffenen Regionen zurückkehrten; es gab keine lokal übertragenen Infektionen.²⁵ Es wurden insgesamt 171 Fälle von CHIKV-Infektionen aus US-Territorien gemeldet (alle aus Puerto Rico). Dabei handelte es sich in 170 Fällen um lokal erworbene Infektionen; ein Fall stand im Zusammenhang mit einer Reise.²⁵ Die Angst vor einer Ausbreitung des CHIKV über Florida hinaus nahm mit der Entdeckung von *Ae. aegypti*-Stechmücken im Los Angeles County (Commerce und Pico Rivera) zu.²⁶

Nutzen von NAT-Tests

Das DENV kann über Transfusionen übertragen werden.^{2,6,7} Transfusionsübertragungen des CHIKV wurden bisher zwar nicht dokumentiert, das Potenzial für transfusionsbedingte CHIKV-Infektionen lässt sich jedoch aus der Transfusionsübertragbarkeit anderer Arboviren wie z. B. des DENV ableiten.² Da die meisten (53 % bis 87 %) DENV-Infektionen und viele (ungefähr 25 %) der CHIKV-Infektionen asymptomatisch verlaufen, kommt es vor, dass infizierte Personen Blut spenden.^{2,6,7} Infizierte Spender entwickeln u. U. keine klinisch bedeutende Erkrankung oder bleiben asymptomatisch. Daher ist eine Befragung der Blutspender über kürzlich aufgetretene Symptome, die auf eine CHIKV- oder DENV-Infektion hinweisen könnten, kein wirksames Mittel zur Identifizierung infizierter Spender.

Erklärung des Tests

cobas® CHIKV/DENV ist ein qualitativer PCR-Test zur Detektion und Unterscheidung von CHIKV- und DENV-RNA auf dem **cobas**® 6800 System und dem **cobas**® 8800 System. Der **cobas**® CHIKV/DENV-Test ermöglicht die gleichzeitige oder individuelle Detektion von CHIKV- und DENV-RNA in einer einzelnen Spende oder in gepooltem Plasma von einzelnen Spenden in einem einzigen Test.

Testprinzipien

cobas® CHIKV/DENV beruht auf einer vollautomatisierten Probenvorbereitung (Extraktion und Aufreinigung der Nukleinsäuren) gefolgt von PCR-Amplifikation und Detektion. Die **cobas**® 6800/8800 Systems bestehen aus einem Probenzufuhrmodul, einem Transfermodul, einem Aufarbeitungsmodul und einem Analysenmodul. Die automatische Datenverwaltung erfolgt über die **cobas**® 6800/8800 Software, die jedem Test das Ergebnis „nicht reaktiv“, „reaktiv“ oder „ungültig“ zuweist. Die Ergebnisse können direkt am Bildschirm des Systems eingesehen und als Bericht gedruckt werden.

Proben können einzeln oder in Pools mit mehreren Proben getestet werden. Wenn Pools erstellt werden sollen, kann vor der Analyse das **cobas p 680** instrument oder die **cobas**® **Synergy** Software mit dem Hamilton MICROLAB® STAR IVD (**cobas**® **Synergy** Core) optional zur Vorbereitung der Pools eingesetzt werden.

In der Probe enthaltene Nukleinsäuren und hinzugegebene Armored RNA-IC-Moleküle (die als Prozesskontrolle für die Probenvorbereitung und die Amplifikation/Detektion dienen; IC = interne Kontrolle) werden gleichzeitig extrahiert. Zusätzlich kommen bei dem Test zwei externe Kontrollen zum Einsatz: eine Positiv- und eine Negativkontrolle. Virale Nukleinsäuren werden durch Zugabe von Proteinase und Lysereagenz zur Probe freigesetzt. Die freigesetzten Nukleinsäuren binden an die Siliziumdioxid-Oberfläche der hinzugefügten magnetischen Glaspartikel. Nicht gebundene Substanzen und Verunreinigungen, beispielsweise denaturierte Proteine, Zelltrümmer und potenzielle PCR-Inhibitoren (etwa Hämoglobin) werden durch anschließende Waschreagenzschritte entfernt. Die aufgereinigten Nukleinsäuren werden danach mit einem Elutionspuffer bei erhöhter Temperatur von den Glaspartikeln gelöst.

Zur selektiven Amplifikation der Zielnukleinsäure aus der Spenderprobe werden viruspezifische Forward- und Reverse-Primer eingesetzt, die aus hochkonservierten Regionen der viralen Nukleinsäure ausgewählt wurden. Für die reverse Transkription und die Amplifikation wird ein thermostabiles DNA-Polymeraseenzym eingesetzt. Der Master-Mix enthält anstelle von Desoxythymidintriphosphat (dTTP) Desoxyuridintriphosphat (dUTP), das in die neu synthetisierte DNA (Amplifikat) eingebaut wird.²⁷⁻²⁹ Etwaige Verunreinigungen durch Amplifikate aus vorherigen PCR-Läufen werden beim Erwärmen im ersten thermozyklischen Schritt durch das im PCR-Master-Mix enthaltene Enzym AmpErase (Uracil-N-Glykosylase) eliminiert. Neu gebildete Amplifikate dagegen werden nicht zerstört, da das AmpErase-Enzym durch Temperaturen über 55 °C inaktiviert wird.

Der **cobas**® CHIKV/DENV-Master-Mix enthält Detektionssonden, die für CHIKV-, DENV- und IC-Nukleinsäure spezifisch sind. Die CHIKV-, DENV- und IC-Detektionssonden sind alle mit einem von drei fluoreszierenden Reporterfarbstoffen markiert. Zudem ist jede Sonde mit einem vierten Farbstoff versehen, der als Quencher dient. Die drei Reporterfarbstoffe werden bei bestimmten Wellenlängen gemessen und ermöglichen so die gleichzeitige Detektion und Unterscheidung der amplifizierten CHIKV- und DENV-Zielsequenzen und der IC.^{30,31} Das Fluoreszenzsignal der intakten, nicht an die Zielsequenz gebundenen Sonden wird durch einen Quencher-Farbstoff unterdrückt. Während des PCR-Amplifikationsschritts werden die Sonden an die betreffenden einsträngigen DNA-Templates hybridisiert, was zur Abspaltung durch die 5'-3'-Nukleaseaktivität der DNA-Polymerase führt. Dadurch kommt es zur Abtrennung des Reporter- und Quencher-Farbstoffs, und es entsteht ein Fluoreszenzsignal. Mit jedem PCR-Zyklus werden zunehmende Mengen gespaltener Sonden erzeugt, und das kumulative Signal des Reporterfarbstoffs steigt entsprechend an. Da die drei spezifischen Reporterfarbstoffe bei definierten Wellenlängen gemessen werden, ist die gleichzeitige Detektion und Unterscheidung der amplifizierten CHIKV- und DENV-Zielsequenzen sowie der IC möglich.

Reagenzien und Materialien

cobas® CHIKV/DENV-Reagenzien und Kontrollen

Sämtliche ungeöffneten Reagenzien und Kontrollen sollten wie in Tabelle 1 bis Tabelle 4 empfohlen gelagert werden.

Tabelle 1 cobas® CHIKV/DENV

cobas® CHIKV/DENV Bei 2–8 °C lagern. Kassette mit 480 Tests (P/N 08042276190)		
Kitkomponenten	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit 480 Tests
Proteinase-Lösung (PASE)	Tris-Puffer, < 0,05 % EDTA, Calciumchlorid, Calciumacetat, 8 % (Massenvol.-%) Proteinase EUH210: Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. EUH208: Enthält Subtilisin. Kann allergische Reaktionen hervorrufen.	38 ml
Interne Kontrolle (IC)	Tris-Puffer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % Armored-RNA-Konstrukt (in Bakteriophage MS2 verkapselte nicht-infektiöse RNA) als interne Kontrolle, < 0,002 % Poly rA RNA (synthetisch), < 0,1 % Natriumazid	38 ml
Elutionspuffer (EB)	Tris-Puffer, 0,2 % Methyl-4-Hydroxybenzoat	38 ml
Master-Mix-Reagenz 1 (MMX-R1)	Manganacetat, Kaliumhydroxid, < 0,1 % Natriumazid	14,5 ml
CHIKV/DENV-Master-Mix- Reagenz 2 (CHIKV/DENV MMX-R2)	Tricin-Puffer, Kaliumacetat, Glycerin, 18 % Dimethylsulfoxid, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,14 % dATP, dGTP, dCTP, dUTP, < 0,01 % Upstream- und Downstream-CHIKV- und DENV- Primer, < 0,01 % Forward- und -Reverse-Primer für die interne Kontrolle, < 0,01 % fluoreszenzmarkierte CHIKV-, DENV- und IC-Sonden, < 0,01 % Oligonukleotid-Aptamer, < 0,01 % Z05D- DNA-Polymerase, < 0,01 % AmpErase-Enzym (Uracil-N- Glykosylase, mikrobiell), < 0,1 % Natriumazid	17,5 ml

Tabelle 2 cobas® CHIKV/DENV Control Kit**cobas® CHIKV/DENV Control Kit**

Bei 2–8 °C lagern.

(P/N: 08042136190)

Kitkomponenten	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -hinweise*
CHIKV/DENV Positivkontrolle (CHIKV-DENV (+) C)	< 0,001 % in MS2-Bakteriophagen-Hüllprotein verkapselte synthetische (Armored) CHIKV- und DENV-RNA, Humanplasma, CHIKV- und DENV-RNA nicht mittels PCR-Methoden nachweisbar. 0,1 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel**	16 ml (16 × 1 ml)	  <p>WARNUNG H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen. P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/ Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. P272: Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. P280: Schutzhandschuhe tragen. P333 + P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen. P362 + P364: Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. P501: Inhalt/Behälter einer zugelassenen Abfallbeseitigungsanlage zuführen. 55965-84-9 Gemisch aus: 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-on [EG-Nr. 247-500-7] und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on [EG-Nr. 220-239-6] (3:1)</p>

* Die Sicherheitskennzeichnung der Produkte erfolgt in erster Linie gemäß GHS-Verordnung der EU.

** Gefährliche Substanz

Tabelle 3 cobas® NHP Negative Control Kit**cobas® NHP Negative Control Kit**

Bei 2–8 °C lagern.

(P/N: 07002220190)

Kitkomponenten	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -hinweise*
Normal- Humanplasma- Negativkontrolle (NHP-NC)	Humanplasma, CHIKV- und DENV-RNA nicht mittels PCR-Methoden nachweisbar. < 0,1 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel**	16 ml (16 × 1 ml)	 <p>WARNUNG</p> <p>H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen.</p> <p>P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/ Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.</p> <p>P272: Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen.</p> <p>P280: Schutzhandschuhe tragen.</p> <p>P333 + P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.</p> <p>P362 + P364: Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.</p> <p>P501: Inhalt/Behälter einer zugelassenen Abfallbeseitigungsanlage zuführen.</p> <p>55965-84-9 Gemisch aus: 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-on [EG-Nr. 247-500-7] und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on [EG-Nr. 220-239-6] (3:1).</p>

* Die Sicherheitskennzeichnung der Produkte erfolgt in erster Linie gemäß GHS-Verordnung der EU.

** Gefährliche Substanz

cobas omni-Reagenzien für die Probenvorbereitung

Tabelle 4 cobas omni Reagenzien für die Probenvorbereitung*

Reagenzien	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -hinweise**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Bei 2–8 °C lagern. (P/N: 06997546190)	Magnetische Glaspartikel, Tris-Puffer, 0,1 % Methyl-4-hydroxybenzoat, < 0,1 % Natriumazid	480 Tests	keine
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Bei 2–8 °C lagern. (P/N: 06997511190)	Tris-Puffer, 0,1 % Methyl-4-hydroxybenzoat, < 0,1 % Natriumazid	4 x 875 ml	keine
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Bei 2–8 °C lagern. (P/N: 06997538190)	42,56 % (Gew.-%) Guanidinthiocyanat***, 5 % (Massenvol.-%) Polidocanol***, 2 % (Massenvol.-%) Dithiothreitol, Dihydro-Natriumcitrat	4 x 875 ml	 <p>GEFAHR H302 + H332: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Einatmen. H318: Verursacht schwere Augenschäden. H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. EUH032: Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase. P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P280: Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. P304 + P340 + P312: BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen. P305 + P351 + P338 + P310: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen. P501: Inhalt/Behälter einer zugelassenen Abfallbeseitigungsanlage zuführen. 593-84-0 Guanidinthiocyanat 9002-92-0 Polidocanol</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Bei 15–30 °C lagern. (P/N: 06997503190)	Natriumcitratdihydrat, 0,1 % Methyl-4-Hydroxybenzoat	4,2 l	keine

* Diese Reagenzien sind nicht Bestandteil des cobas® CHIKV/DENV-Testkits. Siehe Liste der zusätzlich benötigten Materialien (Tabelle 7).

** Die Sicherheitskennzeichnung der Produkte erfolgt in erster Linie gemäß GHS-Verordnung der EU.

*** Gefährliche Substanz

08077851001-02DE

Doc Rev. 2.0

12

Lagerung und Handhabung der Reagenzien

Reagenzien müssen wie in Tabelle 5 und Tabelle 6 angegeben gelagert und gehandhabt werden.

Reagenzien außerhalb der cobas® 6800/8800 Systems bei der in Tabelle 5 angegebenen Temperatur lagern.

Tabelle 5 Reagenzienlagerung (wenn sich das Reagenz nicht im System befindet)

Reagenz	Lagertemperatur
cobas® CHIKV/DENV - 480	2-8 °C
cobas® CHIKV/DENV Control Kit	2-8 °C
cobas® NHP 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

Reagenzien in den cobas® 6800/8800 Systems werden bei angemessenen Temperaturen aufbewahrt und ihr Verfallsdatum wird vom System überwacht. Das System lässt die Verwendung der Reagenzien nur zu, wenn alle in Tabelle 6 angegebenen Bedingungen erfüllt sind. Das System verhindert automatisch die Verwendung von abgelaufenen Reagenzien. In Tabelle 6 sind die Bedingungen für die Reagenzhandhabung aufgeführt, die von den cobas® 6800/8800 Systems geprüft werden.

Tabelle 6 Stabilitätsbedingungen für Reagenzien, die von den cobas® 6800/8800 Systems geprüft werden

Reagenz	Verfallsdatum des Kits	Kithaltbarkeit nach dem Öffnen	Anzahl der Läufe, für die dieses Kit verwendet werden kann	Haltbarkeit im Gerät (kumulative Zeit im Gerät außerhalb der Kühlung)
cobas® CHIKV/DENV - 480	Datum nicht überschritten	60 Tage ab erstem Gebrauch	Max. 20 Läufe	Max. 20 Stunden
cobas® CHIKV/DENV Control Kit	Datum nicht überschritten	Keine Angabe	Keine Angabe	Max. 10 Stunden
cobas® NHP Negative Control Kit	Datum nicht überschritten	Keine Angabe	Keine Angabe	Max. 10 Stunden
cobas omni Lysis Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden*	Keine Angabe	Keine Angabe
cobas omni MGP Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden*	Keine Angabe	Keine Angabe
cobas omni Specimen Diluent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden*	Keine Angabe	Keine Angabe
cobas omni Wash Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden*	Keine Angabe	Keine Angabe

* Zeit ab dem ersten Zeitpunkt, zu dem das Reagenz in die cobas® 6800/8800 Systems geladen wird

Zusätzlich benötigtes Material

Tabelle 7 Materialien und Verbrauchsmaterialien zur Verwendung auf den **cobas®** 6800/8800 Systems

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
Beutel für Festabfälle	07435967001
Festabfallbehälter	07094361001

Benötigte Geräte und Software

Die **cobas®** 6800/8800 Software und das **cobas®** CHIKV/DENV-Analysenpaket müssen auf dem Instrument (bzw. den Instrumenten) installiert werden. Der IG-Server (Instrument Gateway) ist Bestandteil des Systems.

Tabelle 8 Geräte

cobas® 6800/8800 Systems	P/N
cobas® 6800 System (mit beweglicher Plattform)	05524245001 und 06379672001
cobas® 6800 System (feststehend)	05524245001 und 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Probenzufuhrmodul	06301037001
Geräte und Software für Pipettierung und Pooling	P/N
cobas p 680 instrument	06570577001
cobas® Synergy Software-Dongle	07788339001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001

Weitere Informationen zu Primär- und Sekundärröhrchen, die auf den Systemen verwendet werden können, enthalten die Benutzerhandbücher der **cobas®** 6800/8800 Systems und des **cobas p** 680 instrument sowie die Benutzerunterstützung zur **cobas® Synergy** Software.

Hinweis: Eine ausführliche Bestellliste für Probenracks, Racks für verstopfte Spitzen und Racktrays, die auf den Geräten verwendet werden können, ist bei der zuständigen Roche-Vertretung erhältlich.

Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Wie bei allen Testverfahren ist gute Laborpraxis eine unerlässliche Voraussetzung für die uneingeschränkte Leistung dieses Tests. Aufgrund der hohen Sensitivität dieses Tests ist besonders darauf zu achten, dass die Reagenzien und Amplifikationsgemische nicht kontaminiert werden.

- Nur zur Verwendung als *in vitro*-Diagnostikum bestimmt.
- Alle Proben sind als potenziell infektiös und gemäß den Vorschriften für sicheres Arbeiten im Labor wie in „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“ und dem CLSI-Dokument M29-A4 beschrieben zu behandeln.^{32,33} Dieses Verfahren darf nur von Personal angewandt werden, das mit **cobas**® CHIKV/DENV, den **cobas**® 6800/8800 Systems und (optional) dem **cobas p** 680 instrument oder dem Hamilton MICROLAB® STAR IVD in Verbindung mit dem **cobas**® Synergy Core vertraut sowie in der Handhabung infektiöser Materialien geschult ist.
- Alle von Menschen gewonnenen Materialien sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen unter Anwendung genereller Vorsichtsmaßnahmen gehandhabt werden. Wenn Material verschüttet wurde, betroffenes Areal unverzüglich mit einer frisch zubereiteten Lösung aus 0,5%igem Natriumhypochlorit in destilliertem oder entionisiertem Wasser (Haushaltsbleiche im Verhältnis 1:10 verdünnen) desinfizieren oder die jeweiligen Laborverfahren beachten.
- Das **cobas**® CHIKV/DENV Control Kit und das **cobas**® NHP Negative Control Kit enthalten aus Humanblut gewonnenes Plasma. Bei der Untersuchung dieses Humanplasmas konnte mit PCR-Methoden keine CHIKV- und DENV-RNA nachgewiesen werden. Mit keiner der bekannten Testmethoden kann jedoch eine Übertragung von Infektionserregern durch humane Blutprodukte ausgeschlossen werden.
- Vollblut nicht einfrieren.
- Es wird empfohlen, sterile Einwegpipetten und nukleasefreie Pipettenspitzen zu verwenden. Nur die mitgelieferten oder angegebenen erforderlichen Verbrauchsmaterialien verwenden, um eine optimale Leistung des Tests zu gewährleisten.
- Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) sind auf Anfrage bei der zuständigen Roche-Vertretung erhältlich.
- Alle Verfahren und Vorschriften sind sorgfältig einzuhalten, um eine korrekte Durchführung des Tests sicherzustellen. Jede Abweichung von den Verfahren und Vorschriften kann sich auf die optimale Leistung des Tests auswirken.
- Wird während der Handhabung und Bearbeitung der Proben nicht ordnungsgemäß auf eine Vermeidung von Verschleppung geachtet, kann es zu falsch-positiven Ergebnissen kommen.

Umgang mit Reagenzien

- Alle Reagenzien, Kontrollen und Proben sind gemäß der guten Laborpraxis zu handhaben, um eine Verschleppung der Proben und Kontrollen zu vermeiden.
- Vor der Verwendung alle Reagenzkassetten, Diluenten, Lysereagenzien und Waschreagenzien mittels Sichtprüfung auf auslaufende Flüssigkeit überprüfen. Liegen Anzeichen für undichte Stellen vor, das betreffende Material nicht für den Test verwenden.
- **cobas omni** Lysis Reagent enthält die potenziell gefährliche Chemikalie Guanidinthiocyanat. Haut, Augen und Schleimhäute vor Kontakt mit Reagenzien schützen. Bei Kontakt sofort mit reichlich Wasser abspülen, um Verätzungen zu vermeiden.
- **cobas**® CHIKV/DENV-Kits, **cobas omni** MGP Reagent und **cobas omni** Specimen Diluent enthalten Natriumazid als Konservierungsstoff. Haut, Augen und Schleimhäute vor Kontakt mit Reagenzien schützen. Bei Kontakt sofort mit reichlich Wasser abspülen, um Verätzungen zu vermeiden. Verschüttete Reagenzien vor dem Aufwischen zunächst mit Wasser verdünnen.
- **cobas omni** Lysis Reagent enthält Guanidinthiocyanat und darf nicht in Kontakt mit Natriumhypochloritlösung (Haushaltsbleiche) gebracht werden. Dieses Gemisch kann ein hochgiftiges Gas erzeugen.
- Sämtliche Materialien, die mit Proben und Reagenzien in Berührung gekommen sind, gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

Gute Laborpraxis

- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- In den Arbeitsbereichen des Labors nicht essen, trinken oder rauchen.
- Beim Umgang mit Proben und Reagenzien Laborhandschuhe, Laborkittel und Schutzbrille tragen. Um Kontamination zu vermeiden, müssen die Handschuhe zwischen der Handhabung von Proben und **cobas**® CHIKV/DENV-Kits sowie **cobas omni** Reagenzien jeweils gewechselt werden. Darauf achten, dass die Handschuhe beim Umgang mit den Proben und Kontrollen nicht kontaminiert werden.
- Nach Gebrauch der Proben und Kitreagenzien sowie nach dem Ausziehen der Handschuhe gründlich die Hände waschen.
- Alle Arbeitsflächen im Labor gründlich mit einer frisch hergestellten Lösung aus 0,5%igem Natriumhypochlorit in destilliertem oder entionisiertem Wasser reinigen und desinfizieren (Haushaltsbleiche im Verhältnis 1:10 verdünnen). Anschließend die Arbeitsflächen mit 70%igem Ethanol abreiben.
- Wenn Flüssigkeiten auf den **cobas**® 6800/8800 Systems verschüttet wurden, die Oberflächen gemäß den Anweisungen im Benutzerhandbuch der **cobas**® 6800/8800 Systems reinigen und dekontaminieren.

Entnahme, Transport, Lagerung und Pooling von Proben

Hinweis: Alle Proben und Kontrollen wie potenzielle Überträger von Infektionserregern behandeln.

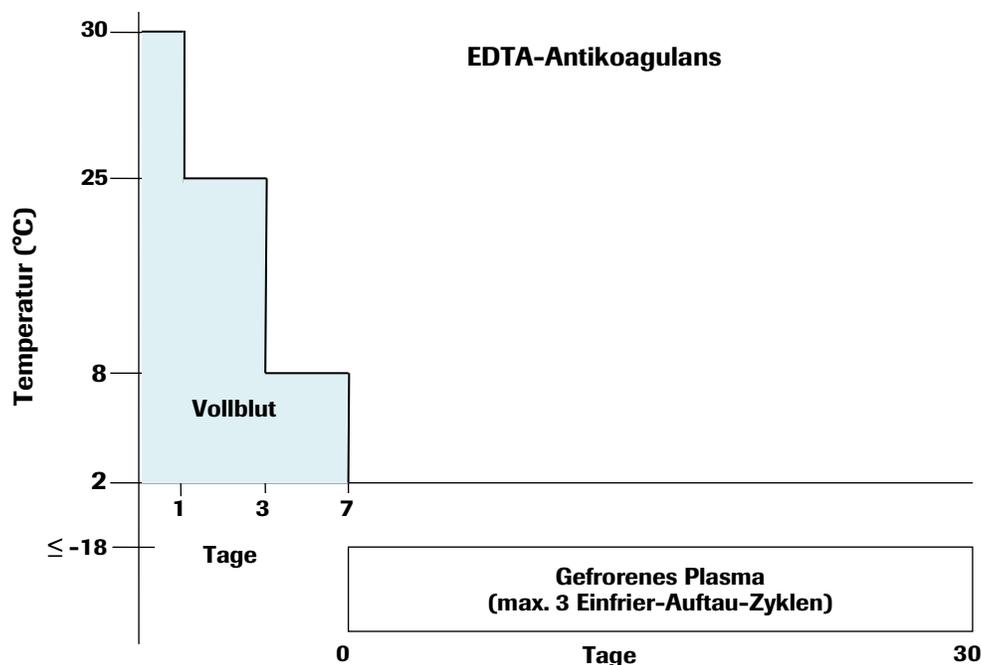
Alle Spenderproben bei den angegebenen Temperaturen lagern.

Erhöhte Umgebungstemperaturen wirken sich auf die Probenstabilität aus.

Proben lebender Spender

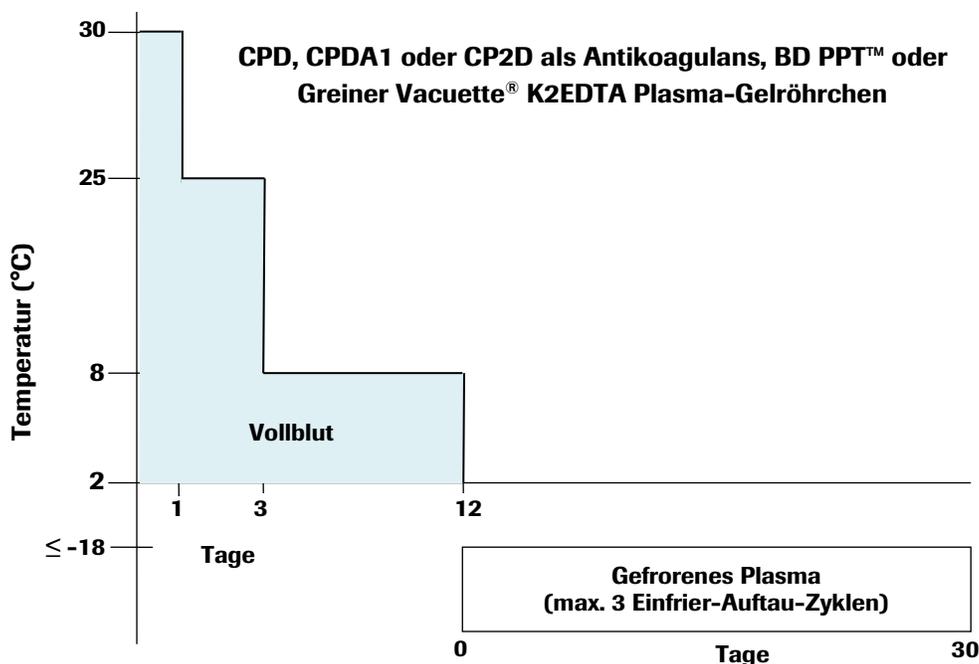
- Mit cobas® CHIKV/DENV können Plasmaproben verwendet werden, die in EDTA, CPD, CPDA1 und CP2D entnommen wurden. Bezüglich Handhabung und Zentrifugierung die Anweisungen des Probenröhrchen/-beutel-Herstellers beachten.
- In EDTA gesammeltes Blut kann unter den folgenden Bedingungen bis zu 7 Tage lang gelagert werden:
 - Die Proben müssen innerhalb von 72 Stunden nach der Entnahme zentrifugiert werden.
 - Bei Lagerung über 8 °C können die Proben 72 Stunden bei maximal 25 °C und während dieser 72 Stunden 24 Stunden bei maximal 30 °C gelagert werden.
- Anderenfalls werden Proben bei 2–8 °C gelagert. Von den Zellen abgetrenntes Plasma kann zudem maximal 30 Tage bei ≤ -18 °C gelagert werden und darf dreimal eingefroren und wieder aufgetaut werden. Siehe Abbildung 1.

Abbildung 1 Lagerungsbedingungen für EDTA-Proben lebender Spender



- In Röhrchen mit CPD, CPDA1, CP2D, BD PPT™-Röhrchen (Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes) oder Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma-Gelröhrchen gesammeltes Blut kann unter folgenden Bedingungen bis zu 12 Tage lang gelagert werden:
 - Die Proben müssen innerhalb von 72 Stunden nach der Entnahme zentrifugiert werden.
 - Bei Lagerung über 8 °C können die Proben 72 Stunden bei maximal 25 °C und während dieser 72 Stunden 24 Stunden bei maximal 30 °C gelagert werden.
- Anderenfalls werden Proben bei 2–8 °C gelagert. Von den Zellen abgetrenntes Plasma kann zudem maximal 30 Tage bei ≤ -18 °C gelagert werden und darf dreimal eingefroren und wieder aufgetaut werden. Siehe Abbildung 2.

Abbildung 2 Lagerungsbedingungen für Proben, die in CPD, CPDA1, CP2D, BD PPT™ und Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma-Gelröhrchen gesammelt wurden



- Wenn Proben versandt werden sollen, sind sie gemäß den geltenden nationalen und internationalen Vorschriften für den Transport von Proben und Krankheitserregern zu verpacken und zu beschriften.

Gebrauchsanleitung

Automatisches Pipettieren und Poolen von Proben (optional)

Das **cobas p 680** instrument oder der **cobas® Synergy Core** kann als optionale Komponente der **cobas® 6800/8800 Systems** zum automatischen Pipettieren und Poolen von Aliquots mehrerer Primärproben zu einer gepoolten Probe verwendet werden. Weitere Informationen hierzu enthalten das Benutzerhandbuch des **cobas p 680** instrument und die Benutzerunterstützung zur **cobas® Synergy** Software.

Hinweise zum Verfahren

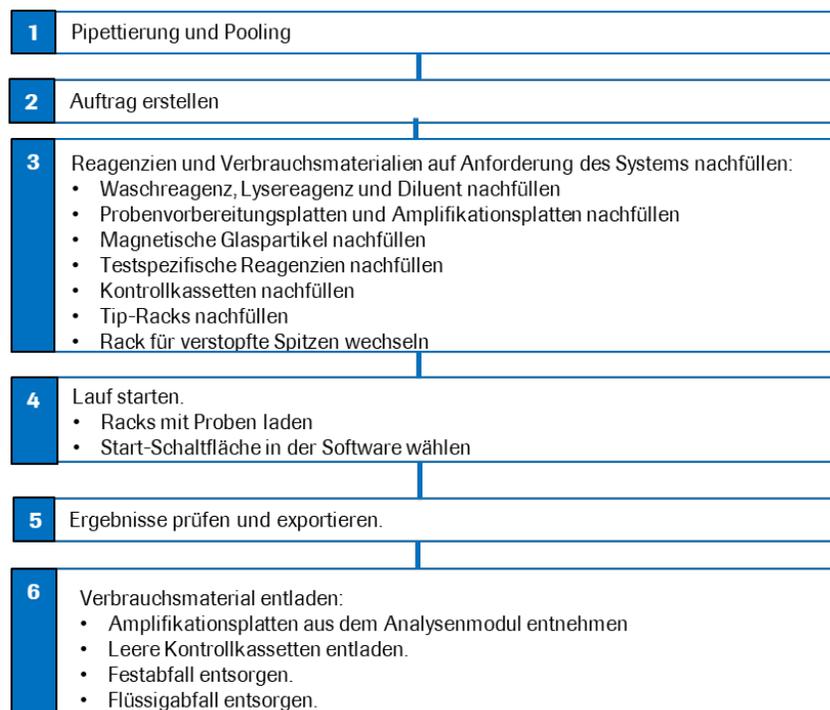
- Die **cobas® CHIKV/DENV**-Testreagenzien, das **cobas® CHIKV/DENV Control Kit**, das **cobas® NHP Negative Control Kit** und die **cobas omni** Reagenzien nach dem Verfallsdatum nicht mehr verwenden.
- Verbrauchsmaterial nicht wiederverwenden. Es ist ausschließlich zum Einmalgebrauch vorgesehen.
- Informationen zur ordnungsgemäßen Wartung enthält das Benutzerhandbuch der **cobas® 6800/8800 Systems**.

Durchführen des cobas® CHIKV/DENV-Tests

Der Testablauf ist im Benutzerhandbuch der **cobas® 6800/8800 Systems** ausführlich beschrieben; Einzelheiten zu optionalen Pooling-Verfahren finden Sie im Benutzerhandbuch des **cobas p 680** instrument und in der Benutzerunterstützung zur **cobas® Synergy** Software.

In Abbildung 3 ist der Ablauf zusammenfassend dargestellt.

Abbildung 3 cobas® CHIKV/DENV-Testablauf



Ergebnisse

Die **cobas**® 6800/8800 Systems dienen zur automatischen Detektion und Unterscheidung von CHIKV-RNA und DENV-RNA für die Proben und Kontrollen.

Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse

- Mit jedem Batch werden eine Negativkontrolle [(-) C] und eine Positivkontrolle [CHIKV-DENV (+) C] verarbeitet.
- Die **cobas**® 6800/8800 Software und/oder den Bericht auf Flags und betroffene Ergebnisse kontrollieren, um die Gültigkeit des Batch zu überprüfen.
- Der Batch ist gültig, wenn für keine der beiden Kontrollen Flags ausgegeben wurden.

Die **cobas**® 6800/8800 Software markiert Ergebnisse bei ausgefallenen Negativ- und Positivkontrollen automatisch als ungültig.

Kontroll-Flags

Tabelle 9 Kontroll-Flags für Negativ- und Positivkontrollen

Negativkontrolle	Flag	Ergebnis	Interpretation
(-) C	Q02	Invalid	Wenn das Ergebnis für (-) C ungültig ist, gilt der gesamte Batch als ungültig.
Positivkontrolle	Flag	Ergebnis	Interpretation
CHIKV-DENV (+) C	Q02	Invalid	Wenn das Ergebnis für CHIKV-DENV (+) C ungültig ist, gilt der gesamte Batch als ungültig.

Wenn der Batch ungültig ist, muss der Test des gesamten Batch einschließlich der Proben und Kontrollen wiederholt werden.

Interpretation der Ergebnisse

Bei gültigen Batches die einzelnen Proben in der **cobas**® 6800/8800 Software und/oder im Bericht auf Flags kontrollieren. Die Ergebnisse sind wie folgt zu interpretieren:

- Ein gültiger Batch kann sowohl gültige als auch ungültige Spenderprobenergebnisse enthalten, je nachdem, welche Flags für die einzelnen Proben generiert wurden.
- Probenergebnisse sind nur gültig, wenn die entsprechenden Positivkontrolle und die Negativkontrolle des betreffenden Batch gültig sind.

Bei jeder Probe werden drei Parameter gleichzeitig gemessen: CHIKV, DENV und interne Kontrolle (IC). Die Endergebnisse von **cobas**® CHIKV/DENV für die Proben werden von der Software ausgegeben. Zusätzlich zu den Gesamtergebnissen werden in der **cobas**® 6800/8800 Software die Ergebnisse für die einzelnen Zielsequenzen angezeigt, die wie folgt zu interpretieren sind:

Tabelle 10 Interpretation der Ergebnisse für die einzelnen Zielsequenzen

Ergebnis für Zielsequenz	Interpretation
CHIKV Non-Reactive	Kein Signal für die CHIKV-Zielsequenz detektiert, IC-Signal detektiert
CHIKV Reactive	Signal für die CHIKV-Zielsequenz detektiert, IC-Signal detektiert oder nicht detektiert
DENV Non-Reactive	Kein Signal für die DENV-Zielsequenz detektiert, IC-Signal detektiert
DENV Reactive	Signal für die DENV-Zielsequenz detektiert, IC-Signal detektiert oder nicht detektiert
Invalid	Kein Signal für Zielsequenz und kein IC-Signal detektiert

Wiederholungsmessung für einzelne Proben

Bei Probenröhrchen, bei denen das endgültige Ergebnis für eine Zielsequenz ungültig ist, muss der Test ungeachtet der gültigen Ergebnisse für die andere Zielsequenz wiederholt werden.

Verfahrenseinschränkungen

- **cobas®** CHIKV/DENV ist ausschließlich für den Gebrauch mit dem **cobas®** CHIKV/DENV Control Kit, **cobas®** NHP Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent und **cobas omni** Wash Reagent auf den **cobas®** 6800/8800 Systems validiert.
- Zuverlässige Ergebnisse sind nur bei Anwendung sachgemäßer Verfahren für Gewinnung, Lagerung und Bearbeitung der Proben gewährleistet.
- Bei diesem Test kein heparinisieretes Plasma verwenden, da Heparin nachweislich die PCR hemmt.
- Die Detektion von CHIKV-RNA und DENV-RNA hängt von der Anzahl der in der Probe enthaltenen Viruspartikel ab und kann durch Entnahmeverfahren, Lagerung und Handhabung der Proben, patientenbezogene Faktoren (Alter, Vorhandensein von Symptomen) und/oder das Infektionsstadium und die Pool-Größe beeinflusst werden.
- Mutationen in den hochkonservierten Regionen des viralen Genoms, das durch **cobas®** CHIKV/DENV abgedeckt wird, treten zwar selten auf, können jedoch die Primer- und/oder Sondenbindung beeinträchtigen und dadurch zur Nichterkennung des Virus führen.
- Bevor Benutzer zwischen verschiedenen Verfahren wechseln, sollten sie aufgrund der inhärenten Unterschiede zwischen den Verfahren in ihrem Labor Studien zur Korrelation der Methoden durchführen, um die Unterschiede der Verfahren zu ermitteln. Außerdem sollten Benutzer stets die eigenen spezifischen Strategien und Verfahren beachten.

Nichtklinische Leistungsmerkmale

Wichtigste Leistungsmerkmale - Proben von Lebendspendern

Nachweisgrenze (LoD)

Roche-Sekundärstandard

Die Nachweisgrenze von cobas® CHIKV/DENV wurde anhand der folgenden Standards bestimmt:

- Roche-Sekundärstandard für DENV-Serotyp 1 (DENV-1)
- Roche-Sekundärstandard für DENV-Serotyp 2 (DENV-2)
- Roche-Sekundärstandard für DENV-Serotyp 3 (DENV-3)
- Roche-Sekundärstandard für DENV-Serotyp 4 (DENV-4)
- Roche-Sekundärstandard für den CHIKV-Genotyp Asian (CHIKV-Asian)
- Roche-Sekundärstandard für den CHIKV-Genotyp East Central and South African (CHIKV-ECSA)
- Armored-RNA für den CHIKV-Genotyp West African (CHIKV-WA)

Bei den Roche DENV-Sekundärstandards handelt es sich um Überstände von hitzeinaktivierten Viruskulturen und die Titer sind auf das 1. internationale Referenz-Panel der Dengue-Virustypen 1 bis 4 (DENV-1 BB, DENV-2 AA, DENV-3 CC und DENV-4 BB) für Nukleinsäure-Amplifikationsverfahren rückführbar.

Für das CHIKV sind derzeit keine internationalen Standards erhältlich. Die CHIKV Roche-Standards (CHIKV-Asian, CHIKV-ECSA), die Überstände der hitzeinaktivierten Viruskulturen und die Armored-RNA (CHIKV-WA) sind auf das CBER CHIKV-RNA-Referenzreagenz (CHIKV-RR) rückführbar.³⁴

Für die Roche-Sekundärstandards für DENV-1 und CHIKV-Asian wurden unter Verwendung von normalem, virusnegativem (CHIKV und DENV) EDTA-Humanplasma 3 unabhängige koformulierte Verdünnungsreihen beider Virusstandards hergestellt. Jede Verdünnungsreihe wurde mit drei verschiedenen Chargen von cobas® CHIKV/DENV-Testkits mit ca. 63 Replikaten pro Charge getestet (insgesamt ca. 189 Replikate pro Konzentration).

Für die Roche-Sekundärstandards für DENV-2, DENV-3, DENV-4, CHIKV-ECSA und die Armored-RNA für CHIKV-WA wurden unter Verwendung von normalem, virusnegativem (CHIKV und DENV) EDTA-Humanplasma 3 unabhängige Reihen jedes Virusstandards hergestellt. Die einen wurden mit DENV-2 und CHIKV-ECSA koformuliert und die anderen waren individuelle Formulierungen von DENV-3, DENV-4 und CHIKV-WA. Jede Verdünnungsreihe wurde mit 3 verschiedenen Chargen von cobas® CHIKV/DENV-Testkits mit ca. 42 Replikaten pro Charge getestet (insgesamt ca. 126 Replikate pro Konzentration).

Für jedes Virus wurde eine PROBIT-Analyse der kombinierten Daten aller Verdünnungsreihen und Reagenzchargen durchgeführt, um die Nachweisgrenze sowie die Unter- und Obergrenze des 95%-Konfidenzintervalls zu bestimmen (Tabelle 11). Die in den Studien zur Nachweisgrenze beobachteten Reaktivitätsraten für jedes Virus sind in Tabelle 12 bis Tabelle 18 zusammengefasst.

Tabelle 11 Ergebnisse der PROBIT-Analyse zur Bestimmung der Nachweisgrenze unter Verwendung von Virusstandards in EDTA-Plasma

Analyt	Maßeinheit	Nachweisgrenze	Untere 95%-Konfidenzgrenze	Obere 95%-Konfidenzgrenze
DENV-1	IE/ml	0,6	0,5	0,8
DENV-2	IE/ml	1,0	0,8	1,3
DENV-3	IE/ml	1,0	0,9	1,3
DENV-4	IE/ml	0,4	0,3	0,5
CHIKV Asian	NE*/ml	6,8	5,9	8,1
CHIKV ECSA	NE*/ml	9,3	7,9	11,5
CHIKV WA	NE*/ml	7,1	6,1	8,7

* Nachweisbare Einheiten

Tabelle 12 Zusammenfassung der Reaktivitätsraten für DENV-1 in EDTA-Plasma

DENV-RNA-Konzentration (IE/ml)	Anzahl der reaktiven Proben	Anzahl der gültigen Replikate	% reaktiv	Untere 95 %-Bereichsgrenze (einseitig)
1,69	189	189	100,0 %	98,4 %
0,85	187	189	98,9 %	96,7 %
0,42	163	189	86,2 %	81,4 %
0,21	119	189	63,0 %	56,7 %
0,11	81	189	42,9 %	36,7 %

Tabelle 13 Zusammenfassung der Reaktivitätsraten für DENV-2 in EDTA-Plasma

DENV-RNA-Konzentration (IE/ml)	Anzahl der reaktiven Proben	Anzahl der gültigen Replikate	% reaktiv	Untere 95 %-Bereichsgrenze (einseitig)
3,49	126	126	100,0 %	97,7 %
1,75	125	126	99,2 %	96,3 %
0,87	116	126	92,8 %	87,8 %
0,44	92	126	73,0 %	65,7 %
0,22	60	126	47,6 %	40,0 %

Tabelle 14 Zusammenfassung der Reaktivitätsraten für DENV-3 in EDTA-Plasma

DENV-RNA-Konzentration (IE/ml)	Anzahl der reaktiven Proben	Anzahl der gültigen Replikate	% reaktiv	Untere 95 %- Bereichsgrenze (einseitig)
1,40	126	126	100,00 %	97,7 %
0,70	106	126	84,1 %	77,8 %
0,35	85	124	68,5 %	61,0 %
0,17	48	125	38,4 %	31,1 %
0,09	21	125	16,8 %	11,5 %

Tabelle 15 Zusammenfassung der Reaktivitätsraten für DENV-4 in EDTA-Plasma

DENV-RNA-Konzentration (IE/ml)	Anzahl der reaktiven Proben	Anzahl der gültigen Replikate	% reaktiv	Untere 95 %- Bereichsgrenze (einseitig)
2,40	126	126	100,0 %	97,7 %
1,20	126	126	100,0 %	97,7 %
0,60	124	126	98,4 %	95,1 %
0,30	116	126	92,1 %	86,9 %
0,15	90	126	71,4 %	64,1 %

Tabelle 16 Zusammenfassung der Reaktivitätsraten für CHIKV-Asian in EDTA-Plasma

CHIKV-RNA-Konzentration (NE/ml)	Anzahl der reaktiven Proben	Anzahl der gültigen Replikate	% reaktiv	Untere 95 %- Bereichsgrenze (einseitig)
16,0	189	189	100,0 %	98,4 %
8,0	188	189	99,5 %	97,5 %
4,0	150	189	79,4 %	73,9 %
2,0	94	189	49,7 %	43,5 %
1,0	50	189	26,5 %	21,2 %

Tabelle 17 Zusammenfassung der Reaktivitätsraten für CHIKV-ECSA in EDTA-Plasma

CHIKV-RNA-Konzentration (NE/ml)	Anzahl der reaktiven Proben	Anzahl der gültigen Replikate	% reaktiv	Untere 95 %-Bereichsgrenze (einseitig)
16,0	126	126	100,0 %	97,7 %
8,0	119	126	94,4 %	89,8 %
4,0	80	125	64,0 %	56,3 %
2,0	45	126	35,7 %	28,6 %
1,0	16	126	12,7 %	8,1 %

Tabelle 18 Zusammenfassung der Reaktivitätsraten für CHIKV-WA in EDTA-Plasma

CHIKV-RNA-Konzentration (NE/ml)	Anzahl der reaktiven Proben	Anzahl der gültigen Replikate	% reaktiv	Untere 95 %-Bereichsgrenze (einseitig)
16,0	126	126	100,0 %	97,7 %
8,0	122	126	96,8 %	92,9 %
4,0	100	126	79,4 %	72,5 %
2,0	54	126	42,9 %	35,4 %
1,0	19	126	15,1 %	10,1 %

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit von cobas® CHIKV/DENV auf den cobas® 6800/8800 Systems wurde unter Verwendung der folgenden Standards bestimmt:

- Roche-Sekundärstandard für DENV-Serotyp 1 (DENV-1)
- Roche-Sekundärstandard für den CHIKV-Genotyp Asian (CHIKV-Asian)

Im Rahmen dieser Studie wurden für jedes Virus 3 Panels von koformulierten CHIKV- und DENV-Proben in Konzentrationen von ungefähr der 0,5fachen, 1fachen und 2fachen Nachweisgrenze des cobas® CHIKV/DENV-Tests getestet. Die Tests wurden für die folgenden Variabilitätskomponenten durchgeführt:

- Tag-zu-Tag-Variabilität über 3 Tage
- Charge-zu-Charge-Variabilität unter Verwendung von 3 verschiedenen Reagenzchargen des cobas® CHIKV/DENV-Tests
- Gerät-zu-Gerät-Variabilität unter Verwendung von 3 verschiedenen cobas® 8800 Systems

Jedes der 3 Panels wurde mit ca. 21 Replikaten getestet (insgesamt 63 Replikate pro Reagenzcharge). Alle gültigen Daten zur Reproduzierbarkeit wurden evaluiert, indem der Prozentsatz der reaktiven Testergebnisse für jede Konzentrationsstufe über alle variablen Komponenten berechnet wurde.

Die Grenzen der zweiseitigen 95-%-Konfidenzintervalle für jede Reaktivitätsrate wurden für jede der drei Konzentrationen von CHIKV und DENV berechnet, die an 3 Tagen mit 3 Reagenzchargen und auf 3 cobas® 8800 Systems getestet wurden. Der cobas® CHIKV/DENV-Test ist über mehrere Tage, Reagenzchargen und Instrumente hinweg reproduzierbar. Die Ergebnisse der Charge-zu-Charge-Variabilität sind in Tabelle 19 zusammengefasst.

Tabelle 19 Zusammenfassung der Charge-zu-Charge-Reproduzierbarkeit für den cobas® CHIKV/DENV-Test

Analyt	Konzentration	Reagenzcharge	% reaktiv (reaktive/gültige Replikate)	Untergrenze des 95-%-Konfidenzintervalls	Obergrenze des 95-%-Konfidenzintervalls
DENV-1	2 x LoD	1	100 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	100 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
	1 x LoD	1	100 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	96,8 % (61/63)	89,0 %	99,6 %
	0,5 x LoD	1	92,1 % (58/63)	82,4 %	97,4 %
		2	84,1 % (53/63)	72,7 %	92,1 %
		3	82,5 % (52/63)	70,9 %	90,9 %
CHIKV-Asian	2 x LoD	1	100 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	100 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
	1 x LoD	1	100 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	98,4 % (62/63)	91,5 %	100,0 %
	0,5 x LoD	1	77,8 % (49/63)	65,5 %	87,3 %
		2	87,3 % (55/63)	76,5 %	94,4 %
		3	73,0 % (46/63)	60,3 %	83,4 %

Genotypverifizierung

Die Leistung von cobas® CHIKV/DENV bei der Detektion aller 4 DENV-Serotypen und aller 3 CHIKV-Genotypen wurde bestimmt. Dazu wurden insgesamt 43 verschiedene klinische Proben, 2 Kulturisolate und 1 Armored-RNA-Probe (aRNA) mit bekannten Serotypen/Genotypen getestet. Alle 43 klinischen Proben wurden unverdünnt und nach Verdünnung mit normalem, virusnegativem (CHIKV und DENV) EDTA-Humanplasma auf das 4fache der Nachweisgrenze des cobas® CHIKV/DENV-Tests getestet.

Alle klinischen Proben und Kulturisolate wurden unverdünnt und nach Verdünnung auf die 4fache Nachweisgrenze detektiert (Tabelle 20).

Tabelle 20 Klinische Proben, Kulturisolate und Armored-RNA für CHIKV/DENV

Zielsequenz	Genotyp/Serotyp	Proben	% reaktiv (reaktiv/getestete Proben) unverdünnt	% reaktiv (reaktiv/getestete Proben) verdünnt auf das 4fache der Nachweisgrenze
CHIKV	Asian	10 klinische Proben	100 % (10/10)	100 % (10/10)
	ECSA	1 Kulturisolat	100 % (1/1)	100 % (1/1)
	West African	1 aRNA	100 % (1/1)	100 % (1/1)
DENV	1	10 klinische Proben	100 % (10/10)	100 % (10/10)
	2	10 klinische Proben	100 % (10/10)	100 % (10/10)
	3	3 klinische Proben, 1 Kulturisolat	100 % (4/4)	100 % (4/4)
	4	10 klinische Proben	100 % (10/10)	100 % (10/10)

Analytische Spezifität

Zur Ermittlung der analytischen Spezifität von cobas® CHIKV/DENV wurde die Kreuzreaktivität mit 31 Mikroorganismen in einer Menge von 10^5 – 10^6 Kopien, Genomäquivalenten, IE oder CFU/ml untersucht; dazu gehörten 24 Virusisolate, sechs Bakterienstämme und ein Hefeisolat (Tabelle 21). Die Mikroorganismen wurden normalem, virusnegativem (CHIKV und DENV) EDTA-Humanplasma zugesetzt und mit und ohne Zugabe von CHIKV und DENV (koformuliert) auf eine Konzentration von ungefähr der 3fachen Nachweisgrenze des cobas® CHIKV/DENV-Tests getestet. Die getesteten Mikroorganismen zeigen keine Kreuzreaktivität mit cobas® CHIKV/DENV und stören den Test nicht.

Tabelle 21 Zur Bestimmung der analytischen Spezifität getestete Mikroorganismen

Viren	Flaviviren	Bakterien	Hefen
Adenovirus Typ 5	Japanisches Enzephalitis-Virus	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalievirus	Murray-Valley-Enzephalitis-Virus	<i>Propionibacterium acnes</i>	
Epstein-Barr-Virus	St.-Louis-Enzephalitis-Virus	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Hepatitis-A-Virus	Usutu-Virus	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
Hepatitis-B-Virus	West-Nil-Virus	<i>Streptococcus viridans</i>	
Hepatitis-C-Virus	Gelbfiebertivirus	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
Hepatitis-E-Virus	Zika-Virus		
Hepatitis-G-Virus			
Herpes-simplex-Virus Typ 1			
Herpes-simplex-Virus Typ 2			
Humanes Immundefizienz-Virus (HIV-1 Gruppe M)			
Humanes Immundefizienz-Virus (HIV-2)			
Humanes T-Zell-lymphotropes Virus Typ I			
Humanes T-Zell-lymphotropes Virus Typ II			
Humanes Herpesvirus 6 A			
Influenza-Virus A			
Varicella-Zoster-Virus			

Die Plasmaproben jeder genannten Erkrankung (Tabelle 22) wurden mit und ohne Zugabe von CHIKV und DENV (koformuliert) auf eine Konzentration von ungefähr der 3fachen Nachweisgrenze des **cobas**® CHIKV/DENV-Tests für jedes Virus getestet. Die getesteten Erkrankungen zeigen keine Kreuzreaktivität mit dem **cobas**® CHIKV/DENV-Test und stören den Test nicht.

Tabelle 22 Zur Bestimmung der analytischen Spezifität getestete Erkrankungen

Erkrankung		
Adenovirus Typ 5	Hepatitis-C-Virus	Humanes T-Zell-lymphotropes Virus Typ I
Cytomegalievirus	Hepatitis-E-Virus	Humanes T-Zell-lymphotropes Virus Typ II
Epstein-Barr-Virus	Herpes-simplex-Virus Typ 1	Parvovirus B19
Hepatitis-A-Virus	Herpes-simplex-Virus Typ 2	West-Nil-Virus
Hepatitis-B-Virus	Humanes Immundefizienz-Virus (HIV-1) Gruppe M	

Analytische Spezifität – Störsubstanzen

Endogene Störsubstanzen

Plasmaproben mit abnormal hohen Konzentrationen von Triglyceriden (bis 33,0 g/l), Hämoglobin (bis 2,0 g/l), unkonjugiertem Bilirubin (bis 0,20 g/l), Albumin (bis 60,0 g/l) oder Human-DNA (bis 0,002 g/l) wurden mit und ohne Zugabe von CHIKV und DENV (koformuliert) auf eine Konzentration der 3fachen Nachweisgrenze des **cobas**® CHIKV/DENV-Tests getestet. Diese endogenen Substanzen wirkten sich nicht störend auf die Sensitivität oder Spezifität von **cobas**® CHIKV/DENV aus.

Exogene Störsubstanzen

Normale, virusnegative (CHIKV und DENV) EDTA-Humanplasmaproben mit abnormal hohen Medikamentenkonzentrationen (Tabelle 23) wurden mit und ohne Zugabe von CHIKV und DENV (koformuliert) auf eine Konzentration der 3fachen Nachweisgrenze des **cobas**® CHIKV/DENV-Tests für jedes Virus getestet. Diese exogenen Substanzen wirkten sich nicht störend auf die Sensitivität oder Spezifität von **cobas**® CHIKV/DENV aus.

Tabelle 23 Konzentrationen von Medikamenten, die EDTA-Plasma zugesetzt wurden

Medikament	Konzentration
Acetaminophen	1337 µmol/l
Acetylsalicylsäure	3657 µmol/l
Ascorbinsäure	346 µmol/l
Atorvastatin	606 µg-Äq./l
Fluoxetin	11,3 µmol/l
Ibuprofen	2450 µmol/l
Loratadin	0,8 µmol/l
Nadolol	3,9 µmol/l
Naproxen	2192 µmol/l
Paroxetin	3,1 µmol/l
Phenylephrin-HCl	496 µmol/l
Sertralin	2,0 µmol/l

Korrelation

Leistungsbewertung des cobas® CHIKV/DENV-Tests im Vergleich zum RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 Test und RealStar® Dengue RT-PCR Kit 2.0 Test

Die Leistung von cobas® CHIKV/DENV wurde unter Verwendung von 100 CHIKV-NAT-positiven Proben, 100 DENV-NAT-positiven Proben und 100 CHIKV- und DENV-negativen Proben mit dem RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 Test und dem RealStar® Dengue RT-PCR Kit 2.0 Test (Altona Diagnostics) verglichen.

Die negativen Proben wurden unverdünnt mit dem cobas® CHIKV/DENV-Test, dem RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 Test und dem RealStar® Dengue RT-PCR Kit 2.0 Test getestet und die positiven Proben wurden ebenfalls unverdünnt mit dem cobas® CHIKV/DENV-Test und dem entsprechenden RealStar® Test getestet.

Die seronegativen Proben zeigten eine Spezifität von 100 %, da mit allen drei Verfahren alle 100 Ergebnisse nicht reaktiv waren.

Der cobas® CHIKV/DENV-Test zeigte bei positiven Proben eine höhere Sensitivität für CHIKV und DENV als der RealStar® Chikungunya RT-PCR Kit 2.0 Test und der RealStar® Dengue RT-PCR Kit 2.0 Test. Auf der Grundlage des McNemar-Tests gab es keine Übereinstimmung zwischen den Methoden (Tabelle 24).

Tabelle 24 Korrelation der positiven Proben (unverdünnt)

Verfahren		Ergebnisse der verschiedenen Viruszielsequenzen	
RealStar® CHIKV RT-PCR Kit 2.0 Test RealStar® DENV RT-PCR Kit 2.0 Test	cobas® CHIKV/DENV	CHIKV	DENV
Nicht reaktiv	Nicht reaktiv	1	0
Reaktiv	Nicht reaktiv	0	0
Nicht reaktiv	Reaktiv	14	19
Reaktiv	Reaktiv	85	81
Gesamt		100	100
McNemar-Test, p-Wert (zweiseitig, $\alpha = 0,05$)		0,0001	0,0000

Gesamtsystemausfall

Zur Ermittlung der Gesamtsystemausfall-Rate von cobas® CHIKV/DENV wurden 100 Replikate von EDTA-Plasma getestet, das mit CHIKV und DENV (koformuliert) versetzt wurde. Diese Proben wurden mit einer Zielsequenzkonzentration von ca. der 3fachen Nachweisgrenze und in 1er-Pools (unverdünnt) getestet. Die Studie wurde unter Verwendung des cobas® 6800 Systems in Kombination mit dem cobas p 680 instrument (Pipettierung und Pooling) durchgeführt.

Die Studie ergab, dass alle Replikate reaktiv auf die einzelnen Zielsequenzen waren, was einer Gesamtsystemausfall-Rate von 0 % entspricht. Das exakte zweiseitige 95%-Konfidenzintervall betrug 0 % für die Untergrenze und 3,62 % für die Obergrenze [0 %: 3,62 %].

Weitere Informationen

Wichtigste Leistungsmerkmale des Tests

Probenmaterial	Plasma
Erforderliche Probenmindestmenge	1000 µl
Bearbeitete Probenmenge	850 µl
Testdauer	Die Ergebnisse liegen weniger als 3,5 Stunden nach dem Laden der Proben in das System vor.

Symbole

Die folgenden Symbole werden bei der Kennzeichnung von Roche PCR-Diagnostikprodukten verwendet.

Tabelle 25 Symbole zur Kennzeichnung von Roche PCR-Diagnostikprodukten

	Zusatz-Software		<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft		Unterer Grenzwert des Sollbereichs
	Barcode-Datenblatt		Hersteller
	Chargenbezeichnung		Im Dunkeln aufbewahren
	Biogefährdung		Ausreichend für $\langle n \rangle$ Tests
	Bestellnummer		Temperaturbegrenzung
	Gebrauchsanweisung beachten		Testdefinitionsdatei
	Inhalt der Packung		Oberer Grenzwert des Sollbereichs
	Distributed by		Verwendbar bis
	Nur zur Beurteilung der IVD-Leistung		Globale Artikelnummer GTIN
	Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der Europäischen Richtlinie 98/79/EG über <i>In-vitro</i> -Diagnostika.	Rx Only	Nur für die USA: In den USA darf dieser Test nach den gesetzlichen Vorschriften nur durch einen Arzt oder auf ärztliche Verschreibung abgegeben werden.

Technischer Kundendienst in den USA: 1-800-526-1247

Herstellung und Vertrieb

Tabelle 26 Herstellung und Vertrieb

Hergestellt in den USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany
www.roche.com



Roche Diagnostics (Schweiz) AG
Industriestrasse 7
6343 Rotkreuz, Switzerland

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics, SL
Avda. Generalitat, 171-173
E-08174 Sant Cugat del Vallès
Barcelona, Spain

Roche Diagnostica Brasil Ltda.
Av. Engenheiro Billings, 1729
Jaguará, Building 10
05321-010 São Paulo, SP Brazil

Roche Diagnostics
201, boulevard Armand-Frappier
H7V 4A2 Laval, Québec, Canada
(For Technical Assistance call:
Pour toute assistance technique,
appeler le: 1-877 273-3433)

Roche Diagnostics
2, Avenue du Vercors
38240 Meylan, France

Distributore in Italia:
Roche Diagnostics S.p.A.
Viale G. B. Stucchi 110
20052 Monza, Milano, Italy

Distribuidor em Portugal:
Roche Sistemas de Diagnósticos Lda.
Estrada Nacional, 249-1
2720-413 Amadora, Portugal

Marken und Patente

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

Copyright

©2018 Roche Molecular Systems, Inc.



Literatur

1. Kuno G, Chang GJ, Tsuchiya KR, Karabatsos N, Cropp CB. Phylogeny of the genus *Flavivirus*. *J Virol* 1998;72:73-83.
2. Stramer SL. Current perspectives on transfusion-transmitted infectious disease: emerging and re-emerging infections. *ISBT Sci Ser* 2014;9:30-36.
3. Petersen LR, Busch MP. Transfusion-transmitted arboviruses. *Vox Sang* 2010;98:495-503.
4. Petersen LR, Tomashek KM, Biggerstaff BJ. Estimated prevalence of dengue viremia in Puerto Rican blood donors, 1995 through 2010. *Transfusion* 2012;52:1647-1651.
5. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, et al. The global distribution and burden of dengue. *Nature* 2013;496:504-507.
6. Stramer SL, Linnen CM, Carrick JM, et al. Dengue viremia in blood donors identified by RNA and detection of dengue transfusion transmission during the 2007 dengue outbreak in Puerto Rico. *Transfusion* 2012;52:1657-1666.
7. Gan VC, Leo YS. Current epidemiology and clinical practice in arboviral infections - implications on blood supply in South-East Asia. *ISBT Sci Ser* 2014 Jul;9:262-267.
8. ProMed. Dengue virus transmission—China (HK), Archive number 20221011.5526. October 10, 2002. <http://www.promedmail.org> (accessed July 14, 2017).
9. AABB. Dengue viruses. www.aabb.org/tm/eid/Documents/dengue-viruses.pdf (updated February 2014; accessed July 14, 2017).
10. Tambyah PA, Koay ESC, Poon ML, Lin RV, Ong BK; Transfusion-Transmitted Dengue Infection Study Group. Dengue hemorrhagic fever transmitted by blood transfusion. *N Engl J Med* 2008;359:1526-1527.
11. Sabino EC, Loureiro P, Lopes ME, et al. Transfusion-transmitted dengue and associated clinical symptoms during the 2012 epidemic in Brazil. *J Infect Dis* 2016;213:694-702.
12. Levi JE. Dengue virus and blood transfusion. *J Infect Dis* 2016;213:689-690.
13. Stramer SL, Hollinger FB, Katz LM, et al. Emerging infectious disease agents and their potential threat to transfusion safety. *Transfusion* 2009;49:1S-29S.
14. Burt FJ, Chen W, Miner JJ, et al. Chikungunya virus: an update on the biology and pathogenesis of this emerging pathogen. *Lancet Infect Dis* 2017;17:e107-e117.
15. World Health Organization (WHO). Chikungunya fact sheet. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/en/ (updated April 2017; accessed July 14, 2017).
16. Brouard C, Bernillon P, Quatresous I, et al. Estimated risk of Chikungunya viremic blood donation during an epidemic on Reunion Island in the Indian Ocean, 2005 to 2007. *Transfusion* 2008;48:1333-1341.
17. Schuffenecker I, Iteman I, Michault A, et al. Genome microevolution of chikungunya virus causing Indian Ocean outbreak. *PloS Med* 2006;3:e263.
18. Liunbruno GM, Calteri D, Petropulacos K, et al. The chikungunya epidemic in Italy and its repercussions on the blood system. *Blood Transfus* 2008;6:199-210.
19. Zeller H, Bortel Van W, Sudre B. Chikungunya: its history in Africa and Asia and its spread to new regions in 2013-2014. *J Infect Dis* 2016;214(suppl 5):S436-S440.

20. Roiz D, Boussès P, Simard F, Paupy C, Fontenille D. Autochthonous chikungunya transmission and extreme climate events in Southern France. *PLoS Negl Trop Dis* 2015;9:e0003854.
21. Johansson MA, Powers AM, Pesik N, Cohen NJ, Staples JE. Nowcasting the spread of chikungunya virus in the Americas. *PLoS One* 2014;9:e104915.
22. Pan American Health Organization (PAHO). Number of reported cases of chikungunya fever in the America, by country or territory, 2017 (as of June 2, 2017). www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=rdmore&cid=8975&itemid=40931&lang=en (accessed June 5, 2017).
23. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Chikungunya virus in the United States, 2014 final data for the United States. <http://www.cdc.gov/chikungunya/geo/united-states-2014.html> (last updated October 30, 2015; last accessed July 20, 2017)
24. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Chikungunya virus in the United States, 2015 final data for the United States. <http://www.cdc.gov/chikungunya/geo/united-states-2015.html> (last updated June 23, 2016; last accessed July 20, 2017)
25. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Chikungunya virus, 2016 provisional data for the United States. www.cdc.gov/chikungunya/geo/united-states-2016.html (last updated January 18, 2017; accessed June 5, 2017)
26. Rocha V. Virus-transmitting yellow fever mosquitoes discovered in L.A. County. *Los Angeles Times*, October 15, 2014. <http://www.latimes.com/local/lanow/la-me-ln-yellow-fever-mosquito-los-angeles-20141015-story.html>.
27. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene* 1990;93:125-128.
28. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature* 1995;373:487-493.
29. 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;80:869-878.
30. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY)* 1992;10:413-417.
31. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real-time quantitative PCR. *Genome Res* 1996;9:86-994.
32. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. US 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.
33. 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.
34. Añez G, Jiang Z, Heisey DA, Kerby S, Rios M, Chikungunya virus Collaborative Study Group. Collaborative study for the characterization of a chikungunya virus RNA reference reagent for use in nucleic acid testing. *Vox Sang* 2015;109: 312-318.

Dokumentversion

Dokumentversionsübersicht	
Doc Rev. 2.0 10/2018	<p>Die Beschreibung der für das Humanplasma-Screening verwendeten Screeningtests in Tabelle 2, Tabelle 3 und im Abschnitt Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen wurde aktualisiert.</p> <p>Die Gefahrenhinweise wurden aktualisiert.</p> <p>Die Symbolbezeichnungen wurden im Zuge der Harmonisierung aktualisiert und das „Rx Only“-Symbol wurde hinzugefügt.</p> <p>Bei Fragen wenden Sie sich bitte an Ihre Roche-Vertretung vor Ort.</p>