

cobas[®] EBV

Kvantitatiivne nukleiinhappe test kasutamiseks süsteemiga cobas[®] 5800/6800/8800

Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas

cobas[®] EBV

P/N: 09040943190

Kasutamiseks süsteemiga cobas[®] 5800

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

Kasutamiseks süsteemides cobas[®] 6800/8800

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 08688214190 või

P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190 või

P/N: 09051953190

Sisukord

Sihtotstarve	4
Testi kokkuvõte ja selgitus	4
Reaktiivid ja materjalid	7
Reaktiivid ja kontrollid cobas® EBV	7
Reaktiivid cobas omni proovi ettevalmistamiseks	10
Reaktiivi säilitamise nõuded	11
Reaktiivi käitlemise nõuded süsteemi cobas® 5800 puhul	11
Reaktiivi käitlemise nõuded süsteemi cobas® 6800/8800 puhul.....	12
Süsteemi cobas® 5800 puhul vajalikud lisamaterjalid.....	13
Süsteemi cobas® 6800/8800 jaoks vajalikud lisamaterjalid	13
Vajalikud seadmed ja tarkvara.....	14
Ettevaatusabinõud ja käitlemise nõuded.....	15
Hoiatused ja ettevaatusabinõud	15
Reaktiivide käitlemine	15
Hea laboritava.....	16
Proovide võtmine, transport ja säilitamine	16
Proovid	16
Kasutusjuhised	17
Märkused protseduuride kohta	17
Testi cobas® EBV läbiviimine süsteemiga cobas® 5800	18
Testi cobas® EBV läbiviimine süsteemiga cobas® 6800/8800	19
Tulemused	20
Kvaliteedikontroll ja tulemuste kehtivus süsteemil cobas® 5800	20
Kontrolli tulemused süsteemil cobas® 5800	20
Kvaliteedikontroll ja tulemuste kehtivus süsteemil cobas® 6800/8800	20

Tulemuste tõlgendamine.....	21
Tulemuste tõlgendamine süsteemil cobas ® 5800.....	22
Tulemuste tõlgendamine süsteemil cobas ® 6800/8800.....	22
Meetodi piirangud.....	22
Mittekliinilise toimivuse hindamine.....	23
Olulisemad toimivusnäitajad süsteemil cobas ® 6800/8800.....	23
Tuvastuspiir (LoD).....	23
Lineaarsusvahemik	24
Laborisisene täpsus	25
Genotüüpide kontrollimine	26
Spetsiifilisus	26
Analüütiline spetsiifilisus.....	27
Analüütiline spetsiifilisus – häirivad ained	27
Korrelatsioon eri meetodite tulemuste vahel	28
Süsteemi veaprotsent.....	29
Ristsaastumine	29
Kliinilise toimivuse hindamine süsteemil cobas® 6800/8800	29
Testi cobas ® EBV reprodutseeritavus.....	29
Testi cobas ® EBV toimivus	30
Süsteemi ekvivalentsus / süsteemi võrdlus	33
Lisateave	34
Testi olulisemad omadused.....	34
Sümbolid.....	35
Tehniline tugi.....	36
Tootja ja importija.....	36
Kaubamärgid ja patendid	36
Autoriõigus	36
Viited.....	37
Dokumendi redaktsioon.....	38

Sihtotstarve

cobas® EBV on *in vitro* nukleiinhappe amplifikatsiooni test süsteemidel **cobas® 5800/6800/8800** Epstein-Barri viiruse (EBV) DNA kvantifitseerimiseks inimese EDTA-plasmast.

Test **cobas® EBV** ette nähtud kasutamiseks abivahendina siiratud elundiga patsientidel EBV diagnoosimisel ja käsitlemisel. Patsientidel, kellel jälgitakse EBV-d, saab ravi muutmise vajaduse ja viroloogilise ravivastuse hindamiseks kasutada DNA mõõteseriad.

Testi **cobas® EBV** tulemusi tuleb tõlgendada kõikide oluliste kliiniliste ja laboratoorsete leidude kontekstis.

Testi kokkuvõte ja selgitus

Taust

Võrreldes üldise terve populatsiooniga on siiratud elundiga patsientidel suurem risk haigestuda paljudesse viiruslikesse ja bakteriaalsetesse nakkushaigustesse, mis põhjustavad suurema tõenäosusega raskekujulisi tervisehädaid. See suurem risk on osalt omistatav nõrgenenud immuunsüsteemile, mida põhjustavad siiratud elundiga patsientidele antavad immuunsupressiivsed ravimid, millega soovitakse vähendada äratõukereaktsiooni tõenäosust.^{1,2}

EBV kuulub herpesviiruste perekonda. See on kaheaheelaline ümbrisega desoksüribonukleiinhappe (DNA) viirus (~172 kb). EBNA-2 geenis leiduvate erinevuste põhjal on defineeritud kaks peamist EBV genotüüpi: tüüp 1 ja tüüp 2. Inimestel esineb EBV infektsioone üsna sageli – nakatunud on rohkem kui 90% täiskasvanutest ning infektsioon püsib latentsena kogu eluaja. EBV põhjustab värskest nakatunud noorte ja täiskasvanute alamrühmas infektsiooset mononukleoosi ja seda seostatakse mitut tüüpi vähiga, sh nasofarüngeaalse kartsinoomiga, Burkitti lümfoomiga ja Hodgkini lümfoomiga. EBV võib olla lümfoproliferatiivsete häirete põhjustajaks kaasasündinud või omandatud immuunpuudulikkusega, sh siiratud elundiga patsientidel, ja inimese immuunpuudulikkusega viiruse / omandatud immuunpuudulikkuse sündroomiga (HIV/AIDS) patsientidel.³

Siiratud elundiga patsientidel võib EBV põhjustada haigust kas B-mälurakkudesse peidetud viiruse taasaktiveerimisega või uue esmase infektsiooniga, seda eriti EBV-negatiivse siiratud elundiga patsientidel, kelle siirikud pärinesid EBV-positiivsetelt doonoritelt.³ Nendel patsientidel on EBV-ga seotud haiguste kõige raskekujulisem vorm siirdamisjärgne lümfoproliferatiivne häire (PTLD), mida põhjustab lümfootsüütide (tavaliselt B-rakud) kontrollimatu kasv.⁴ Üldiselt on > 70% PTLD juhtumitest siiratud elundiga patsientide seas seotud EBV infektsiooniga. PTLD kõrgeim risk on esimese aasta jooksul pärast siirdamist ning > 90% PTLD juhtumitest, mis sellel perioodil esinevad, on seotud EBV-ga. EBV suhtes on negatiivsed kuni 20% PTLD juhtumitest, mis esinevad esimese aasta jooksul pärast siirdamist.^{4,5}

Varase avaldumisega PTLD riskitegurite hulka kuuluvad EBV-negatiivse siiratud elundiga patsiendi seroloogilised näitajad siirdamise ajal, noorus, kokkupuude lümfootsüütide arvu kahandavate antikehadega ja siirdatud organi tüüp.^{5,6}

Primaarsete EBV infektsioonide varane avastamine ja DNA taseme jälgimine võib toetada kiiret ravisekkumist, et ennetada EBV-ga seotud haiguse süvenemist. Suunised soovitavad EBV-d jälgida regulaarselt kvantitatiivsete nukleiinhappe testidega (NAT-id), seda eriti riskigrupis siiratud elundiga patsientidel, kes on EBV-negatiivsed.^{4,5} Kuigi meditsiiniliselt oluline viroloogiline lävi on endiselt analüüsides erinevuste tõttu arutelu teemaks, näib kriitilise läve mõiste kehtivat ning sellest on teatatud loomulikku kulgu käsitlevates uuringutes, mis on näidanud, et EBV DNA tasemed korreleeruvad EBV-haiguse ja PTLD tekke suurema riskiga.^{4,5,7} EBV testimiseks on kasutatud nii plasma kui ka täisvere proovitähte, kuid tõendid näitavad, et plasma on PTLD tuvastamiseks spetsiifilisem.^{4,5,7,8}

Levinud ravisekkumised EBV DNA tasemete vähendamiseks ja PTLD ilmnemise ennetamiseks on muuhulgas immuun-supressiivse ravimi annuse vähendamine ja ravi B-rakkude arvu kahandavate antikehadega.⁷ Enamikel patsientidel on ennetav ravi, millega vähendatakse EBV DNA tasemeid, edukas, kuigi kuni 20%-l patsientidest võib ikkagi tekkida PTLD, eriti nendel, kellel on siirdamisest möödunud rohkem kui aasta.⁷

Enamik EBV-d kvantifitseerivad laborianalüüsid ei ole standardiseeritud, mis on kaasa toonud erinevusi laborite ja analüüsides DNA tasemete tulemustes, ning ei võimalda võrrelda erinevate laborite ja analüüsides saadud DNA tasemeid.⁷ Selle probleemi lahendamiseks on WHO loonud EBV kvantifitseerimise rahvusvahelise standardi, mis laseb standardiseeritud analüüsidel esitada tulemused ühikus IU/ml.⁹ EBV DNA tasemete reprodutseeritavuse ja kehtivuse formaalne hindamine on ülimalt oluline, et tagada erinevate laborite tulemuste järjepidevus, ja seeläbi parandada EBV-ga seotud haiguste ja PTLD suurema tekkeriskiga patsientide kliinilist käsitlust.

Põhjus NAT-testimiseks

Organidoonori ja organi saaja EBV seroloogilised näitajad määratakse enne siirdamist, et aidata hinnata organi saaja riski EBV-ga seotud tüsistuste tekkeks. Ent seroloogia ei ole piisavalt tundlik ega täpne selleks, et jälgida patsiente pärast siirdamist. EBV kultuure kasutavad meetodid on selles kontekstis liiga aeglased ja kehvade ennustusväärtustega. EBV DNA otsene tuvastamine reaallaja PCR-iga võimaldab pakkuda laia dünaamilist vahemikku ning suurt tundlikkust ja spetsiifilisust.

Testi selgitus

cobas® EBV on kvantitatiivne test, mida kasutatakse süsteemil **cobas® 5800/6800/8800**. Testi **cobas® EBV** abil on võimalik tuvastada ja kvantifitseerida EBV DNA-d nakatunud patsientide EDTA-plasmas. Viiruskoormust kvantifitseeritakse mitte-EBV DNA kvantitatsioonistandardiga (DNA-QS), mis sisestatakse proovitötluse etapis igasse proovi. DNA-QS-i saab ühtlasi kasutada kogu proovi ettevalmistamise ja PCR-amplifikatsiooni protsessi jälgimiseks. Lisaks kasutatakse testis kolme välist kontrolli: kõrge tiitriga positiivset, madala tiitriga positiivset ja negatiivset kontrolli. Kõrge tiitri positiivse ja madala tiitri positiivse väliskontrolli valmistamiseks lahjendatakse lähtematerjali, mille tiiter on jälgitav EBV WHO rahvusvahelise standardi järgi. Iga amplifitseerimis-/tuvastuskomplekti partii on kalibreeritud jälgitavaks EBV WHO rahvusvahelise standardi järgi.

Protseduuri põhimõtted

cobas® EBV põhineb täisautomaatsel proovi ettevalmistamisel (nukleiinhappe eraldamine ja puhastamine), millele järgneb PCR-amplifikatsioon ja tuvastamine. Süsteem **cobas® 5800** on kavandatud nii, et see koosneb ühest integreeritud seadmest. Süsteem **cobas® 6800/8800** koosneb proovi sisestusmoodulist, üleviimismoodulist, töötlusmoodulist ja analüüsimoodulist. Automaatne andmekäitlus tehakse süsteemi **cobas® 5800** või **cobas® 6800/8800** tarkvaraga, mis määrab kõigi testide katsetulemused järgmiselt: „Target not detected“ (sihtmärki ei tuvastatud), „EBV DNA detected < LLoQ (lower limit of quantitation)“ (tuvastati EBV DNA < LLoQ (alumine määramispiir)), „EBV DNA detected > ULoQ (upper limit of quantitation)“ (tuvastati EBV DNA > ULoQ (ülemine määramispiir)) või „Value in the linear range LLoQ < x < ULoQ“ (tuvastati väärtus, mis on lineaarsusvahemikus LLoQ < x < ULoQ). Tulemusi on võimalik vaadata otse süsteemi ekraanilt, eksportida või printida aruandena.

Patsientide proovidest eraldatakse üheaegselt nukleiinhapped ja lisatud lambda DNA-QS-molekulid. Kokkuvõtvalt, proovile lisatakse viiruse nukleiinhappe vabastamiseks proteinaas ja lüüsireaktiiv. Vabanenud nukleiinhape seondub lisatud magnetiliste klaasosakeste ränipinnale. Seondumata ained ja muud lisandid nagu denatureeritud valgud, rakusade

ja võimalikud PCR-inhibiitorid eraldatakse järgnevate pesuetappidega. Puhastatud nukleiinhape elueeritakse klaasosakestelt kõrgendatud temperatuuril elueerimispuhvriga.

Proovi sihtnukleiinhappe selektiivseks amplifikatsiooniks kasutatakse kahe sihtmärgiga viirusespetsiifilist lähenemist EBV kõrgelt konserveerunud piirkondades, mis asuvad EBV EBNA-1-geenis ja EBV BMRF-geenis. DNA-QS-i selektiivseks amplifitseerimiseks kasutatakse järjestusespetsiifilisi päri- ja äraspidiseid praimereid, mis on valitud selliselt, et neil puudub homoloogia EBV-genoomiga. Amplifikatsiooniks kasutatakse termostabiilset DNA polümeraasi. Sihtmärk- ja DNA-QS-i järjestused amplifitseeritakse samal ajal, kasutades kindlaksmääratud temperatuuridega etappide ja tsüklite arvuga universaalset PCR-amplifikatsiooni profiili. Põhisegu sisaldab deoksütümidinotriifosfaadi asemel (dTTP) deoksüuridinotriifosfaati (dUTP), mis lisatakse sünteesitavasse DNA-sse (amplikon).¹⁰⁻¹² Kõik eelmiste PCR-tsüklite kontamineerivad amplikonid eemaldatakse AmpErase-ensüümi abil, mis lisatakse PCR-segusse esimeses termotsükli etapis kuumutades. Uut sünteesitud amplikoni aga ei elimineerita, sest AmpErase-ensüüm inaktiveeritakse temperatuuri esmakordsel tõstmisel üle 55 °C.

cobas® EBV põhiseгу sisaldab kahte tuvastamissondi, mis on spetsiifilised EBV sihtmärkjärjestuste suhtes, ja ühte DNA-QS-i jaoks. Sondid on märgistatud sihtmärgispetsiifiliste fluorestseeruvate reportervärvidega, mille abil on võimalik samal ajal tuvastada EBV sihtmärki ja DNA-QS-i kahes erinevas sihtkanalis.^{13, 14} Kustutav värv pärsib terviklike sondide fluorestsentssignaali. PCR-amplifikatsiooni etapis toimub sondi hübridisatsioon üheahelalise DNA sihtmärkmolekulidele. Selle tulemusena lõikab DNA polümeraasi 5'-3' suunalise nukleasse aktiivsusega subühik teineteisest reporter- ja kustutusmolekuli lahti ning tekib fluorestseeruv signaal. Iga PCR-i tsükliga suureneb lahti lõigatud sondide hulk ja samaaegselt suureneb kumulatiivne reportervärvi signaal. PCR-i produktide reaajas tuvastamiseks ja eristamiseks mõõdetakse viirussihtmärkide ja DNA-QS-i vabanenud reportervärvide fluorestsentsi.

Reaktiivid ja materjalid

Reaktiivid ja kontrollid cobas® EBV

cobas® EBV komplektis olevaid materjale vt Tabel 1. Komplektis mittesisalduvaid vajalikke materjale vt Tabel 2 kuni Tabel 4 ja Tabel 8 kuni Tabel 9.

Toote ohuteavet vt jaotisest **Reaktiivid ja materjalid** ning jaotisest **Ettevaatusabinõud ja käitlemise nõuded**.

Tabel 1 cobas® EBV

cobas® EBV

Säilitada temperatuuril 2–8 °C

192 testi kassett (P/N 09040943190)

Komplekti osad	Reaktiivi koostisained	Kogus komplektis 192 testi
Proteinase Solution (PASE)	Tris-puhver, < 0,05% EDTA, kaltsiumkloriid, kaltsiumatsetaat, 8% proteinaas, glütserool EUH210: Ohutuskaart nõudmisel kättesaadav. EUH208: Sisaldab subtilisiini bakterist <i>Bacillus subtilis</i> . Võib kutsuda esile allergilise reaktsiooni.	22,3 ml
DNA Quantitation Standard (DNA QS)	Tris-puhver, < 0,05% EDTA, < 0,001% mitte-EBV DNA konstrukt, mis sisaldab EBV praimeriga mitteseonduvat ja unikaalset sondi piirkonda (mitteinfektsioosne DNA), < 0,002% Poly rA RNA (sünteesiline), < 0,1% naatriumasiid	21,2 ml
Elution Buffer (EB)	Tris-puhver, 0,2% metüül-4-hüdroksübensoaat	21,2 ml
Master Mix Reagent 1 (MMX-R1)	Mangaanatsetaat, kaaliumhüdroksiid, < 0,1% naatriumasiid	7,5 ml
EBV Master Mix Reagent 2 (EBV MMX-R2)	Tritsiinpuhver, kaaliumatsetaat, < 18% dimetüülsulfoksiid, glütserool, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP-d, < 0,01% üles- ja allavoolu EBV-praimerid, < 0,01% mõõtmisstandardi päri- ja äraspidised praimerid, < 0,01% fluorestseeruvalt märgistatud oligonukleotiidsandid, mis on spetsiifilised EBV ja EBV-mõõtmisstandardi suhtes, < 0,01% oligonukleotiidaptameer < 0,01% Z05D DNA polümeraas, < 0,10% AmpErase (uratsiil-N-glükosülaas) ensüüm (mikroobne), < 0,1% naatriumasiid	9,7 ml

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

Säilitada 2–8 °C

Kasutamiseks süsteemiga cobas® 5800 (P/N 09040951190)

Kasutamiseks süsteemides cobas® 6800/8800 (P/N 08688214190 ja P/N 09040951190)

Komplekti osad	Reaktiivi koostisained	Kogus komplektis	Ohutussümbol ja hoiatus*
EBV/BKV Low Positive Control (EBV/BKV L(+))C)	< 0,001% sünteetiline (plasmiid) EBV DNA, mis on kapseldatud Lambda bakteriofaagi kattevalku, normaalne inimese plasma, EBV DNA ei ole tuvastatav PCR-meetoditega 0,1% säilitusaine ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  HOIATUS H317: Võib põhjustada allergilist nahareaktsiooni. H412: Ohtlik veeorganismidele, pikaajaline toime. P261: Vältida tolmu/suitsu/gaasi/udu/auru/pihustatud aine sissehingamist. P273: Vältida sattumist keskkonda. P280: Kanda kaitsekindaid. P333 + P313: Nahaärrituse või lööbe korral: pöörduda arsti poole. P362 + P364: Võtta seljast saastunud rõivad ja pesta enne korduskasutust. P501: Sisu/mahuti tuleb toimetada volitatud jäätmekäitlusjaama. 55965-84-9 Reaktsioonisegu: 5-kloro-2-metüül-4-isotiasoliin-3-oon ja 2-metüül-2H-isotiasool-3-oon (3:1).
EBV/BKV High Positive Control (EBV/BKV H(+))C)	< 0,001% sünteetiline (plasmiid) EBV DNA, mis on kapseldatud Lambda bakteriofaagi kattevalku, normaalne inimese plasma, EBV DNA ei ole tuvastatav PCR-meetoditega 0,1% säilitusaine ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  HOIATUS H317: Võib põhjustada allergilist nahareaktsiooni. H412: Ohtlik veeorganismidele, pikaajaline toime. P261: Vältida tolmu/suitsu/gaasi/udu/auru/pihustatud aine sissehingamist. P273: Vältida sattumist keskkonda. P280: Kanda kaitsekindaid. P333 + P313: Nahaärrituse või lööbe korral: pöörduda arsti poole. P362 + P364: Võtta seljast saastunud rõivad ja pesta enne korduskasutust. P501: Sisu/mahuti tuleb toimetada volitatud jäätmekäitlusjaama. 55965-84-9 Reaktsioonisegu: 5-kloro-2-metüül-4-isotiasoliin-3-oon ja 2-metüül-2H-isotiasool-3-oon (3:1).

* Toote ohutusmärgised järgivad standardi EU GHS juhiseid.

** Ohtlik aine.

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

Säilitada temperatuuril 2–8 °C

Kasutamiseks süsteemiga cobas® 5800 (P/N 09051953190)

Kasutamiseks süsteemides cobas® 6800/8800 (P/N 07002238190 ja P/N 09051953190)

Komplekti osad	Reaktiivi koostisained	Kogus komplektis
cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)	Tris-puhver, < 0,1% naatriumasiid, EDTA, 0,002% Poly rA RNA (süntetiline)	16 ml (16 × 1 ml)

Reaktiivid cobas omni proovi ettevalmistamiseks

Tabel 4 Reaktiivid **cobas omni** proovi ettevalmistamiseks

Reaktiivid	Reaktiivi koostisained	Kogus komplektis	Ohutussümbol ja hoiatus*
cobas omni MGP Reagent (MGP) Säilitada 2–8 °C (P/N 06997546190)	Magnetilised klaasosakesed, Tris-puhver, 0,1% metüül-4-hüdrobensoaat, < 0,1% naatriumasiid	480 testi	Pole kohaldatav
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Säilitada 2–8 °C (P/N 06997511190)	Tris-puhver, 0,1% metüül-4-hüdrobensoaat, < 0,1% naatriumasiid	4 × 875 ml	Pole kohaldatav
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Säilitada 2–8 °C (P/N 06997538190)	43% (w/w) guanidiintiotsüanaat**, 5% (w/v) polüdokanool**, 2% (w/v) ditiotreitol**, dihüdronaatriumtsitraat EUH032: Kokkupuutel hapetega eraldub väga mürgine gaas.	4 × 875 ml	 ETTEVAATUST H302 + H332: Allaneelamisel või sissehingamisel kahjulik. H314: Põhjustab rasket nahasöövitust ja silmakahjustusi. H411: Mürgine veeorganismidele, pikaajaline toime. EUH032: Kokkupuutel hapetega eraldub väga mürgine gaas. P273: Vältida sattumist keskkonda. P280: Kanda kaitsekindaid/kaitserõivastust/kaitseprille/kaitsemaski/kuulmiskaitsevahendeid. P303 + P361 + P353: NAHALE (või juustele) SATTUMISE KORRAL: kõik saastunud rõivad viivitamata seljast võtta. Loputada nahka veega. P304 + P340 + P310: SISSEHINGAMISE KORRAL: toimetada isik värske õhu kätte ja hoida asendis, mis võimaldab kergesti hingata. Võtta viivitamata ühendust MÜRGISTUSTEABEKESKUSE/arstiga. P305 + P351 + P338 + P310: SILMA SATTUMISE KORRAL: loputada mitme minuti jooksul ettevaatlikult veega. Eemaldada kontaktläätsed, kui neid kasutatakse ja kui neid on kerge eemaldada. Loputada veel kord. Võtta viivitamata ühendust MÜRGISTUSTEABEKESKUSE/arstiga. P391: Mahavoolanud toode kokku koguda. 593-84-0 Guanidiintiotsüanaat 9002-92-0 Polidokanool 3483-12-3(R*,R*)-1,4-dimerkaptobutaan-2,3-diool
cobas omni Wash Reagent (WASH) Säilitada 15–30 °C (P/N 06997503190)	Naatriumtsitraatdihüdraat, 0,1% metüül-4-hüdrobensoaat	4,2 l	Pole kohaldatav

* Toote ohutusemärgised järgivad standardi EU GHS juhiseid.

** Ohtlik aine või segu.

Reaktiivi säilitamise nõuded

Reaktiive tuleb säilitada ja käidelda vastavalt juhiste Tabel 5, Tabel 6 kuni Tabel 7.

Tabel 5 temperatuurid reaktiivide säilitamiseks, kui need ei ole laetud süsteemi cobas® 5800 või cobas® 6800/8800.

Tabel 5 Reaktiivide säilitamine (kui reaktiiv ei ole süsteemis)

Reaktiiv	Säilitamistemperatuur
cobas® EBV	2–8 °C
cobas® EBV/BKV Control Kit	2–8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2–8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2–8 °C
cobas omni MGP Reagent	2–8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2–8 °C
cobas omni Wash Reagent	15–30 °C

Reaktiivi käitlemise nõuded süsteemi cobas® 5800 puhul

Süsteemi cobas® 5800 laaditud reaktiive säilitatakse ettenähtud temperatuuridel ja nende aegumistähtaega jälgib süsteem. Süsteem võimaldab reaktiive kasutada ainult juhul, kui kõik vajalikud tingimused Tabel 6 on täidetud. Süsteem välistab automaatselt aegunud reaktiivide kasutamise. Tabel 6 võimaldab kasutajal tutvuda reaktiivide käitlemise tingimustega, mida süsteem cobas® 5800 rakendab.

Tabel 6 Reaktiivide aegumise tingimused, mida süsteem cobas® 5800 rakendab

Reaktiiv	Komplekti aegumistähtaeg	Avatud komplekti stabiilsus	Tööseeriade arv, mille vältel seda komplekti saab kasutada	Seadmes oleku aegne stabiilsus
cobas® EBV	Kuupäev ei ole möödunud	90 päeva alates kasutuselevõtust	Kuni 40 tööseeriat	Kuni 36 päeva**
cobas® EBV/BKV Control Kit	Kuupäev ei ole möödunud	Pole kohaldatav*	Pole kohaldatav	Kuni 36 päeva**
cobas® Buffer Negative Control Kit	Kuupäev ei ole möödunud	Pole kohaldatav*	Pole kohaldatav	Kuni 36 päeva**
cobas omni Lysis Reagent	Kuupäev ei ole möödunud	30 päeva alates süsteemi laadimisest**	Pole kohaldatav	Pole kohaldatav
cobas omni MGP Reagent	Kuupäev ei ole möödunud	30 päeva alates süsteemi laadimisest**	Pole kohaldatav	Pole kohaldatav
cobas omni Specimen Diluent	Kuupäev ei ole möödunud	30 päeva alates süsteemi laadimisest**	Pole kohaldatav	Pole kohaldatav
cobas omni Wash Reagent	Kuupäev ei ole möödunud	30 päeva alates süsteemi laadimisest**	Pole kohaldatav	Pole kohaldatav

* Ühekorrareaktiivid.

** Aega mõõdetakse esimest korrast, kui reaktiiv süsteemi cobas® 5800 laaditakse.

Reaktiivi käitlemise nõuded süsteemi cobas® 6800/8800 puhul

Süsteemi cobas® 6800/8800 laaditud reaktiive säilitatakse ettenähtud temperatuuridel ja nende aegumistähtaega jälgib süsteem. Süsteem cobas® 6800/8800 võimaldab reaktiive kasutada ainult juhul, kui kõik vajalikud tingimused (Tabel 7) on täidetud. Süsteem välistab automaatselt aegunud reaktiivide kasutamise. Tabel 7 võimaldab kasutajal tutvuda reaktiivide käitlemise tingimustega, mida süsteem cobas® 6800/8800 rakendab.

Tabel 7 Reaktiivide aegumise tingimused, mida süsteem cobas® 6800/8800 rakendab

Reaktiiv	Komplekti aegumistähtaeg	Avatud komplekti stabiilsus	Tööseeriade arv, mille vältel seda komplekti saab kasutada	Stabiilsus seadmes (kumulatiivne aeg seadmes külmutustsoonist väljas)
cobas® EBV	Kuupäev ei ole möödunud	90 päeva alates kasutuselevõtust	Kuni 40 tööseeriat	Kuni 40 tundi
cobas® EBV/BKV Control Kit	Kuupäev ei ole möödunud	Pole kohaldatav*	Pole kohaldatav	Kuni 8 tundi
cobas® Buffer Negative Control Kit	Kuupäev ei ole möödunud	Pole kohaldatav*	Pole kohaldatav	Kuni 10 tundi
cobas omni Lysis Reagent	Kuupäev ei ole möödunud	30 päeva alates süsteemi laadimisest**	Pole kohaldatav	Pole kohaldatav
cobas omni MGP Reagent	Kuupäev ei ole möödunud	30 päeva alates süsteemi laadimisest**	Pole kohaldatav	Pole kohaldatav
cobas omni Specimen Diluent	Kuupäev ei ole möödunud	30 päeva alates süsteemi laadimisest**	Pole kohaldatav	Pole kohaldatav
cobas omni Wash Reagent	Kuupäev ei ole möödunud	30 päeva alates süsteemi laadimisest**	Pole kohaldatav	Pole kohaldatav

* Ühekorrareaktiivid.

** Aega mõõdetakse esimest korra, kui reaktiiv süsteemi cobas® 6800/8800 laaditakse.

Süsteemi cobas® 5800 puhul vajalikud lisamaterjalid

Tabel 8 Materjal ja tarvikud süsteemil **cobas® 5800** kasutamiseks

Materjalid	P/N
cobas omni töötlemisplaat 24	08413975001
cobas omni amplifikatsiooniplaat 24	08499853001
cobas omni vedeljäätmete plaat 24	08413983001
Otsikud CORE TIPS filtriga, 1 ml	04639642001
Otsikud CORE TIPS filtriga, 300 µl	07345607001
cobas omni vedeljäätmete mahuti	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Tahkete jäätmete kott või Tahkete jäätmete kott inserdiga	07435967001 või 08030073001
cobas omni sekundaarsed katsutid 13 × 75 (valikuline)	06438776001

* Proovirestide üksikasjaliku tellimisnimekirja saamiseks võtke ühendust Roche'i kohaliku esindajaga.

Süsteemi cobas® 6800/8800 jaoks vajalikud lisamaterjalid

Tabel 9 Materjal ja tarvikud süsteemil **cobas® 6800/8800** kasutamiseks

Materjalid	P/N
cobas omni töötlemisplaat	05534917001
cobas omni amplifikatsiooniplaat	05534941001
cobas omni pipetiotsikud	05534925001
cobas omni vedeljäätmete mahuti	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Tahkete jäätmete kott ja tahkete jäätmete mahuti või Tahkete jäätmete kott inserdi ja komplekti sahtliga	07435967001 ja 07094361001 või 08030073001 ja 08387281001

Vajalikud seadmed ja tarkvara

Süsteemi **cobas® 5800** tarkvara ja **cobas® EBV** analüüsipakett süsteemile **cobas® 5800** peab olema installitud seadmele **cobas® 5800**. Andmehaldustarkvara Data Manager ja arvuti süsteemile **cobas® 5800** tarnitakse koos süsteemiga.

Seadme(te)le tuleb installida tarkvara **cobas® 6800/8800** ja analüüsipakett **cobas® EBV**. IG-server (Instrument Gateway server) sisaldub süsteemis.

Tabel 10 Seadmed

Seadmed	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System (valik, liigutatav)	06379672001
cobas® 6800 System (fikseeritud)	05524245001
cobas® 8800 System	05412722001
Proovi sisestusmoodul	06301037001

Lisateabe saamiseks vt süsteemi **cobas® 5800** või süsteemi **cobas® 6800/8800** kasutajaabi ja/või kasutusjuhiseid.

Märkus. Seadmetega sobivate primaarsete ja sekundaarsete proovikatsutite proovirestide, hüübinud otsakute restide ja resti aluste tellimisnimekirja saamiseks võtke ühendust Roche'i kohaliku esindajaga.

Ettevaatusabinõud ja käitlemise nõuded

Hoiatused ja ettevaatusabinõud

Nagu kõigi testiprotseduuride puhul, on selle analüüsi toimimise eelduseks hea laboritava. Testi suure tundlikkuse tõttu tuleb komplekti reaktiivide ja amplifikatsioonisegude käsitlemisel olla saastumise vältimiseks ülimalt hoolikas.

- Kasutamiseks ainult *in vitro* diagnostikas.
- **cobas® EBV** ei ole testitud kasutamiseks skriininganalüüsina EBV esinemise tuvastamiseks veres või veretoodetes.
- Kõiki proove tuleb käsitada nakkusohtlikena, rakendades väljaandes Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories ja CLSI dokumendis M29-A4 kirjeldatud laboriohutuseeskirju.^{15, 16} Seda protseduuri tohivad teha ainult nakkusohtlike materjalide käitlemise ja süsteemi **cobas® 5800/6800/8800** ja **cobas® EBV** väljaõppe saanud töötajad.
- Kõiki inim päritolu materjale tuleb pidada potentsiaalselt nakkusohtlikeks ja käsitseda universaalseid ettevaatusabinõusid rakendades. Materjali mahavalgumisel tuleb piirkond viivitamatult desinfitseerida destilleeritud või deioniseeritud veega värskest valmistatud 0,6% naatrium- või kaaliumhüpokloriti lahusega (lahjendage olmepleegitusvedelikku 1:10) või järgida sobivaid kohapealseid protseduure.
- Kontrollkomplekt **cobas® EBV/BKV** sisaldab inimverest saadud plasmat. Lähtematerjali on analüüsitud PCR-meetoditega, ja see näitas EBV DNA madalat taset lubatud määral. Siiski ei anna ükski teadaolev katsemeetod täielikku kindlust, et inimverest pärinevad tooted ei kannaks nakkusetekitajaid.
- **Ärge külmutage täisverd ega ühtegi primaarses katsutis säilitatavat proovi.**
- Testi optimaalseks läbiviimiseks tuleb kasutada ainult komplektis olevaid või selleks ette nähtud tarvikuid.
- Ohutuskaidid (SDS) on saadaval kohalikus Roche'i esinduses.
- Testi korrektseks läbiviimiseks tuleb täpselt järgida etteantud protseduure ja juhiseid. Kõik protseduuridest ja juhistest kõrvalekaldumised võivad kahjustada testi optimaalset sooritust.
- Kui proovide käsitlemise ja töötlemise käigus ei kontrollita piisavalt proovide ristsaastumist, võib test anda valepositiivseid tulemusi.
- Arvestades analüüsi suurt tundlikkust ning asjaolu, et > 90% täiskasvanutest on kroonilised EBV kandjad, kes võivad levitada enda sülg kuni 10⁸ EBV koopiat/ml, on laborites oluline rakendada piisavaid saastumise ennetamise meetmeid.¹⁷
- Teatage selle analüüsi kasutamisel toimunud tõsistest vahejuhtumitest kohalikule pädevale asutusele.

Reaktiivide käitlemine

- Käideldes kõiki reaktiive, kontrolle ja proove vastavalt heale laboritavale, et vältida proovide või kontrollide ristsaastumist.
- Enne kasutamist tuleb visuaalselt kontrollida kõiki reaktiivikassette, lahjendeid, lüüsireaktiive ja pesureaktiive lekete suhtes. Lekkimismärkide olemasolul ei tohi seda materjali analüüsiks kasutada.
- **cobas omni** Lysis Reagent sisaldab potentsiaalselt ohtlikku kemikaali guanidiintioatsüanaati. Vältige reaktiivide kokkupuudet naha, silmade või limaskestadega. Kokkupuute korral pesta kohe rohke veega, vastasel juhul võib tekkida põletus.

- Test **cobas® EBV**, reaktiiv **cobas omni** MGP Reagent ja proovilahjendi **cobas omni** Specimen Diluent sisaldavad säilitusainena naatriumasiidi. Vältige reaktiivide kokkupuudet naha, silmade või limaskestadega. Kokkupuute korral pesta kohe rohke veega, vastasel juhul võib tekkida põletus. Nende reaktiivide mahavoolamisel tuleb mahavoolanud kogust enne kuivatamist veega lahjendada.
- Guanidiintiotsüanaati sisaldav **cobas omni** Lysis Reagent ei tohi kokku puutuda naatriumhüpokloriti (pleegitusaine) lahusega. Nende segamisel võib tekkida väga mürgine gaas.
- Kõik materjalid, mis on proovide ja reaktiividega kokku puutunud, tuleb hävitada vastavalt riiklikele ja kohalikele nõuetele.

Hea laboritava

- Suu abil mitte pipeteerida.
- Määratud tööpiirkondades ei tohi süüa, juua ega suitsetada.
- Proovide ja reaktiivide käitlemisel tuleb kanda kaitsekindaid, laborikitlit ja silmade kaitset. Saastumise vältimiseks kandke kindaid, kui käsitlete proove ning komplekte **cobas® EBV** Kit, kontrollle EBV/BKV Low Positive Control (EBV/BKV L(+)/C), EBV/BKV High Positive Control (EBV/BKV H(+)/C), **cobas®** Buffer Negative Control (BUF (-) C) ja reaktiive **cobas omni**. Proovide ja kontrollide käitlemisel tuleb vältida kinnaste saastumist.
- Pärast proovide ja komplekti reaktiivide käsitsemist ning kinnaste eemaldamist tuleb hoolikalt käsi pesta.
- Kõik labori tööpinnad tuleb põhjalikult puhastada ja desinfitseerida destilleeritud või deioniseeritud vees värskelt valmistatud 0,6% naatriumhüpokloriti lahusega (lahjendada olmepleegitusvedelikku vahekorras 1:10). Seejärel tuleb pind üle pühkida 70% etanooliga.
- Lekete korral seadmes **cobas® 5800** või **cobas® 6800/8800** järgige süsteemi **cobas® 5800** või **cobas® 6800/8800** kasutajaabi ja/või kasutusjuhist nõuetekohaseks puhastamiseks ja seadme(te) pinna dekontamineerimiseks.

Proovide võtmine, transport ja säilitamine

Märkus. Kõiki proove ja kontrollle tuleb käidelda potentsiaalselt nakkusohtlikena.

Säilitage kõiki proove ettenähtud temperatuuridel.

Kõrgenenud temperatuurid mõjutavad proovide stabiilsust.

Kui kasutate sekundaarsetes katsutites olevaid külmutatud proove, hoidke proove kuni täieliku sulamiseni toatemperatuuril (15–30 °C) ning seejärel segage lühikest aega (nt vortexil 3–5 sekundit) ja tsentrifuugige kogu proovi maht katsuti põhja.

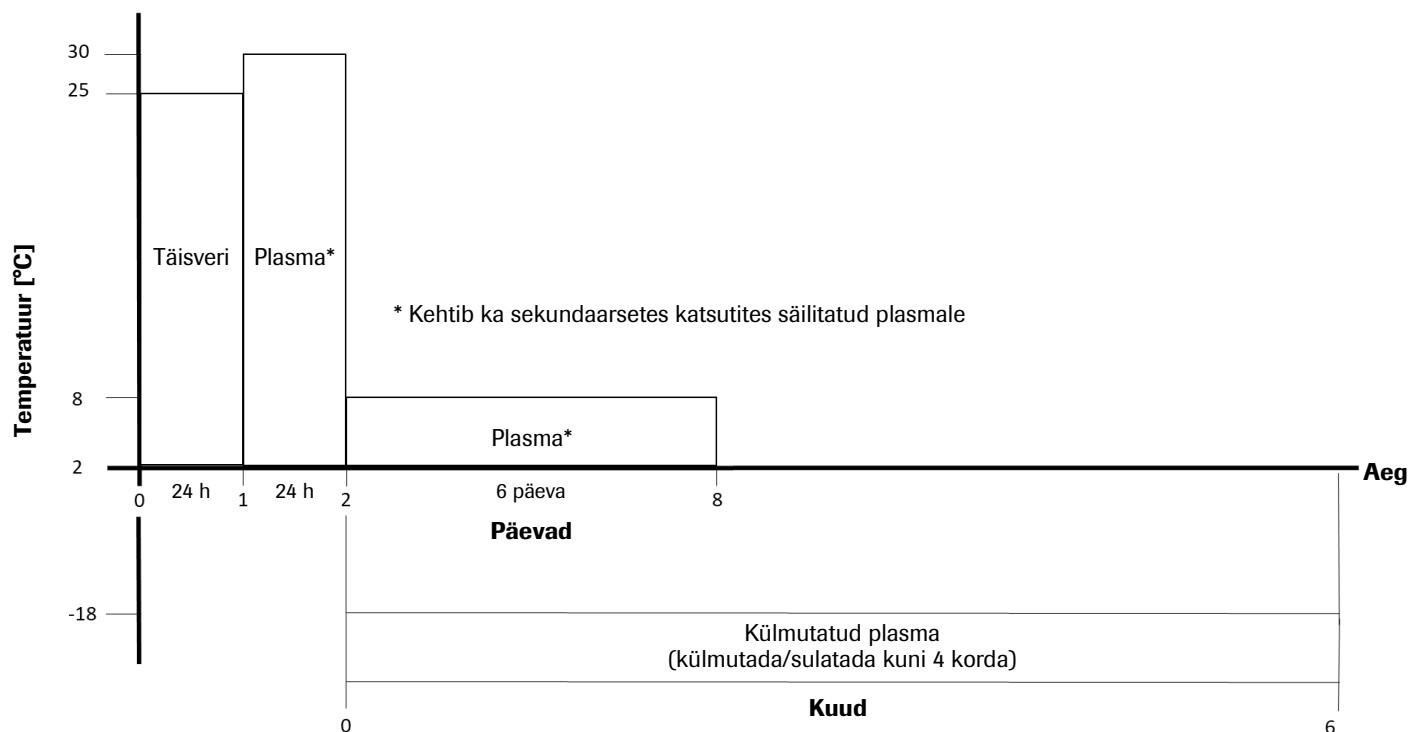
Kui on kahtlus, et pärast tsentrifuugimist on rakud plasmas resuspendeeritud, kaaluge enne seadmel töötlemist uuesti tsentrifuugimist.

Proovid

- Täisveri tuleks koguda BD Vacutainer® PPT™ molekulaardiagnostika analüüsimeetodite jaoks ette nähtud plasma ettevalmistamise katsutitesse või steriilsetesse katsutitesse, kasutades antikoagulandina EDTA-d. Järgige proovi võtmisel katsuti tootja juhiseid. Vaadake Joonis 1.
- Täisverd, mis koguti BD Vacutainer® PPT™ molekulaardiagnostika analüüsimeetodite jaoks ette nähtud plasma ettevalmistamise või steriilsetesse katsutitesse antikoagulandina EDTA-d kasutades, võib enne plasma ettevalmistust säilitada ja/või transportida kuni 24 tundi temperatuuril 2–25 °C. Tsentrifuugima peab tootja juhiste kohaselt.

- Pärast eraldamist võib plasmaproove primaarsetes ja sekundaarsetes katsutites säilitada 24 tundi temperatuuril 2–30 °C, pärast mida:
 - kuni 6 päeva primaarsetes või sekundaarsetes katsutites temperatuuril 2–8 °C;
 - kuni 6 kuud sekundaarsetes katsutites temperatuuril ≤ -18 °C.
- Plasmaproovid on stabiilsed kuni nelja külmutus-/sulatustsükli vältel, kui need külmutatakse ≤ -18 °C juures.

Joonis 1 Proovi säilitamise tingimused



- Proovide transportimiseks tuleb need pakendada ja märgistada vastavalt kohaldatavatele riiklikele ja/või rahvusvahelistele määrustele, mis kehtivad proovide ja nakkusohtliku materjali transportimise kohta.

Kasutusjuhised

Märkused protseduuride kohta

- Ärge kasutage **cobas® EBV** reaktiive, komplekti **cobas® EBV/BKV Control Kit**, komplekti **cobas® Buffer Negative Control Kit** ega **cobas omni** reaktiive pärast aegumiskuupäeva.
- Ärge korduskasutage tarvikuid. Need on ainult ühekordseks kasutamiseks.
- Seadmete õigeks hooldamiseks vt süsteemi **cobas® 5800** või süsteemi **cobas® 6800/8800** kasutajaabi ja/või kasutusjuhiseid.

Testi cobas® EBV läbiviimine süsteemiga cobas® 5800

cobas® EBV-d saab kasutada minimaalse proovimahuga 375 µl, millest töödeldakse 200 µl. Analüüsiprotseduuri kirjeldatakse täpsemalt süsteemi cobas® 5800 kasutajaabis ja/või kasutusjuhises. Joonis 2 allpool võtab protseduuri kokku.

Joonis 2 cobas® EBV analüüsiprotseduur süsteemiga cobas® 5800

1	Logige süsteemi
2	Laadige proovid süsteemi: • Laadige proovirestid süsteemi • Süsteem valmistub automaatselt • Tellige testid
3	Kui süsteem annab märku, lisage reaktiive ja tarvikuid: • Laadige testispetsiifiline (testispetsiifilised) reaktiivikassett (reaktiivikassetid) • Laadige väikesed kontrollirestid • Laadige töötlemisotsikud • Laadige elueerimisotsikud • Laadige töötlemisplaadid • Laadige vedeljäätmete plaadid • Laadige amplifitseerimisplaadid • Laadige MGP kassett • Lisage proovilahjendit Specimen Diluent • Lisage lüüsiireaktiivi Lysis Reagent • Lisage pesureaktiivi Wash Reagent
4	Käivitage tööseeria, vajutades kasutajaliidesel töötlemisnuppu Start; kõiki järgmisi tööseeriaid alustatakse automaatselt, kui neid käsitsi edasi ei lükata
5	Vaadake tulemused üle ja eksportige need
6	Vajadusel võtke välja ja sulgege minimaalse mahu nõuetele vastavad proovikatsutid hilisemaks kasutamiseks Puhastage seade: • Võtke tühjad väikesed kontrollirestid seadmest välja • Võtke tühi (tühjad) testispetsiifiline (testispetsiifilised) reaktiivikassett (reaktiivikassetid) seadmest välja • Tühjendage amplifitseerimisplaadi sahtel • Tühjendage vedelate jäätmete nõu • Tühjendage tahkete jäätmete nõu

Testi cobas® EBV läbiviimine süsteemiga cobas® 6800/8800

cobas® EBV-d saab kasutada minimaalse proovimahuga 375 µl, millest töödeldakse 200 µl. Analüüsiprotseduuri kirjeldatakse täpsemalt süsteemi cobas® 6800/8800 kasutajaabis ja/või kasutusjuhises. Joonis 3 allpool võtab protseduuri kokku.

Joonis 3 cobas® EBV analüüsiprotseduur süsteemiga cobas® 6800/8800

1	Logige süsteemi Süsteemi ettevalmistamiseks vajutage Start Tellige testid
2	Kui süsteem annab märku, lisage reaktiive ja tarvikuid: • Laadige testispetsiifilised reaktiivikassetid • Laadige kontrollkassetid • Laadige pipetiotsikud • Laadige töötlemisplaadid • Laadige MGP Reagent • Laadige amplifitseerimisplaadid • Lisage proovilahjendit Specimen Diluent • Lisage lüüsireaktiivi Lysis Reagent • Lisage pesureaktiivi Wash Reagent
3	Laadige proovid süsteemi: • Laadige proovihoidikud ja hüübinud otsikute hoidikud proovide sisestusmoodulisse • Kontrollige, et proovid oleksid ülekandemoodulisse vastu võetud
4	Tööseeria käivitamiseks vajutage manuaalset „Start manually“ nuppu kasutajaliidesel või laske automaatselt alustada 120 minuti pärast või kui partii on täis
5	Vaadake tulemused üle ja eksportige need
6	Vajadusel võtke välja ja sulgege minimaalse mahu nõuetele vastavad proovikatsutid hilisemaks kasutamiseks Puhastage seade: • Eemaldage tühjad kontrollkassetid • Tühjendage amplifitseerimisplaadi sahtel • Tühjendage vedelate jäätmete nõu • Tühjendage tahkete jäätmete nõu

Tulemused

Süsteem **cobas**® 5800/6800/8800 määrab proovides ja kontrollides automaatselt EBV DNA kontsentratsiooni. EBV DNA kontsentratsioon esitatakse rahvusvahelistes ühikutes milliliitri kohta (IU/ml).

Kvaliteedikontroll ja tulemuste kehtivus süsteemil **cobas**® 5800

- Iga uue komplektipartiiga ja vähemalt iga 72 tunni järel töödeldakse ühte negatiivset kontrolli [(-) Ctrl] ja kahte positiivset kontrolli, madala tiitri positiivset kontrolli [EBV/BKV L(+)C] ja kõrge tiitri positiivset kontrolli [EBV/BKV H(+)C]. Positiivseid ja/või negatiivseid kontrolle saab planeerida sagedamini, lähtudes laboriprotseduuridest ja/või kohalike eeskirjadest.
- Kontrollige süsteemi **cobas**® 5800 tarkvaras ja/või aruandes lippe ning nendega seotud tulemusi, et veenduda tulemuse kehtivuses.

cobas® 5800 tarkvara tunnistab tulemused automaatselt kehtetuks, kui negatiivne või positiivsed kontrollid ebaõnnestuvad.

MÄRKUS. Süsteem **cobas**® 5800 tarnitakse kontrollide komplekti (positiivne ja negatiivne) tööseeria standardseadistustega, mille puhul kontrollid analüüsitakse igas tööseerias, kuid võimalik on seadistada kontrollide harvem analüüsimise sagedus kuni iga 72 tunni järel, laboriprotseduuride või kohalike eeskirjade alusel. Lisateabe saamiseks võtke ühendust Roche'i hooldusinseneri ja/või Roche'i tehnilise toega.

Kontrolli tulemused süsteemil **cobas**® 5800

Kontrollide tulemused kuvatakse tarkvaras **cobas**® 5800 rakenduses „Controls“ (Kontrollid).

- Kontrollid on veerus „Control result“ (Kontrolli tulemus) tähistatud „Valid“ (Kehtiv), kui kõik kontrolli sihtmärgid esitatakse kehtivatena. Kontrollid on veerus „Control result“ tähistatud „Invalid“ (Kehtetu), kui mõni kontrolli sihtmärkidest esitatakse kehtetuna.
- Kontrollidel, mis on tähistatud „Invalid“, kuvatakse lipp veerus „Flags“ (Lipud). Üksikasjade vaates kuvatakse lisateavet selle kohta, miks kontroll on kehtetu, sh liputeave.
- Kui üks kontrollidest on kehtetu, korrake kõigi kontrollide ja vajaduse korral kõigi nendega seotud proovide testimist.

Kvaliteedikontroll ja tulemuste kehtivus süsteemil **cobas**® 6800/8800

- Iga katseseeriaga koos töödeldakse ühte negatiivset kontrolli [(-) Ctrl] ja kahte positiivset kontrolli, madala tiitri positiivset kontrolli [EBV/BKV L(+)C] ja kõrge tiitri positiivset kontrolli [EBV/BKV H(+)C].
- Kontrollige tarkvaras **cobas**® 6800/8800 ja/või aruandes lippe ning nendega seotud tulemusi, et veenduda katseseeria kehtivuses.
- Katseseeria tulemused kehtivad, kui kõigi kolme kontrolli, ühe negatiivse kontrolli ja kahe positiivse kontrolli: EBV/BKV L(+)C, EBV/BKV H(+)C, juures ei kuvata lippe. Negatiivse kontrolli tulemus kuvatakse kui (-) Ctrl ning vähe- ja ülipositiivne kontroll kuvatakse kui EBV/BKV L(+)C ja EBV/BKV H(+)C.

Süsteemi **cobas**® 6800/8800 tarkvara tunnistab tulemused automaatselt kehtetuks, kui negatiivne või positiivsed kontrollid ebaõnnestuvad.

Kontrollide lipud süsteemil cobas® 6800/8800

Tabel 11 Negatiivse ja positiivsete kontrollide kontroll-lipud

Negatiivne kontroll	Lipp	Tulemus	Tõlgendus
(-) Ctrl	Q02 (Kontroll-katseseeria ebaõnnestus)	Invalid	Kehtetu tulemus või negatiivse kontrolli tulemus pole arvatud tiitri kohaselt negatiivne.
Positiivne kontroll	Lipp	Tulemus	Tõlgendus
EBV/BKV L(+)C	Q02 (Kontroll-katseseeria ebaõnnestus)	Invalid	Kehtetu tulemus või madala tiitri positiivse kontrolli arvutuslik tiiter ei ole ettenähtud vahemikus.
EBV/BKV H(+)C	Q02 (Kontroll-katseseeria ebaõnnestus)	Invalid	Kehtetu tulemus või kõrge tiitri positiivse kontrolli arvutuslik tiiter ei ole ettenähtud vahemikus.

Kui kontrollpartii tulemus on kehtetu, analüüsi vastava partii kõiki proove uuesti.

Tulemuste tõlgendamine

Kehtiva partii korral kontrollide süsteemi cobas® 5800 ja süsteemi cobas® 6800/8800 tarkvarast ja/või aruannetest iga proovi lippe. Tulemusi tuleks tõlgendada järgmiselt.

- Kehtiv partii võib sisaldada nii kehtivaid kui ka kehtetuid proovide tulemusi.

Tabel 12 Individuaalsete sihtmärktulemuste tõlgendamine

Tulemused	Tõlgendus
Target Not Detected	EBV DNA-d ei avastatud. Tulemustena esitatakse „EBV not detected“ [EBV-d ei tuvastatud].
< Titer Min ^a	Arvutatud tiiter on analüüsi kvantifitseerimise alampiirist (LLOQ) väiksem. Tulemustena esitatakse „EBV detected, less than (Titer Min)“ [EBV tuvastati alla (min tiiter)]. Min tiiter = 35,0 IU/ml
Titer	Arvutatud tiiter on analüüsi lineaarses piirkonnas – suurem või võrdne minimaalne tiiter ja väiksem või võrdne maksimaalne tiiter. Tulemustena esitatakse „(Titer) of EBV detected“ [Tuvastatud EBV (tiiter)].
> Titer Max ^b	Arvutatud tiiter on analüüsi kvantifitseerimise ülempiirist (ULOQ) suurem. Tulemusena esitatakse „EBV detected, greater than (Titer Max)“ [EBV tuvastati üle (max tiiter)]. Max tiiter = 1,0E+08 IU/ml

^a Proovi tulemusi „< Titer min“ [< minimaalne tiiter] (Target Detected [tuvastatud sihtmärk] < LLOQ) tuleb tõlgendada muude kliiniliste andmete kontekstis ja see ei tohiks olla raviotsuste ainuke alus.

^b Proovi tulemus „> Titer Max“ [> maksimaalne tiiter] näitab EBV positiivsete proovide tuvastamist tiitritega üle kvantifitseerimise ülempiiri (ULOQ). Kui on vaja kvantitatiivset tulemust, tuleb algne proov lahjendada EBV-negatiivse inimese EDTA-plasmaga ja katset korrata. Korrutage nii saadud tulemus kasutatud lahjendusteguriga.

Tulemuste tõlgendamine süsteemil cobas® 5800

Proovide tulemused kuvatakse süsteemi **cobas® 5800** tarkvaras rakenduses „Results“ (Tulemused).

Kehtiva kontrolli partii korral kontrollige süsteemi **cobas® 5800** tarkvarast ja/või aruandest iga proovi lippe. Tulemusi tuleks tõlgendada järgmiselt.

- Kehtiva kontrolli partiiga seotud proovid kuvatakse veerus „Control result“ (Kontrolli tulemus) kui „Valid“ (Kehtiv), kui kõik kontrolli sihtmärktulemused esitatakse kehtivana. Ebaõnnestunud kontrolli partiiga seotud proovid kuvatakse veerus „Control result“ (Kontrolli tulemus) kui „Invalid“ (Kehtetu), kui kõik kontrolli sihtmärktulemused esitatakse kehtetuna.
- Kui proovi tulemusega seotud kontrollid on kehtetud, lisatakse proovi tulemusele konkreetne lipp järgmiselt.
 - Q05D: tulemuse valideerimise ebaõnnestumine kehtetu positiivse kontrolli tõttu.
 - Q06D: tulemuse valideerimise ebaõnnestumine kehtetu negatiivse kontrolli tõttu.
- Iga proovi sihtmärktulemuse kohta veerus „Results“ (Tulemused) esitatud väärtusi tuleks tõlgendada eespool Tabel 11 esitatud viisil.

Kui üks või mitu proovi sihtmärki on tähistatud kui „Invalid“ (Kehtetu), kuvab süsteemi **cobas® 5800** tarkvara lipu veerus „Flags“ (Lipud). Üksikasjade vaates kuvatakse lisateavet selle kohta, miks proovi sihtmärk (sihtmärgid) on kehtetu(d), sh liputeave.

Tulemuste tõlgendamine süsteemil cobas® 6800/8800

Kehtiva katseseeria korral kontrollige süsteemi **cobas® 6800/8800** tarkvarast ja/või aruandest iga proovi lippe. Tulemusi tuleks tõlgendada järgmiselt.

- Proovid märgitakse veerus „Valid“ (Kehtiv) kui „Yes“ (Jah), kui kõik taotletud sihtmärktulemused andsid kehtivad tulemused. Proovid, mis märgitakse veerus „Valid“ (Kehtiv) kui „No“ (Ei), võivad vajada lisatõlgendusi ja -tegevust.
- Iga proovi sihtmärktulemuse väärtusi tuleks tõlgendada eespool Tabel 12 esitatud viisil.

Meetodi piirangud

- Testi **cobas® EBV** on hinnatud kasutamiseks ainult koos toodetega **cobas® EBV/BKV Control Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit**, **cobas omni MGP Reagent**, **cobas omni Lysis Reagent**, **cobas omni Specimen Diluent** ja **cobas omni Wash Reagent** süsteemil **cobas® 5800/6800/8800**.
- Tulemuste usaldusväärsus sõltub õigetest proovi võtmise, säilitamise ja käitlemise protseduuridest.
- See test on kinnitatud üksnes EDTA-plasmaga kasutamiseks. Muud tüüpi proovide uurimisel **cobas® EBV**-ga võidakse saada ebatäpseid tulemusi. Plasma viiruskoormuse mõõtmised ei ole otseselt võrreldavad teiste proovitüüpide omaga.
- EBV DNA kvantifitseerimist võivad mõjutada proovi kogumise meetodid, patsiendist tulenevad tegurid (nt vanus, sümptomite esinemine) ja/või infektsiooni staadium.
- Nagu iga molekulaaranalüüsi korral, võivad mutatsioonid **cobas® EBV** sihtmärkpiirkondades mõjutada praimerit ja/või sondi seondumist, mille tulemusel viiruse hulka alahinnatakse või viiruse esinemise tuvastamine ebaõnnestub.

- Tehnoloogiate erinevuste tõttu on soovitatav, et kasutaja teeks enne ühelt tehnoloogialt teisele üleminekut oma laboris tehnoloogiate erinevuste hindamiseks meetodi korrelatsiooniuuringu. Kasutajad peavad järgima enda asutuse spetsiifilisi ettekirjutusi/protseduure.
- cobas® EBV ei ole ette nähtud kasutamiseks skriininganalüüsina EBV tuvastamiseks veres või veretoodetes.

Mittekliinilise toimivuse hindamine

Olulisemad toimivusnäitajad süsteemil cobas® 6800/8800

Tuvastuspiir (LoD)

WHO rahvusvaheline standard

Testi cobas® EBV tuvastuspiir leiti analüüsides EBV-negatiivses inimese EDTA-plasmas lahjendusridu, mis pärinevad WHO 1. rahvusvahelisest standardist Epstein-Barri viiruse nukleiinhappe amplifitseerimistehnikate kohta (WHO 1. EBV rahvusvaheline standard), mis saadi NIBSC-ilt (NIBSC 09/260). Kuuest kontsentratsioonitasemest ja tühjast kontrollist koosnevaid paneele analüüsiti kolme cobas® EBV reaktiivi partiiga mitme päeva jooksul, kasutades mitut tööseeriat, kasutajat ja seadet.

EDTA-plasma tulemused on esitatud siin: Tabel 13 kuni Tabel 15. Uuring näitas, et kõige väiksema tundlikkusega partii korral oli kontsentratsioon EDTA-plasmas, millega on PROBIT-i eeldatav tabavus 95%, 18,8 IU/ml, mis 95%-lise usaldusvahemiku korral on 14,5 kuni 27,5 IU/ml. Madalaim kontsentratsioon $\geq 95\%$ tabamusega on EDTA-plasmas 20,0 IU/ml.

Tabel 13 Tuvastamispiir EDTA-plasmas, 1. partii

Tiitri sisendkontsentratsioon (EBV DNA IU/ml)	Kehtivate paralleelproovide arv	Positiivsete proovide arv	Tabavuse %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	62	98,4
20,0	63	61	96,8
10,0	63	53	84,1
5,0	63	37	58,7
2,5	63	26	41,3
0,0	63	0	0,0
Tuvastuspiir (PROBIT-analüüs, 95% tabavus)	18,8 IU/ml 95% usaldusvahemik: 14,5–27,5 IU/ml		

Tabel 14 Tuvastamispriir EDTA-plasmas, 2. partii

Tiitri sisendkontsentratsioon (EBV DNA IU/ml)	Kehtivate paralleelproovide arv	Positiivsete proovide arv	Tabavuse %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	58	92,1
5,0	63	35	55,6
2,5	63	20	31,8
0,0	63	0	0,0
Tuvastuspriir (PROBIT-analüüs, 95% tabavus)	12,4 IU/ml 95% usaldusvahemik: 10,0–17,0 IU/ml		

Tabel 15 Tuvastamispriir EDTA-plasmas, 3. partii

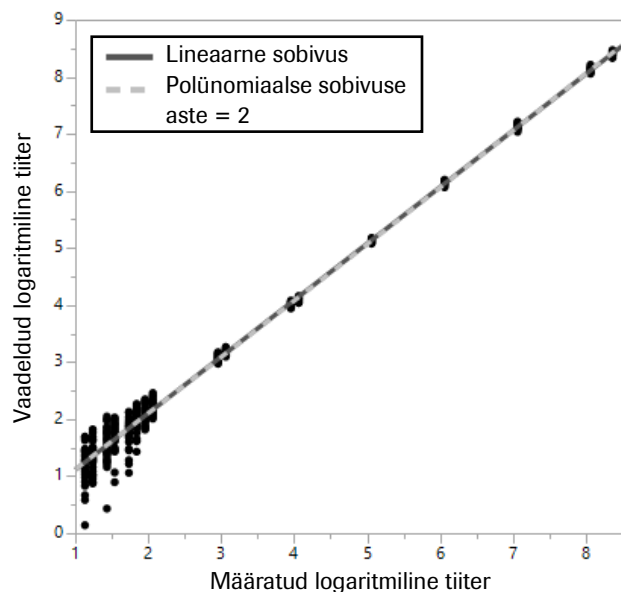
Tiitri sisendkontsentratsioon (EBV DNA IU/ml)	Kehtivate paralleelproovide arv	Positiivsete proovide arv	Tabavuse %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	63	100,0
20,0	63	62	98,4
10,0	63	48	76,2
5,0	63	38	60,3
2,5	63	26	41,3
0,0	63	0	0,0
Tuvastuspriir (PROBIT-analüüs, 95% tabavus)	18,6 IU/ml 95% usaldusvahemik: 14,4–27,1 IU/ml		

Lineaarsusvahemik

cobas® EBV lineaarsust hinnati kasutades lahjenduridu, mis koosnesid 17 paneeliliikmest, mille EBV genotüübi 1 DNA hõlmas analüüsi lineaarsusvahemikku. Kogu lineaarsusvahemikku hõlmava 11 paneeliliikme ettevalmistamiseks kasutati kõrge tiitriga lambda DNA põhimaterjali. Lineaarsusvahemiku keskmisi ja madalamaid tasemeid hõlmava 6 paneeliliikme ettevalmistamiseks kasutati kliinilist proovi.

Igat paneeliosa analüüsiti 36 korduses kolmes **cobas®** EBV reaktiivide partiis. Tulemused on toodud siin: Joonis 4.

cobas® EBV korral näidati lineaarsust vahemikus $1,40 \times 10^1$ IU/ml kuni $2,30 \times 10^8$ IU/ml. Täielik hälve parema lähenduse mittelinearsest regressioonist on vähem või võrdne kui $\pm 0,1 \log_{10}$ inimese EDTA-plasmas (vaata Joonis 4). Kogu lineaarsusvahemiku ulatuses oli testi täpsus vahemikus $\pm 0,2 \log_{10}$.

Joonis 4 Lineaarsusvahemiku määramine EDTA-plasmas

Laborisisene täpsus

Testi **cobas® EBV** täpsus leiti EBV DNA negatiivses EDTA-plasmas esineva EBV DNA (genotüüp 1) kõrge tiitri lahjendusridu analüüsides. Kuut lahjendustaset testiti 72 korduses iga taseme kohta kolmes **cobas® EBV** testreaktiivi partiiis, kasutades 12 päeva jooksul kolme seadet ja kolme kasutajat. Iga prooviga tehti kogu **cobas® EBV** protseduur täisautomaatsel süsteemil **cobas® 6800/8800**. Seega kehtib siin esitatud täpsus analüüsiprotseduuri kõigi aspektide kohta. Tulemusi vt Tabel 16.

cobas® EBV näitas suurt täpsust kolme reaktiivipartii puhul, mida testiti kontsentratsioonivahemikus $1,08 \times 10^2$ IU/ml kuni $5,40 \times 10^7$ IU/ml.

Tabel 16 Testi **cobas® EBV** laborisisene täpsus

Nimikontsentratsioon [IU/ml]	Määratud kontsentratsioon [IU/ml]	EDTA-plasma			
		1. partii	2. partii	3. partii	Kõik partiid
		SD	SD	SD	Ühendatud SD
$5,00 \times 10^7$	$5,40 \times 10^7$	0,03	0,04	0,04	0,04
$1,00 \times 10^6$	$1,08 \times 10^6$	0,02	0,03	0,02	0,02
$1,00 \times 10^5$	$1,08 \times 10^5$	0,02	0,02	0,03	0,02
$1,00 \times 10^4$	$1,08 \times 10^4$	0,04	0,02	0,03	0,03
$1,00 \times 10^3$	$1,08 \times 10^3$	0,05	0,05	0,05	0,05
$1,00 \times 10^2$	$1,08 \times 10^2$	0,17	0,18	0,15	0,17

Genotüüpide kontrollimine

cobas® EBV toimivust hinnati EBV genotüübil 2 järgmiselt:

- Tuvastuspiiri kontrollimine
- Lineaarsusvahemiku kontrollimine

Genotüüp 2 tuvastamispiiri kontrollimine

EBV DNA-d lahjendati genotüüp 2 puhul EBV-negatiivses EDTA-plasmas kolme erinevasse kontsentratsiooni. Tabamus määrati iga taseme korral 63 kordusega. Testimine viidi läbi kolme cobas® EBV reaktiivi partiiga mitme päeva jooksul, kasutades mitut tööseeriat, kasutajat ja seadet. Tulemused näitasid, et cobas® EBV tuvastas EBV DNA-d genotüüp 2 puhul kontsentratsioonil 18,8 IU/ml ja tabavusega $\geq 95\%$.

Genotüüp 2 lineaarsusvahemiku kontrollimine

cobas® EBV genotüüpide lineaarsuse uuringus kasutatud lahjendusread koosnesid kaheksast analüüsi lineaarvahemikku hõlmavast paneeliliikmest. Testimine tehti kolme cobas® EBV reaktiivi partiiga; analüüsiti 12 kordust taseme kohta EDTA-plasmas.

Genotüüp 2 korral kontrolliti testi cobas® EBV lineaarsusvahemikku.

Spetsiifilisus

Testi cobas® EBV spetsiifilisuse määramiseks analüüsiti eri doonoritelt saadud EBV-negatiivseid EDTA-plasmaproove. 101 eri EDTA-plasmaproovi analüüsiti kolme cobas® EBV reaktiivi partiiga. Kõik analüüsitud proovid olid EBV DNA suhtes negatiivsed. Testpaneelil oli cobas® EBV spetsiifilisus 100% (madalama ühepoolse 95% usaldusvahemikuga 97,08%).

Analüütiline spetsiifilisus

Testi cobas® EBV analüütilist spetsiifilisust hinnati lahjendades mikroorganismide paneeli EBV DNA positiivses ja EBV DNA negatiivses EDTA-plasmas bakterite ja pärmseene korral kontsentratsioonini 1,00E+06 ühikut/ml (rakku/ml, CFU/ml, IFU/ml, CCU/ml) ja viiruste korral vahemikuni 3,00E+05 kuni 1,00E+06 ühikut/ml (IU/ml, koopiat/ml, rakku/ml, TCID₅₀/ml). Testitud spetsiifilised mikroorganismid on toodud Tabel 17. Igat paneeliosa hinnati testiga cobas® EBV. Mitte ükski EBV-st erinev patogeen ei mõjutanud testi toimivust.

Tabel 17 Ristreaktiivsuse suhtes analüüsitud mikroorganismid

Viirused	Bakterid	Pärmseen
5. tüüpi adenoviirus	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Polüoomiviirus BK	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Tsütomegaloviirus	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatiit B viirus	<i>Clostridium perfringens</i>	–
Hepatiit C viirus	<i>Enterococcus faecalis</i>	–
<i>Herpes simplex</i> i viirus 1. tüüp	<i>Escherichia coli</i>	–
<i>Herpes simplex</i> i viirus 2. tüüp	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	–
Inimese herpesviirus 6. tüüp	<i>Listeria monocytogenes</i>	–
Inimese herpesviirus 7. tüüp	<i>Mycobacterium avium</i>	–
Inimese herpesviirus 8. tüüp	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	–
Inimese immuunpuudulikkuse viirus 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	–
Inimese immuunpuudulikkuse viirus 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	–
Inimese papilloomiviirus	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	–
JC-viirus	<i>Salmonella enterica</i>	–
Parvoviirus B19	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	–
Ahviliste viirus 40		
Varicella-zoster viirus	–	–

Analüütiline spetsiifilisus – häirivad ained

Analüüsiti triglütseriidide (kuni 33,0 g/l), konjugeeritud bilirubiini (0,2 g/l), konjugeerimata bilirubiini (0,2 g/l), albumiini (60,0 g/l), hemoglobiini (2,0 g/l) ja inimese DNA (2 mg/l) kõrgete tasemetega proove koos EBV DNA-ga ja ilma. Leiti, et testitud endogeensed pärssijad ei häirinud cobas® EBV testi toimivust.

Peale selle analüüsiti ravimühendeid, mis on toodud Tabel 18 all, kolmekordsetel C_{max}-väärtustel koos EBV DNA-ga ja ilma.

Ühegi potentsiaalselt häiriva aine puhul ei leitud analüüsi toimivuse häirimist.

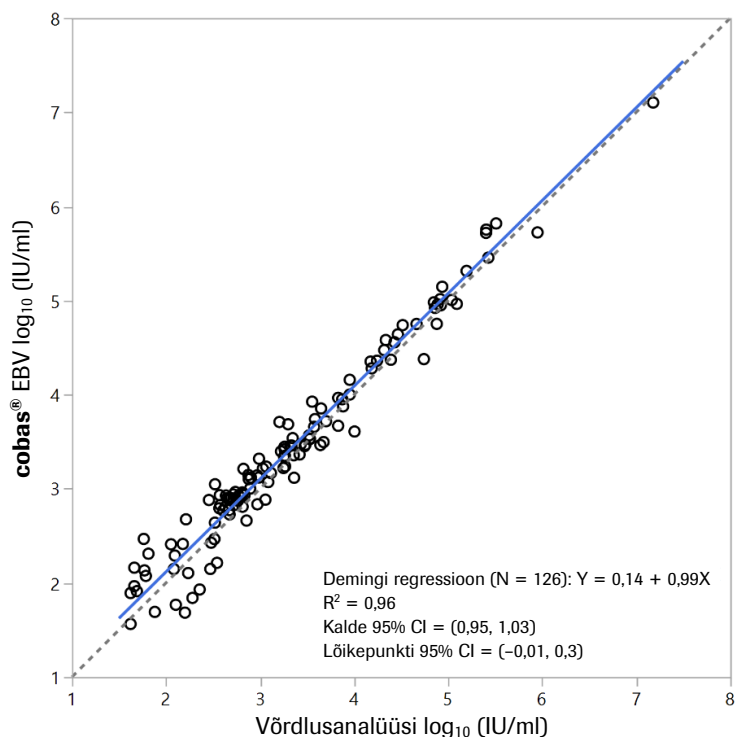
Tabel 18 Testiga cobas® EBV EBV DNA koguse mõõtmise pärssimise suhtes analüüsitud ravimühendid

Ravimiklass	Ravimi geneeriline nimetus	
Antimikroobikum	Tsefotetaan	Sulfametoksasool
	Klavulanaatkaalium	Tikartsilliindinaatrium
	Flukonasool	Trimetoprim
	Piperatsilliin	Vankomütsiin
	Tasobaktaamnaatrium	Mikafungiin
Herpesviiruste vastaseks raviks kasutatavad ühendid	Gantsükloviir	Tsidofoviir
	Valgantsükloviir	Foskarnet
	Atsükloviir	Letermoviir
Immuunosupressant	Azatiopriin	Prednisoon
	Tsüklosporiin	Siroliimus
	Everoliimus	Takroliimus
	Mükofenolaatmofetiil	Mükofenoolhape

Korrelatsioon eri meetodite tulemuste vahel

Testi cobas® EBV toimivust hinnati võrdluses võrdlusanalüüsiga, analüüsides EBV-iga nakatunud patsientide EDTA-plasmaproove. Mõlema testi kvantifitseerimisvahemikku jäävaid EDTA-plasmaproove analüüsiti ühekordsete kordustena. Tehti Demingi regressioonianalüüs.

Demingi regressiooni tulemusi kujutab Joonis 5.

Joonis 5 cobas® EBV regressioonanalüüs võrreldes võrdlusanalüüsiga

Süsteemi veaprotsent

Testi cobas® EBV kogu süsteemi veamäär leiti 100 EDTA-plasma (millesse oli lisatud EBV-positiivset kliinilist proovi) kordust testides. Need proovid testiti kontsentratsioonil $3 \times \text{LoD}$.

Selle uuringu tulemused näitasid, et kõik kordused olid kehtivad ja positiivsed EBV sihtmärgi suhtes, mis annab kogu süsteemi veamääraks 0% (ülemise ühepoolse 95% usaldusvahemikuga 2,95%).

Ristsaastumine

Testi cobas® EBV ristsaastumise taseme määramiseks analüüsiti 240 EBV-negatiivse maatriksproovi kordust ja 225 EBV suure tiitriga proovi kordust ligikaudsel tasemel $2,00\text{E}+07$ IU/ml. Kokku tehti positiivsete ja negatiivsete proovidega viis malelauakonfiguratsioonis tööseeriat.

Kõigi 240 korduse puhul andsid kõik negatiivsed proovid negatiivse tulemuse ja ristsaastumise tase oli 0% (ülemise ühepoolse 95% usaldusvahemikuga 1,24%).

Kliinilise toimivuse hindamine süsteemil cobas® 6800/8800

Testi cobas® EBV reprodutseeritavus

Testi cobas® EBV reprodutseeritavust hinnati tegurite lõikes (reaktiivipartii, testimiskoht, partii ja testimise päevad), mis võivad mõjutada tavapärase kliinilise analüüsiga saadud tulemusi. Hindamine viidi läbi 3 uuringukohas, kasutades 3 reaktiivipartiid positiivsest ja negatiivsest proovipaneelist, mille tulemusel tehti kokku 270 testi (ilma kontrollideta). Paneelid valmistati EDTA-plasmast, mis oli EBV VCA IgG negatiivne, ja neid testiti EBV suhtes plasma NAT väljalaske-protokolli alusel ning rikastati EBV WHO rahvusvahelise standardiga, EBV rakukultuuri supernatandi või EBV DNA-ga lambda fagemiidiga. Iga reaktiivipartiid testisid uuringukeskuses kaks kasutajat 5 päeva jooksul. Iga päev viis iga kasutaja läbi kaks katseseeriat (1 katseseeria = 1 partii; 1 partii = 1 paneel + 3 kontrolli) ja iga paneeliliikme kohta tehti igas katseseerias 3 kordust. Hinnangu tulemused võtab kokku Tabel 19.

Tabel 19 Üldise varieeruvuse (%TV), üldise täpsuse standardhälbe (SD) ja EBV DNA kontsentratsiooni lognormaalse CV ($\log_{10}$ IU/ml) protsent positiivse paneeli liikme järgi

Ootuspärane EBV DNA kontsentratsioon ($\log_{10}$ IU/ml)	Vaadeldud keskmine ^a EBV DNA kontsentratsioon ($\log_{10}$ IU/ml)	Testide arv ^b	Partii %TV ^c (CV%) ^d	Uuringukoht %TV ^c (CV%) ^d	Päev/kasutaja %TV ^c (CV%) ^d	Partii %TV ^c (CV%) ^d	Partiisisene %TV ^c (CV%) ^d	Üldine täpsus SD ^e	Üldine täpsus CV (%) ^d
2,02	2,09	270	11% (11,97)	2% (5,30)	0% (0,00)	3% (6,34)	84% (34,25)	0,158	37,56
3,70	3,68	270	43% (10,07)	15% (5,92)	0% (0,00)	16% (6,23)	26% (7,81)	0,067	15,43
4,70	4,68	270	39% (8,54)	10% (4,24)	0% (0,00)	24% (6,63)	28% (7,18)	0,059	13,70
5,70	5,50	268	7% (11,39)	58% (34,36)	0% (0,00)	21% (20,18)	15% (17,08)	0,191	46,16
7,70	7,76	270	27% (8,63)	15% (6,52)	0% (0,88)	13% (6,01)	45% (11,26)	0,073	16,83

^a Arvutatud protseduuri SAS MIXED kasutades.^b Tuvastatava DNA tasemega kehtivate testide arv.^c %TV = protsentuaalne osakaal üldisest varieeruvusest (%).^d CV% = variatsioonikordaja lognormaalne protsent = $\sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.^e Arvutatud protseduuri SAS MIXED kogu varieeruvuse alusel.

Märkus. Tabelis on ainult tuvastatava DNA tasemega tulemused. SD = standardhälve. CV = variatsioonikordaja; EBV = Epstein-Barri viirus.

cobas® EBV näitas vastava võrdluskontsentratsiooni kohta lubatud kliinilist reprodutseeritavust. Lisaks tuvastas süsteem $3 \times \text{LLoQ}$ -i proovidest 100%. Süsteemid **cobas® 6800** ja **cobas® 8800** on mõlemad moodulkonstruksiooniga ja näitasid võrdväärseid näitajaid **cobas® EBV** kasutamise korral. Samalt isikult võetud 2 mõõtetulemuse erinevuse kõik hinnangulised 95% usalduspiirid (CI-id) olid $\pm 0,53 \log_{10}$ IU/ml ulatuses, mis näitab, et analüüs suudab hinnata EBV DNA tasemete muutusi, mida peetakse kliiniliselt oluliseks.

Süsteemidel **cobas® 6800/8800** tehtud negatiivsete paneeliliikmete 270-st kehtivast testist näitasid 14 proovi (5,19%) $< \text{LLoQ}$ tuvastamisel positiivset tulemust. Tulemusi ei seostatud kindla seadme/koha ega reaktiivipartiiga. Osaliselt pesastatud PCR ja DNA järjestamine kinnitas nendes proovides EBV DNA esinemist.

Testi cobas® EBV toimivus

Testi **cobas® EBV** kliinilist toimivust hinnati edasi kolmes uuringukohas, mõõtes EBV nakkusega ja nakkuseta patsientide kliiniliste proovide (lahjendamata ja lahjendatud) ning EBV-viirusega rikastatud kunstlike EDTA-plasmaproovide EBV DNA taset, võrreldes heakskiidetud laboris arendatud nukleiinhappe testiga (LDT) (EBV LDT võrdlustest). Kõikidest testiga **cobas® EBV** ja EBV võrdlustestiga analüüsitud proovidest oli kokku 464 proovi (72 transplantaadi patsiendi 439 lahjendamata või lahjendatud kliinilist proovi ja 25 kunstlikku proovi), mis said kehtiva tulemuse mõlema analüüsi korral ja olid hinnatavad kliinilise kokkulangevuse analüüsi jaoks.

Tabel 20 Kokkulangevuse analüüs testi **cobas®** EBV ja LDT võrdlustesti vahel kõikide proovide EBV DNA taseme tulemuste kohta

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

Märkus. LLoQ = EBV LDT võrdlustesti alumine kvantifitseerimispiir (100 IU/ml).

EBV LDT võrdlustesti standardhälve hinnanguliselt 0,3 log₁₀ IU/ml (EBV LDT analüütilise täpsuse uuring).

Sellesse tabelisse hõlmati kliiniliseks kokkulangevuse analüüsiks hinnatavad paariproovid.

^a Eeldatav sõltumatus proovide vahel.

CI = usaldusvahemik.

Isikutelt, kelle tulemused olid järjepidevalt nihkes rohkem kui 1 log₁₀ IU/ml võrra, võetud esinduslike proovide DNA järjestus ei näidanud testi **cobas®** EBV puhul ühegi praimeride või sondi sihtmärkide kohta ühtegi järjestuse kokkusobimatust.

Mittekokkulangevad tulemused defineeriti sellistena, mis on diagonaalist rohkem kui ühe kasti kaugusel (seda märgistab varjutus). Tulemuse Target Not Detected by LDT Column Agreement korral kombineeriti lahtrid **cobas®** EBV Target Not Detected ja < LLoQ (< 2). TND tulbale lisati lahtrid < LLoQ ja TND, sest erinevus TND ja < LLoQ vahel ei ole kliiniliselt oluline ning need on analüütiliselt mõõtmisvahemiku alumises otsas, mida võib mõjutada juhuviiga.

43-st EBV LDT võrdlustesti negatiivsest proovist, mis koguti negatiivse kokkulangevuse protsendi (NPA) hindamiseks **cobas®** EBV-ga, olid 41 **cobas®** EBV järgi negatiivsed, mis tähendab, et NPA oli 95,4%, kui 95% täpne CI oli 84,2% kuni 99,4%. Kaks EBV LDT võrdlustesti negatiivset proovi olid **cobas®** EBV järgi positiivsed (< LLoQ) ja täiendava vereanalüüsi alusel seropositiivsed EBV VCA IgG ja EBNA-1 IgG suhtes.

Testi **cobas®** EBV ja EBV LDT võrdlustesti vahelist kokkulangevust hinnati ka erinevate kliiniliste lävendite abil.

Tabel 21 Testi cobas® EBV ja EBV LDT võrdlustesti vahelise kokkulangevuse kokkuvõte, kasutades kõikide proovide puhul erinevaid lävendeid

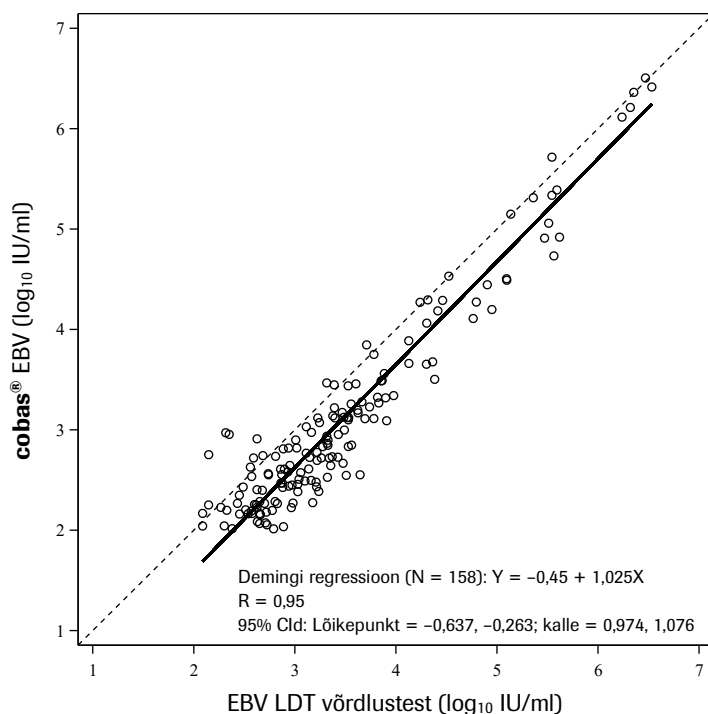
	Protsentuaalne kokkulangevus < lävend 95% CI ^b (n/N)	Protsentuaalne kokkulangevus ≥ lävend 95% CI ^b (n/N)
Target Not Detected	98,5% (134/136) (94,8%, 99,6%)	89,6% (294/328) (85,9%, 92,5%)
LLoQ ^a (2,0 log ₁₀ IU/ml)	98,0% (197/201) (95,0%, 99,2%)	60,8% (160/263) (54,8%, 66,5%)
3,0 log ₁₀ IU/ml	100,0%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

^a LLoQ = EBV LDT võrdlustesti alumine kvantifitseerimispiir (100 IU/ml).

^b CI = usaldusvahemik.

Kõikidest testiga cobas® EBV analüüsitud proovidest, mis olid EBV võrdlustesti järgi EBV positiivsed, oli kokku 158 proovi (28 transplantaadi patsiendi 139 lahjendamata või lahjendatud kliinilist proovi ja 19 kunstlikku proovi), mis olid kolmes uuringukohas korrelatsioonianalüüsiks hinnatavad.

Joonis 6 Korrelatsioon testi cobas® EBV ja EBV LDT võrdlustesti vahel kõikide proovide lõikes: DNA tasemete (log₁₀ IU/ml) Demingi lineaarne regressioonigraafik



Täiendav DNA taseme erinevuste kallutatuse diagrammide analüüs näitas süstemaatilist erinevust kahe analüüsi vahel, mis on konstantne ülekattuva lineaarsusvahemiku lõikes. Kallutatuse diagrammide sobitatud joone lõikepunkti 95% CI oli $-0,456$ kuni $0,104$, mis jääb vahemikku $\pm 0,6 \log_{10}$ IU/ml (± 2 korda EBV LDT võrdlustesti analüütilise täpsuse standardhälve).

Lisaks hinnati keskmine kallutus $-0,364 \log_{10}$ IU/ml juurde ja süsteemne erinevus mõlema analüüsi vahel oli $-0,352 \log_{10}$ IU/ml ja $-0,376 \log_{10}$ IU/ml proovide puhul, mille DNA tase oli vastavalt 3 ja 4 $\log_{10}$ IU/ml.

Süsteemi ekvivalentsus / süsteemi võrdlus

Toimivuse uuringutes näidati süsteemide cobas® 5800, cobas® 6800 ja cobas® 8800 ekvivalentsust. Kasutusjuhendis esitatud tulemused toetavad kõigi süsteemide samaväärset jõudlust.

Lisateave

Testi olulisemad omadused

Proovitüüp	EDTA-plasma
Minimaalne vajalik proovi kogus	375 µl*
Proovi töötlemismaht	200 µl
Analüütiline tundlikkus	18,8 IU/ml
Lineaarsusvahemik	35,0 IU/ml kuni 1E+08 IU/ml
Spetsiifilisus	100%
Tuvastatud genotüübid	EBV genotüübid 1 ja 2

* cobas omni sekundaarsetel katsutitel on määratud 175 µl tühimaht. Teistel analüüsimiseks kasutatud katsutitel võis olla erinev tühimaht ja need võivad vajada rohkem või vähem miinimummahtu. Võtke täiendava teabe saamiseks ühendust kohaliku Roche'i teenindusesindajaga.

Sümbolid

Roche'i PCR diagnostikatoodete märgistamisel kasutatakse järgmisi sümboleid.

Tabel 22 Roche'i PCR diagnostikatoodete märgistamisel kasutatavad sümبولid

Age/DOB	Vanus või sünniaeg		Seade, mis ei ole ettenähtud patsiendi lähedal testimiseks	QS IU/PCR	QS IU PCR-reaktsiooni kohta, kasutage tulemuste arvutamisel QS rahvusvahelisi ühikuid (IU) PCR-reaktsiooni kohta.
	Lisatarkvara		Seade, mis ei ole ettenähtud enesetestimiseks	SN	Seerianumber
Assigned Range [copies/mL]	Etteantud vahemik (koopiat/ml)		Edasimüüja (Märkus. Sümboli all võib olla määratletud vastav riik/piirkond.)	Site	Uuringukoht
Assigned Range [IU/mL]	Etteantud vahemik (IU/ml)		Mitte korduskasutada	Procedure Standard	Standardne protseduur
EC REP	Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses		Naine	STERILE EO	Steriliseeritud etüleenoksiidi kasutades
BARCODE	Vöötkoodi andmeleht		Ainult IVD toimivuse hindamiseks		Hoida pimedas
LOT	Partii number		Globaalne kaubaartikli kood		Temperatuuripiir
	Bioloogilised riskid		Maaletooja		Katsekirjeldusfail
REF	Tootekood	IVD	Meditsiiniline <i>in vitro</i> diagnostikavahend		Siit üles
	CE-vastavusmärgis; see seade vastab meditsiinilisele <i>in vitro</i> diagnostikavahendile kohaldatavatele CE-märgise nõuetele.	LLR	Määratud vahemiku alampiir	Procedure UltraSensitive	Ülitundlik meetod
Collect Date	Kogumise kuupäev		Mees	UDI	Seadme unikaalne identifikaator
	Enne kasutamist lugege juhendit		Tootja	ULR	Määratud vahemiku ülempiir
	Piisab <n> testiks	CONTROL -	Negatiivne kontroll	Urine Fill Line	Uriini täitejoon
CONTENT	Komplekti sisu		Mittesteriilne	Rx Only	Ainult USA-s: seadet on föderaalseaduste alusel lubatud müüa ainult arstile või arsti tellimusel.
CONTROL	Kontroll		Patsiendi nimi		Kasutustähtaeg
	Tootmiskuupäev		Patsiendi number		
	Seade, mis on ettenähtud patsiendi lähedal testimiseks		Rebige siit		
	Seade enesetestimiseks	CONTROL +	Positiivne kontroll		
		QS copies / PCR	QS koopiat PCR-reaktsiooni kohta, kasutage tulemuste arvutamisel QS koopiaid PCR-reaktsiooni kohta.		

Tehniline tugi

Tehnilise toe (abi) saamiseks pöörduge palun oma kohaliku sidusettevõtte poole:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Tootja ja importija

Tabel 23 Tootja ja importija



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

Tehtud USAs



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Kaubamärgid ja patendid

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

Autoriõigus

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Viited

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

Dokumendi redaktsioon

Dokumendi redaktsiooniteave	
Doc Rev. 1.0 03/2022	Esmakordne avaldamine.
Doc Rev. 2.0 09/2022	Uuendatud esileht ja tabelid 2 ning 3 koos lisa P/N kontrollikomplektidele. Uuendatud jaotus Kaubamärgid ja patendid , sh link. Küsimuste tekkimise korral võtke ühendust Roche'i kohaliku esindajaga.

Ohutuse ja toimivuse kokkuvõtte leiab järgmiselt lingilt: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.