

cobas® TaqScreen West Nile Virus Test a cobas s 201 rendszeren történő használatra



IN VITRO DIAGNOSZTIKAI CÉLRA.

cobas® TaqScreen West Nile Virus Test	WNV	96 Tests	P/N: 04741722 190
cobas® TaqScreen West Nile Virus Control Kit	WNV CTL	6 Sets	P/N: 04741749 190
cobas® TaqScreen Wash Reagent	TS WR	5.1 L	P/N: 04404220 190

A cobas® TaqScreen WNV teszttel végzett kadáverminta-teszthez a felhasználónak a fenti készleteken kívül a következő készletre van szüksége:

cobas® TaqScreen Cadaveric Specimen Diluent Kit	CADV SPEC DIL	96 Tests	P/N: 05002125 190
---	---------------	----------	-------------------

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK.....	1
FELHASZNÁLÁS MÓDJA.....	3
A VIZSGÁLAT ÖSSZEGZÉSE ÉS MAGYARÁZATA.....	3
AZ ELJÁRÁS ALAPELVEI.....	3
Automatizált mintacsoportosítás és pipettázás a Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettorral.....	4
Automatizált minta-előkészítés a COBAS® AmpliPrep készülékkel.....	4
Nukleinsavak automatizált amplifikálása a COBAS® TaqMan® analízátor segítségével.....	4
Reverz transzkripció és PCR-amplifikálás.....	4
Szelektív amplifikálás.....	5
A PCR-termékek valós idejű automatizált kimutatása a COBAS® TaqMan® analízátor segítségével.....	5
A PCR-termékek kimutatása.....	5
Automatizált adatkezelés a PDM szoftver segítségével.....	5
A ROCHE ÁLTAL BIZTOSÍTOTT ANYAGOK.....	5
EGYÉB SZÜKSÉGES, DE KÜLÖN KAPHATÓ ANYAGOK (A ROCHE-TŐL BESZEREZHETŐEK).....	7
Műszerezettség és szoftver a cobas s 201 rendszerhez.....	7
Állványok és egyszer használatos anyagok.....	7
REAGENSEK.....	8
TÁROLÁSI ÉS KEZELÉSI KÖVETELMÉNYEK.....	10
ÓVINTÉZKEDÉSEK.....	11
REAGENSEK ELŐKÉSZÍTÉSE.....	12
MINTAVÉTEL, -TÁROLÁS ÉS -CSOPORTOSÍTÁS.....	12
Élő donor minták.....	12
Kadáverminták.....	15
MINTACSOPORTOSÍTÁS ÉS -PIPETTÁZÁS.....	15
ELJÁRÁSSAL KAPCSOLATOS MEGJEGYZÉSEK.....	15
HASZNÁLATI UTASÍTÁS.....	16
MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS.....	19
EREDMÉNYEK.....	20

Másodlagos csoportos vizsgálat	20
ELJÁRÁSSAL KAPCSOLATOS KORLÁTOZÁSOK	21
TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK	21
ÉLŐ DONOR MINTÁK	21
Reprodukálhatóság	21
Analitikai érzékenység – Health Canada standard – 1. törzs	23
Analitikai érzékenység – Roche WNV másodlagos standard – 1. törzs	24
Analitikai érzékenység – CBER/FDA WNV panel – 1. törzs	24
Analitikai érzékenység – a nyugat-nílusi vírus RNS-minősítő panelje (QWN701) – 2. törzs szerint	25
Analitikai specificitás – Potenciálisan keresztreagáló és zavarást okozó mikroorganizmusok	25
Analitikai specificitás – egyéb kórállapotok	26
Potenciálisan zavaró anyagok	26
Endogén zavarást okozó anyagok	26
Exogén zavaró anyagok	27
KADÁVER DONOR MINTÁK	27
Reprodukálhatóság	27
Az analitikai érzékenység kadávermintáknál a Roche WNV másodlagos standardjával	28
Érzékenység	29
KLINIKAI TELJESÍTMÉNY – ÉLŐ DONOR MINTÁK	30
Klinikai érzékenység – az ismerten WNV-pozitív minták klinikai érzékenységének vizsgálata	30
Klinikai specificitás	30
A csoportos vizsgálat eredményei	31
A mintánkénti vizsgálat eredményei	32
HIVATKOZÁSOK	33

Táblázatok listája

1. táblázat: cobas® TaqScreen WNV teszt - reprodukálhatósági eredmények	22
2. táblázat: Az analitikai érzékenység összefoglalása a Health Canada (Kanadai Közegészségügyi Minisztérium) WNV standardjával	23
3. táblázat: Az analitikai érzékenység összefoglalása a Roche WNV másodlagos standardjával	24
4. táblázat: Az analitikai érzékenység összefoglalása a CBER/FDA WNV paneljével	24
5. táblázat: Az analitikai érzékenység összefoglalása a nyugat-nílusi vírus RNS-minősítő panelje (QWN701) – 2. törzs szerint	25
6. táblázat: Vizsgált mikroorganizmusok	26
7. táblázat: A reprodukálhatóság összefoglalása kadáverminták és élő donor minták esetében – Eredmények készlettel szerint	27
8. táblázat: A reprodukálhatóság összefoglalása kadáverminták és élő donor minták esetében – Eredmények felhasználó-készülék párok szerint	27
9. táblázat: A cobas® TaqScreen WNV vizsgálat specificitási vizsgálatának összefoglalása kadáver- és élő donor minták esetében	28
10. táblázat: Az analitikai érzékenység összefoglalása a Roche WNV másodlagos standardjával mérsékelt hemolizált kadávermintákban	29
11. táblázat: Az analitikai érzékenység összefoglalása a Roche WNV másodlagos standardjával nagy fokban hemolizált mintamátrixnál	29

12. táblázat: A WNV vizsgálat érzékenységeinek összefoglalása mérsékelt hemolizált (MH) és nagy fokú hemolizált (HH) kadáverminták esetében	30
13. táblázat: Az ismert WNV-pozitív minták klinikai érzékenysége.....	30
14. táblázat: A cobas ® TaqScreen WNV teszt klinikai specifikitása csoportos vizsgálat esetén ...	31
15. táblázat: A cobas ® TaqScreen WNV teszt klinikai specifikitása mintánkénti vizsgálat esetén	32

FELHASZNÁLÁS MÓDJA

A **cobas**® TaqScreen WNV teszt, amelyet a **cobas s** 201 rendszerrel való használatra terveztek, egy kvalitatív *in vitro* vizsgálat a nyugat-nílusi vírus (West Nile Virus, WNV) RNS-ének közvetlen kimutatására humán vérplazmából.

A vizsgálat célja a donorok szűrése során a WNV RNS kimutatása egy-egy véradó plazmamintáiból, beleértve a teljes vér, valamint a véralkotórészek donorait és az egyéb élő donorokat. A vizsgálat használható továbbá szervdonorok szűrésére is, amennyiben a vizsgálandó plazmamintákat akkor vették le, amikor a donor szíve még dobogott, valamint kadáver (megszűnt szívűködésű) szerv- és szövetdonorok esetén a plazma- és szérumbmintákat csak különálló mintaként lehet vizsgálni.

A szűrés során az összes donortól származó plazmát egyéni mintaként kell kezelni. Teljes vér és véralkotórészek donorainak esetében a plazmamintákat hatnál nem több egyéni minta egyenlő részeitől álló csoportokon lehet vizsgálni. Kadáver (megszűnt szívűködésű) szerv- és szövetdonorok esetén a plazma- és szérumbmintákat csak különálló mintaként lehet vizsgálni.

Ez a vizsgálat nem a diagnózis elősegítésére való.

A VIZSGÁLAT ÖSSZEGZÉSE ÉS MAGYARÁZATA

A nyugat-nílusi vírus a Flaviviridae család és a Flavivirus nemzetség, valamint a japán encephalitis vírus szerokomplex tagja. Az ebbe a komplexbe tartozó vírusok arbovírusok, és okozhatnak agyhártyagyulladást, agyvelőgyulladást vagy agyhártya- és agyvelőgyulladást. A japán encephalitis csoporthoz tartozik a japán encephalitis vírus, a Murray Valley encephalitis vírus, a Kunjin (amelyről ma már tudjuk, hogy a WNV egy változata) és a St. Louis encephalitis vírus; az utóbbi az 1970-es évek közepén agyvelőgyulladás-járványt okozott az Egyesült Államokban^{1,2}.

A **cobas**® TaqScreen WNV teszt egy minőségi vizsgálat, amely lehetővé teszi a WNV RNS fertőzött csoportos vagy különálló mintákban történő szűrését és kimutatását. A **cobas**® TaqScreen WNV teszt általános nukleinsav-előkészítési eljárást alkalmaz a COBAS® AmpliPrep készüléken. Ezt követően a COBAS® TaqMan® analízátoron a WNV RNS-t automatizált, valós idejű PCR-amplifikálással mutatja ki. Az eljárás belső kontrollt tartalmaz, ami minden egyes vizsgálat során monitorozza a teljesítményt, és a korábban amplifikált anyag (amplikon) által okozott potenciális szennyezés csökkentésére AmpErase enzimet használ.

AZ ELJÁRÁS ALAPELVEI

A **cobas s** 201 rendszeren használt **cobas**® TaqScreen WNV teszt 4 fő eljárásból áll:

1. Automatizált mintacsoportosítás és kontrollpipettázás a Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD pipettorral
2. Automatizált minta-előkészítés a COBAS® AmpliPrep készülékkel
3. Nukleinsavak automatizált amplifikációja és PCR termékek valós idejű kimutatása a COBAS® TaqMan® analízátorral
4. Automatizált adatkezelés a csoportosított és adatkezelő (Pooling and Data Management, PDM) szoftverrel

Automatizált mintacsoportosítás és pipettázás a Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettorral

A Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettor automatizálja a csoportos és egyéni donorminták pipettázását, a aliquot-ok átvitelét mély lyukú lemezekre (opcionális) és a vizsgálati kontrollok pipettázását. A **cobas s 201** rendszert a reaktív csoportok megerősítő vizsgálatára, valamint a reaktív egyéni minták azonosítására használják. A **cobas s 201** rendszert a minták tételekben történő feldolgozására tervezték. Egy tétel meghatározása a minták és kontrollok olyan gyűjteménye, amelyek pipettázása, kivonása, amplifikációja és kimutatása egyszerre zajlik. Az egyes tételek Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettorral végzett pipettázását követően az egész mintaállvány a COBAS® AmpliPrep készülékbe kerül, ahol megtörténik az eljárás következő szakasza.

Megjegyzés: *Kadáverminták vizsgálatakor a Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettor alkalmazását megelőzően el kell végezni a minták 1:5 arányú cobas® TaqScreen kadáverminta-oldószerben (CADV SPEC DIL) történő manuális hígítását.*

Automatizált minta-előkészítés a COBAS® AmpliPrep készülékkel

A targetből és a hozzáadott Armored RNA belső kontroll (internal control, IC) molekulákból (amely a minta-előkészítési és amplifikációs/kimutatói eljárás során kontrollként szolgál) származó nukleinsavak feldolgozása egyszerre zajlik. A **cobas® TaqScreen WNV** teszt reagensei segítségével öt egymást követő lépés megy végbe a COBAS® AmpliPrep készüléken. A proteázoldat a fehérjék emésztésével elősegíti a lízist, inaktiválja a nukleázokat és lehetővé teszi az RNS és DNS felszabadítását a vírusrészekből. A lízisreagens hozzáadása a vírusok lízisét és a nukleázok inaktiválását eredményezi a fehérjék denaturálása által a mintában. Az RNS és DNS felszabadul és egyidejűleg védve van a nukleázok hatásától. A felszabadult nukleinsavak a hozzáadott mágneses üvegpartikulumok szilikonfelületéhez kötnek. Ez elsősorban az üvegpartikulumok felszínének nettó pozitív töltése és a nukleinsavak nettó negatív töltése miatt következik be a kaotróp sókoncentráció alatt és a lízisreakció ionerőssége miatt. A mosóreagens eltávolítja a nem kötött anyagokat és a szennyeződések, mint denaturált fehérjék, sejttermékek és lehetséges PCR inhibitorok (például hemoglobin stb.), valamint csökkenti a sókoncentrációt. A tisztított nukleinsavakat az eluáló puffer szabadítja fel emelt hőmérsékleten a mágneses üvegpartikulumokról.

Nukleinsavak automatizált amplifikálása a COBAS® TaqMan® analizátor segítségével

Az automatizált minta-előkészítés során a tisztított nukleinsavak izolálását követően a **cobas® TaqScreen WNV Master Mix (WNV MMX)** amplifikálja és mutatja ki a WNV RNS-t és IC RNS-t. A mangán-acetátos aktiválást követően a WNV MMX lehetővé teszi a reverz transzkripciót, majd a WNV RNS és IC RNS nagy fokban konzervált régióinak PCR-amplifikálását specifikus primerekkel. Az amplifikált DNS párhuzamos kimutatása a WNV MMX-ben ugyancsak jelenlevő WNV- és IC-specifikus próbák 5'-nukleotidikus bontása során keletkező fluoreszcens jelek segítségével történik. Két fluoreszcens festéket használnak: az egyik festék az IC próbát jelöli, a másik a targetspecifikus próbát. Ez lehetővé teszi a WNV és az IC egymástól független azonosítását.

Reverz transzkripció és PCR-amplifikálás

A reverz transzkripció és amplifikációs reakciókat egy hőstabil rekombináns enzim, a Z05 DNS-polimeráz végzi. Mangán (Mn^{2+}) jelenlétében a Z05 DNS-polimeráz reverz transzkriptáz és DNS-polimeráz aktivitással rendelkezik. Ez lehetővé teszi, hogy a reverz transzkripció és a PCR-amplifikálás ugyanazon reakcióelegyen menjen végbe.

A PCR-amplifikálás a Z05 DNS-polimeráz segítségével megy végbe, amely a targettemplátok mentén meghosszabbítja a kapcsolódott primereket és dupla szálú DNS-t (amplikon) hoz létre. Ez a folyamat sok cikluson keresztül ismétlődik, és az amplikon DNS mennyisége minden ciklus során megduplázódik. Az targetgenomok amplifikálása csak a primerek közötti régióknak zajlik; a teljes genom nem amplifikálódik.

Szelektív amplifikálás

A mintában található targetnukleinsav szelektív amplifikálását a **cobas®** TaqScreen WNV teszt AmpErase (uracil-N-glikoziláz) enzim és deoxiuridin-trifoszfát (dUTP) segítségével végzi. Az AmpErase enzim felszéri és katalizálja az olyan DNS-szálat lebontását, amelyek deoxiuridint³ tartalmaznak, a deoxitimidint tartalmazó DNS-ét és a ribouridint^{4,5} tartalmazó RNS-ét viszont nem. A deoxiuridin a természetes DNS-ben nincs jelen, ugyanakkor az amplikonokban mindig megtalálható, mert a WNV MMX reagensben lévő dNTP-k egyikeként deoxiuridin-trifoszfátot használ timidin-trifoszfáttal; így csak az amplikonok tartalmaznak deoxiuridint. A deoxiuridinnak köszönhetően a szennyező amplikont az AmpErase enzim még a target RNS amplifikálását megelőzően lebontja. Az AmpErase enzim továbbá minden olyan nem specifikus terméket lebont, amely a WNV MMX kezdeti, mangán okozta aktiválódása után képződik. A WNV MMX reagensben lévő AmpErase enzim azért katalizálja a deoxiuridin tartalmazó DNS hasítását a deoxiuridin-csoportoknál, hogy a deoxiribózláncot a C1 helyen felnyitja. Az első hevítési lépésben az amplikon DNS-lánc a deoxiuridin helyén eltörik, tehát a DNS nem lesz amplifikálható. Az AmpErase enzim, ha egyszer 55 °C feletti hőmérsékletnek lett kitéve, hosszabb ideig inaktív marad, ezért nem semmisíti meg a PCR után képződött targetamplikont.

A PCR-termékek valós idejű automatizált kimutatása a COBAS® TaqMan® analízátor segítségével

A PCR-amplifikálás ciklusai során a váltakozó magas hőmérsékleten a target- és IC-amplikon denaturálódik, és egyszálú DNS-molekula keletkezik. A specifikus kimutatási oligonukleotid próbák az amplifikált DNS egyszálú molekuláihoz hibridizálnak. Az amplifikálás, hibridizáció és kimutatás egymással egyidőben zajlik.

A PCR-termékek kimutatása

A **cobas®** TaqScreen WNV MMX a WNV és az IC nukleinsavhoz specifikus kimutatási próbákat alkalmaz. Mindegyik kimutatási próbát két fluoreszcens festék jelöl; az egyik a jelzőfesték, a másik a blokkolófesték. Az egyik jelzőfesték a targetspecifikus próbákhoz kapcsolódik. Ezt egy meghatározott hullámhosszon mérik. A másik jelzőfesték az IC-specifikus próbához kapcsolódik. Ezt másik hullámhosszon mérik. Mindkét próbához egyféle blokkolófestéket használnak. A rendszer lehetővé teszi, hogy az amplifikált WNV-target egy hullámhosszon, az amplifikált IC nukleinsav pedig másik hullámhosszon legyen egyszerre kimutatható.

A PCR-amplifikálás kezdete előtt a próbák még érintetlenek, és a blokkoló festék a jelzőfesték fluoreszcenciáját Förster-típusú energiatranszfer-effektus révén gátolja. A PCR-amplifikálás során a próbák a specifikus, egyszálú DNS-szekvenciákhoz hibridizálnak, amit az amplifikálással egyidőben a Z05 DNS-polimeráz 5' – 3' nukleázaktivitása hasít. Amint a hasítás következtében a jelző- és a gátlófesték elválik, a jelzőfesték fluoreszcens aktivitásának gátlása megszűnik. Minden egyes PCR-ciklus során megméri a hasított próbák mennyisége, és ennek velejárójaként növekszik a jelzőfesték származó jel összesített nagysága is.

A PCR-termékek valós idejű kimutatása a felszabadult, WNV-targeteket és IC-t egymástól függetlenül reprezentáló jelzőfestékek fluoreszcenciájának mérésével történik.^{6,7}

Automatizált adatkezelés a PDM szoftver segítségével

A Roche PDM adatkezelő lehetővé teszi, hogy a felhasználó áttekinthesse az eredményeket és jelentést készítsen. A Roche PDM Data Manager minden vizsgálati eredményt nem reaktív, reaktív vagy érvénytelen jelöléssel lát el. A PCR-eredmények lekérésén és vizsgálatán felül a Roche PDM szoftver lehetővé teszi, hogy a felhasználó a jelentéseket nyomtassa, az eredmények között keresen, a donoreredményeket elfogadja, illetve egy LIS-re továbbítsa.

A ROCHE ÁLTAL BIZTOSÍTOTT ANYAGOK

A WNV RNS plazmamintákban történő kimutatásához három készlet szükséges és áll rendelkezésre:

(1) **cobas®** TaqScreen WNV teszt, (2) **cobas®** TaqScreen WNV kontrollkészlet, és (3) **cobas®** TaqScreen mosóreagens. A biztonsági adatlapok (SDS) igény esetén hozzáférhetőek a helyi Roche irodában.

cobas® TaqScreen West Nile Virus Test
(P/N: 04741722 190)

WNV

96 teszt

WNV CS1
(WNV mágneses üvegpartikulum-reagenskazetta)

WNV CS2
(WNV lízisreagens-kazetta)

WNV CS3
(WNV többreagenses kazetta)

WNV CS4
(WNV vizsgálatspecifikus reagenskazetta)

cobas® TaqScreen West Nile Virus Control Kit
cobas® TaqScreen WNV kontrollkészlet
(P/N: 04741749 190)

WNV CTL

6 szett

WNV (+) C
(WNV pozitív kontroll)

WNV (-) C
[WNV negatív kontroll (humán plazma)]

cobas® TaqScreen Wash Reagent
cobas® TaqScreen mosóreagens
(P/N: 04404220 190)

TS WR

5,1 l

TS WR
(cobas® TaqScreen mosóreagens)

Megjegyzés: A WNV RNS kadávermintából való kimutatásához a csomagban mellékelte
következő készletre van szükség a fentiekén kívül: cobas® TaqScreen
kadáverminta-oldószerkészlet.

cobas® TaqScreen Cadaveric Specimen Diluent Kit
cobas® TaqScreen kadáverminta-oldószerkészlet
(P/N: 05002125 190)

CADV SPEC DIL

96 teszt

CADV SPEC DIL
(cobas® TaqScreen kadáverminta-oldószer)

EGYÉB SZÜKSÉGES, DE KÜLÖN KAPHATÓ ANYAGOK (A ROCHE-TŐL BESZEREZHETŐEK)

A vizsgálatot a **cobas s 201** rendszeren kell végezni. A **cobas s 201** rendszert a Roche Diagnostics helyi szervizképviselőjének kell telepítenie, és teljes rendszer-konfigurációként kell használni. A **cobas s 201** rendszer egyes komponensei nem használhatók különálló készülékként, és más komponensek sem helyettesíthetők. A **cobas s 201** rendszer az alábbi komponenseket használja. További részleteket a termékinformációkat tartalmazó kártyán talál.

Műszerezettség és szoftver a cobas s 201 rendszerhez

- Hamilton MICROLAB STAR és/vagy STARlet IVD pipettor (opcionális), Pooling Manager munkaállomás és szoftver
- COBAS® AmpliPrep készülék
- COBAS® TaqMan® analízátor
- AMPLILINK szoftver adatállomás és szoftver
- Roche PDM adatkezelő szerver, Data Manager munkaállomás és szoftver
- A **cobas s 201** Configuration D rendszer felhasználói kézikönyve
- WNV vizsgálatdefiníciós fájl a COBAS® TaqScreen WNV vizsgálatához

Állványok és egyszer használatos anyagok

- COBAS® AmpliPrep mintaállványok (SK24) (P/N: 28122172001)
- COBAS® AmpliPrep SPU-állványok (P/N: 05471664001)
- COBAS® AmpliPrep reagensállványok (P/N: 28122199001)
- Mintafeldolgozó egységek (SPU): (P/N: 03755525001)
- Mintabeviteli csövek (S-csövek) vonalkódklipszekkel (P/N: 03137040001)
- K-hegy állványok (P/N: 03287343001)
- K-cső doboz 12 x 96 (P/N: 03137082001)
- COBAS® TaqMan® K-hordozó (P/N: 28150397001)
- Nagy térfogatú CO-RE hegyek (1000 µl), filter (P/N: 04639642001)
- Mély lyukú lemezek vonalkódcímkékkel (P/N: 04639634001)
- Mély lyukú lemezek zárótetejei (P/N: 04789288001)
- Mintahordozó 24 vizsgálati cső számára (P/N: 04639502001)
- Mintahordozó 32 vizsgálati cső számára (P/N: 04639529001)
- Hegyhordozó (P/N: 04639545001)
- Mély lyukú lemez hordozó (P/N: 04639553001)
- SK24 állványhordozó (P/N: 04639600001)
- Microcide SQ™ vagy HAMILTON fertőtlenítő spray (P/N: 04592557001)
- Egyszer használatos kesztyűk, púdermentes

REAGENSEK

cobas® TaqScreen West Nile Virus Test
(P/N: 04741722 190)

WNV

96 teszt

WNV CS1

MGP

(mágneses üvegpartikulumok)

Mágneses üvegpartikulumok

93% izopropanol

Xi 93% (w/w) izopropanol



Irritatív

F 93% (w/w) izopropanol



Fokozottan
tűzveszélyes

2 x 48 teszt

2 x 7,0 ml

WNV CS2

LYS

(lízisreagens)

Nátrium-citrát-dihidrát

42,5% guanidin-tiocianát

< 14% polidokanol

0,9% ditiotritol

Xn 42,5% (w/w) guanidin-tiocianát



Ártalmas

2 x 48 teszt

2 x 78 ml

WNV CS3

Pase

(proteinázoldat)

trisz puffer

< 0,05% EDTA

Kalcium-klorid

Kalcium-acetát

≤ 7,8% proteináz

Glicerín

Xn ≤ 7,8% (w/w) proteináz



Ártalmas

2 x 48 teszt

2 x 3,8 ml

WNV EB

2 x 7,0 ml

(WNV eluáló puffer)

triszf puffer

≤ 0,002% poli-rA RNS (szintetikus)

EDTA

0,09% nátrium-azid

WNV CS4**2 x 48 teszt****WNV MMX**

2 x 2,5 ml

(WNV Master Mix)

Tricin puffer

Kálium-acetát

Glicerín

< 18% dimetil-szulfoxid

< 0,07% dATP, dCTP, dGTP, dUTP

< 0,002% upstream és downstream WNV primerek

< 0,002% fluoreszcensen jelölt WNV próba

< 0,002% fluoreszcens-jelölt belső kontroll próba

< 0,002% oligonukleotid aptamer

< 0,05% Z05 DNS-polimeráz (mikrobiális)

< 0,1% AmpErase (uracil-N-glikoziláz) enzim (mikrobiális)

0,08% nátrium-azid

WNV Mn²⁺

2 x 19,8 ml

(WNV manganoldat)

< 0,6% mangan-acetát

Jégecet

0,09% nátrium-azid

WNV IC

2 x 3,6 ml

(WNV belső kontroll)

triszf puffer

≤ 0,002% poli-rA RNS (szintetikus)

EDTA

0,05% nátrium-azid

< 0,001% nem fertőző, szintetikus belső kontroll RNS,

MS2 bakteriofág burokkérgébe csomagolva

cobas® TaqScreen West Nile Virus Control Kit

cobas® TaqScreen WNV kontrollkészlet
(P/N: 04741749 190)

WNV CTL

6 szett**WNV (+) C**

6 x 1,1 ml

(WNV pozitív kontroll)

TRISZ puffer

≤ 0,002% poli-rA RNS (szintetikus)

EDTA

0,05% nátrium-azid

< 0,001% nem fertőző, szintetikus WNV RNS, MS2
bakteriofág burokfehérjébe csomagolva

WNV (-) C

12 x 1,6 ml

[WNV negatív kontroll (humán plazma)]

Negatív humán plazma, engedélyezett vizsgálatok alapján
nem reaktív HCV antitestre, HIV-1/2 antitestre és
HBsAg-re; WNV RNS PCR-technikával nem mutatható ki

0,1% ProClin® 300 tartósítószer

Xi 5-klór-2-metil-2H-izotiazol-3-on és

2-metil-2H-izotiazol-3-on (3:1) keveréke



Irritatív

R36/38: Szem- és bőrizgató hatású.

R43: Bőrrel érintkezve túlérzékenységet okozhat (szenzibilizáló hatású lehet)

cobas® TaqScreen Wash Reagent

cobas® TaqScreen mosóreagens
(P/N: 04404220 190)

TS WR

5,1 l**TS WR**

(cobas® TaqScreen mosóreagens)

Nátrium-citrát-dihidrát

0,1% metilparabén tartósítószer

cobas® TaqScreen Cadaveric Specimen Diluent Kit

cobas® TaqScreen kadáverminta-oldószerkészlet
(P/N: 05002125 190)

CADV SPEC DIL

96 teszt**CADV SPEC DIL**

4 x 100 ml

(cobas® TaqScreen kadáverminta-oldószer)

EDTA

TÁROLÁSI ÉS KEZELÉSI KÖVETELMÉNYEK

- A. A megadott szobahőmérséklet 15–30 °C.
- B. A reagenseket és kontrollokat ne fagyassza le.
- C. A **WNV CS1**, **WNV CS2**, **WNV CS3** és **WNV CS4** reagenseket 2 és 8 °C között tárolja. A fel nem bontott reagensek a feltüntetett lejárati időn belül stabilak.
- D. Felbontást követően a reagensek 2–8 °C-on 30 napig stabilak (vagy a lejárati dátumig, amelyik előbb következik).

- E. A reagenseket a COBAS® AmpliPrep készüléken legfeljebb 6 vizsgálati futtatás alkalmával és összesen legfeljebb 40 órán át lehet felhasználni. A futtatások között a reagenseket 2 és 8 °C között tárolja. Az AMPLILINK szoftver méri a reagenskazetták COBAS® AmpliPrep készülékben töltött összesített idejét, és a 40. összesített óra elérése után meggátolja a kazetták felhasználását.
- F. A COBAS® AmpliPrep készülékben a reagens egyhuzamban összesen 24 órán keresztül maradnak stabilak. Az AMPLILINK szoftver sem a reagenskazetták készülékben töltött folyamatos idejét, sem a kazettákat felhasználó gépi ciklusok számát nem ellenőrzi. A felhasználó felelőssége, hogy a 24 folyamatos óra vagy 6 gépi ciklus elérése után kidobja a reagenskazettákat.
- G. A **WNV (+) C** és **WNV (-) C** reagenseket 2–8 °C között tárolja. A kontrollok a feltüntetett lejárati időn belül stabilak. Felbontást követően a fel nem használt részt ki kell dobni.
- H. A **TS WR** reagenst 15 és 30 °C között tárolja. Felbontás nélkül a **TS WR** reagens a feltüntetett lejárati időn belül stabil. Felbontást követően ez a reagens 15 és 30 °C között 30 napig illetve a lejárati dátumig stabil, amelyek előbb következnek.
- I. A **CADV SPEC DIL** oldószert 15–30 °C között tárolja. Az oldószert felbontás nélkül a feltüntetett lejárati időn belül stabil. Felbontást követően a tartályban maradt fel nem használt oldószert ki kell dobni.

ÖVINTÉZKEDÉSEK

IN VITRO DIAGNOSZTIKAI CÉLRA.

- A. A minták fertőzőek lehetnek. A vizsgálat végzése során tegye meg az általános övintézkedéseket^{5,9}. Ezt a vizsgálatot csak a **cobas®** TaqScreen WNV teszt használatában jártas és fertőző anyagok kezelésében képzett személy végezheti. Gondosan tisztítson meg, és desztillált vagy ioncserélt vízből frissen készített 0,5% nátrium-hipoklorit oldattal fertőtlenítsen minden laboratóriumi munkafelületet. Ezután törölje át 70%-os etanollal a felületet.
- B. **FIGYELMEZTETÉS: A WNV (-) C emberi vérből származó humán plazmát tartalmaz. A forrásanyag tesztekkel vizsgálva nem bizonyult reaktívnak HIV-1/2 antitestre, HCV antitestre és HBsAg-re. A negatív humán plazma PCR-technikával történő vizsgálata során WNV RNS nem volt kimutatható. Egyetlen ismert vizsgálati módszer sem nyújthat teljes garanciát arra, hogy a humán vérkészítményekben nincs jelen fertőző anyag. Minden humánvér-eredetű anyagot potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és az általános övintézkedések szerint kezelni. Kiömlés esetén azt azonnal fertőtlenítsen frissen készített 0,5%-os nátrium-hipoklorit oldattal (hígított fehérítőszert), illetve kövesse a megfelelő helyszíni eljárásokat.**
- C. Alkalmazza a szokásos laboratóriumi övintézkedéseket. Ne pipetázzon szájjal. Ne egyen, igyon vagy dohányozzon a kijelölt munkaterületen. Viseljen egyszer használatos kesztyűt, köpenyt és szemvédőt a minták és a készlet reagensjeinek kezelése közben. A minták és tesztreagens kezelését követően gondosan mosson kezet.
- D. A **WNV EB**, **WNV MMX**, **WNV Mn²⁺**, **WNV IC** és **WNV (+) C** tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaz. Ne használjon fém vezetőkezelést a reagenstranszferhez. Amennyiben azidot tartalmazó oldatot önt a vízvezeték-hálózatba, hígítsa azt fel, és öblítse le nagy mennyiségű folyóvízzel. Ezek az övintézkedések arra szolgálnak, hogy elkerülje az üledék lerakódását a fém csővezetékben, ahol azáltal robbanásra alkalmas körülmények alakulhatnak ki.
- E. **A heparinról kimutatták, hogy gátolja a PCR-t. Az eljáráshoz ne használjon heparinos plazmát.**
- F. Steril, egyszer használatos pipetták és nukleázmentes pipettahegyek használata javasolt. Ápóztív eredmények fordulhatnak elő, ha nem ügyel a minták keresztszennyeződésének elkerülésére a mintakezelés és -feldolgozás során.
- G. Az optimális vizsgálati feltételek biztosítása érdekében csak a szállított vagy az előírtan szükséges egyszer használatos eszközöket alkalmazza.

- H. A minták és kontrollok keresztszennyeződésének elkerülésére kezeljen minden mintát és kontrollt tartalmazó anyagot a helyes laboratóriumi gyakorlat (GLP) szerint.
- I. Felhasználás előtt szemrevételezzen minden reagenskazettát, kontrollcsövet és mosóreagenst, hogy nem tapasztal-e szivárgásra utaló jeleket. Szivárgás esetén azt az anyagot ne használja fel a vizsgálathoz.
- J. Minden anyagot, amely mintákkal vagy reagensekkel kapcsolatba került, az országos, szövetségi, állami és helyi szabályozások szerint semmisítsen meg.
- K. Ne használjon lejárt **cobas®** TaqScreen WNV tesztet, **cobas®** TaqScreen WNV kontrollkészletet, **cobas®** TaqScreen mosóreagenst vagy **cobas®** TaqScreen kadáverminta-oldószerkészletet. A különböző készletekből származó, illetve eltérő tételszámú reagentek felcserélése, összekeverése vagy kombinálása tilos. Ne töltsön kevert tételszámú reagenteket a COBAS® AmpliPrep készülékbe.
- L. A biztonsági adatlapok (SDS) igény esetén hozzáférhetőek a helyi Roche irodában.
- M. Kerülje a reagentek bőrrel, szemmel vagy nyálkahártyákkal való érintkezését. **Ha érintkezésbe kerülnek, azonnal mossa le nagy mennyiségű vízzel, mert ellenkező esetben égési sérülés történhet.** Ha a reagentek kiömlenek, szárazra törés előtt higítsa őket vízzel. **Ne engedje, hogy a LYS reagens, amely guanidin-tiocianátot tartalmaz, nátrium-hipoklorit (fehértözer) oldattal érintkezzen. Az ilyen keverékből erősen mérgező gáz fejlődhet.**
- N. A vizsgálat helyes kivitelezésének biztosítása végett szigorúan tartsa be a megadott eljárásokat és irányelveket. A megadott eljárásoktól és irányelvektől való bármilyen eltérés befolyásolhatja a vizsgálat teljesítményét.
- O. Ne használjon nagymértékben hemolizált élő donor mintákat.
- P. A plazmaminták vörösvértest-szennyezettsége (> 5%) gátolhatja a **cobas®** TaqScreen WNV tesztet.
- Q. A vizsgálat egyik szakaszában se használjon sérült vonalkódú összetevőket.
- R. Kadáver donor eredetű minták vizsgálatakor a minták osztályozása: a szalmasárgától a rózsaszínűig mérsékelten hemolizált minta, a pirosától a sötétpiros, illetve barna színűig pedig nagyfokban hemolizált minta.

REAGENTSEK ELŐKÉSZÍTÉSE

- A. Használat előtt 30 percig hagyja, hogy a **cobas®** TaqScreen WNV reagentek és kontrollok felvegyék a szobahőmérsékletet.

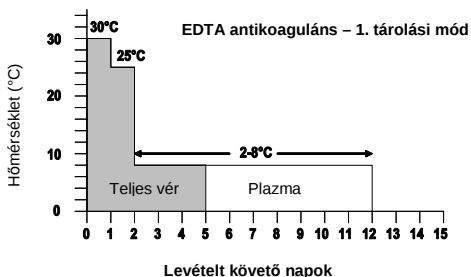
MINTAVÉTEL, -TÁROLÁS ÉS -CSOPORTOSÍTÁS

Megjegyzés: Minden mintát fertőző anyagnak kell kezelni.

Élő donor minták

- A. A **cobas®** TaqScreen WNV tesztrel EDTA, BD EDTA PPT, CPD, CPDA1, CP2D, ACDA és 4% nátrium-citrát antikoagulánsal levett plazmamintákat használhat. Kövesse a mintacső gyártójának utasításait. A minták stabilitását befolyásolja a magasabb hőmérséklet.
- B. A K2 EDTA és K3 EDTA antikoagulánsban gyűjtött vér tárolása háromféle módon történhet:

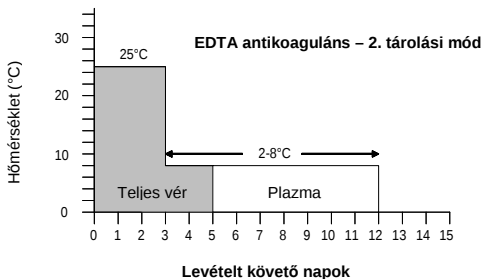
1. tárolási mód: a plazmasejtektől való elválasztást megelőzően a vér 2–30 °C-on legfeljebb 24 óráig, majd 2–25 °C-on további 24 óráig, majd 2–8 °C-on további 72 óráig tárolható. Az öt napnál hosszabb tároláshoz centrifugálással válassza el a plazmát a vörösvértestektől (800–1600 x g, 20 perc). A eltávolítást követően a plazma 2–8 °C között legfeljebb 7 napig, majd ≤ –20 °C-on további 30 napig tárolható.



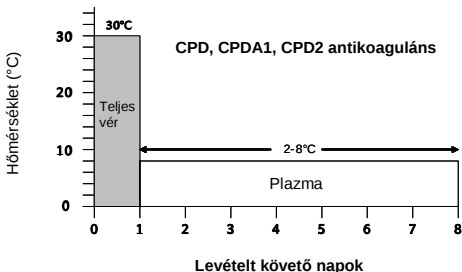
2. tárolási mód: a plazmasejtektől való elválasztást megelőzően a vér 2–25 °C-on legfeljebb 72 óráig, majd 2–8 °C-on további 48 óráig tárolható. Az öt napnál hosszabb tároláshoz centrifugálással válassza el a plazmát a vörösvértestektől (800–1600 x g, 20 perc). A eltávolítást követően a plazma 2–8 °C között legfeljebb 7 napig, majd ≤ –20 °C-on további 30 napig tárolható.

3. tárolási mód: a centrifugálást megelőzően a BD EDTA PPT csövekbe levett vér 2–25 °C-on legfeljebb 24 óráig tárolható a gyártó utasításai szerint. A centrifugálást követően a BD EDTA PPT csövek 2–8 °C-on nyolc napig tárolhatók.

A K2 EDTA és K3 EDTA plazma legfeljebb három (3) alkalommal fagyasztható le és olvasztható fel. A BD EDTA PPT csövek esetében nem vizsgálják a fagyasztás/olvasztás következményeit.



C. A CPD, CPDA1 és CP2D antikoagulánssal levett vér a plazma elválasztását megelőzően 2–30 °C-on legfeljebb 24 óráig tárolható. Az egy napnál hosszabb tároláshoz centrifugálással válassza el a plazmát a vörösvértestektől (800–1600 x g, 20 perc). Az elválasztást követően a plazma 2–8 °C-on tárolható 7 napig, majd ≤ –20 °C-on további legfeljebb 30 napig. Ha a vörösvértestektől elválasztott plazmát hosszabb ideig akarja tárolni, ezt ≤ –70 °C-on legfeljebb 30 hónapig teheti meg. A CPD, CPDA1 és CP2D tartalmú plazma legfeljebb három (3) alkalommal fagyasztható le és olvasztható fel.



- D. Az ACDA vagy 4% nátrium-citrát antikoagulánst tartalmazó elválasztott plazma a levételt követően 2–30 °C-on legfeljebb 24 órán át tárolható. Az elválasztott plazma ≤ -20 °C-on legfeljebb 30 napig tárolható. Az ACDA vagy 4% nátrium-citrátot tartalmazó elválasztott plazma legfeljebb három (3) alkalommal fagyasztható le és olvasztható fel.
- E. A következő, plazmatérfogatokra vonatkozó előírások 13 x 100 mm-es üveg vagy műanyag donorcsővekből Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettorral történő pipettázáson alapulnak. A felsorolt mennyiségek a leülepedett vörösvértestek fölötti plazmára vonatkoznak, és a **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt futtatásakor kell őket alkalmazni.

Csoporttípus	Legkisebb plazmatérfogat
Elsődleges 6 tagú csoport*	3 ml
Elsődleges 1 tagú csoport*	3 ml
Ismételt csoport csőből	1,5 ml
Megerősítő csoport csőből	2 ml

*Mély lyukú lemezt használva

- F. **A teljes vért nem szabad lefagyasztani.**
- G. **A heparinról kimutatták, hogy gátolja a PCR-t. A heparinos minták használata nem ajánlott.**
- H. A lefedett mély lyukú lemezek 2–8 °C-on legfeljebb hét napig tárolhatók attól az időponttól számítva, amikor a plazmát a vörösvértestekről eltávolították. Ha a lefedett mély lyukú lemezeket hosszabb ideig akarja tárolni, ezt ≤ -18 °C-on teheti.
- I. A háromszori (3) fagyasztás–olvasztás ciklusnak kitett plazmamintáknál a vizsgálat szempontjából semmiféle nemkívánatos hatást nem figyeltek meg.
- J. Hagyja, hogy a csoportosított vagy egyéni donorminták felhasználás előtt felvegyék a szobahőmérsékletet.
- K. Ha a mintákat szállítani kell, a minták és kórokozó anyagok szállítására vonatkozó szövetségi és nemzetközi előírásoknak megfelelően kell csomagolni és címkézni.¹⁰
- L. **Álpozitív eredmények fordulhatnak elő, ha a minták keresztszennyeződését a mintakezelés és -feldolgozás során nem kontrollálják megfelelően.**

Kadáverminták

- A. A **cobas**® TaqScreen WNV teszthez EDTA antikoagulánst tartalmazó csövekbe, illetve szérumsövekbe levett kadávervérmintákat használhat. Kövesse a mintacső gyártójának utasításait. A minták stabilitását befolyásolja a magasabb hőmérséklet.
- B. Az EDTA antikoagulánsba levett kadávervérminták a plazma elválasztását megelőzően 2–25 °C-on legfeljebb 24 óráig tárolhatók. Az egy napnál hosszabb tároláshoz centrifugálással válassza el a plazmát a vörösvértestektől (800–1600 x g, 20 perc). Az eltávolítást követően a plazma 2–8 °C között további hét napig, majd ≤ –18 °C-on további 30 napig tárolható. Az EDTA kadáverplazma legfeljebb három (3) alkalommal fagyasztható le és olvasztható fel.
- C. A szérumként levett kadávereredetű vérminták a vértestek elválasztását megelőzően 2–8 °C-on legfeljebb 24 óráig tárolhatók, amelyből 4 órát tölthetnek 2–25 °C-on. Egy napnál hosszabb tároláshoz centrifugálással válassza el a szérumot az alvadéktól (800–1600 x g, 20 perc). Az eltávolítást követően a szérumminták 2–8 °C között legfeljebb három napig tárolhatók. Alvadéktól elválasztott szérum esetén a másik lehetőség a mérsékelt hemolizált kadáver-szérumminták tárolása ≤ –18 °C-on legfeljebb 15 napig, illetve a nagy fokban hemolizált kadáver-szérumminták tárolása ≤ –18 °C-on legfeljebb 8 napig. A kadáver-szérumminták legfeljebb három (3) alkalommal fagyaszthatók le és olvaszthatók fel.
- D. A **cobas**® TaqScreen kadáverminta-oldószerez 1:5 arányban hígított kadáverminták 2–8 °C-on legfeljebb 7 napig tárolhatók, és keverés után (fel-le pipettázás négy (4) alkalommal minden csőben) vizsgálhatók a **cobas**® TaqScreen WNV teszttel.
- E. Amennyiben a minták szállítása szükséges, akkor azokat a minták és kóroki ágensek transportjára vonatkozó szövetségi és nemzetközi előírásoknak megfelelően kell csomagolni és felcímkézni.¹⁰
- F. **Álpozítív eredmények fordulhatnak elő, ha a minták keresztszennyeződését a mintakezelés és -feldolgozás során nem kontrollálják megfelelően.**

MINTACSOPORTOSÍTÁS ÉS -PIPETTÁZÁS

1. A **cobas s 201** rendszer a Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettort használja a pipettázási és csoportosítási tevékenységekhez. A Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettor elvégzi a vonalkód-leolvasási és csoportosítási műveleteket; az utóbbi során a mintatérfogatok egyenlő részeleiből csoportokat hoz létre.
2. Ha a **cobas**® TaqScreen WNV teszt reaktív csoportot mutat kit, a Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettorral pipettázza az egyes mintákat a mély lyukú lemezekből vagy eredeti mintacsövekből a megerősítő vizsgálathoz.

ELJÁRÁSSAL KAPCSOLATOS MEGJEGYZÉSEK

A. Felszerelés

1. A használatához készítse elő a **cobas s 201** rendszert a **cobas s 201 rendszer felhasználói kézikönyv** utasításai szerint.
2. A helyes működés érdekében végezze el a javasolt karbantartást a készülékeken.

B. Reagensek

1. A **cobas**® TaqScreen WNV teszt reagenseit, a **cobas**® TaqScreen WNV kontrollkészletet és a **cobas**® TaqScreen mosóreagenst használat előtt 30 percig tartsa szobahőmérsékleten. A reagensek tárolási körülményeire vonatkozóan tanulmányozza a *Tárolási és kezelési előírások* részt.
2. Valamennyi **cobas**® TaqScreen WNV tesztkészlet összesen 96 vizsgálat elvégzéséhez elegendő anyagot tartalmaz, amelyek futtatását SK24 állványonként 24 vizsgálatot tartalmazó tételekben ajánlott végezni. Tételenként, illetve SK24 állványonként egy negatív kontrollt [**WNV (-) C**] és egy pozitív kontrollt [**WNV (+) C**] is fel kell dolgozni.

3. Minden **cobas[®]** TaqScreen kadáverminta-oldószerkészlet összesen 96 vizsgálat elvégzéséhez elegendő anyagot tartalmaz, amelyek futtatását SK24 állványonként 24 vizsgálatot tartalmazó tételekben célszerű végezni. Tételeként, illetve SK24 állványonként egy negatív kontrollt **[WNV (-) C]** és egy pozitív kontrollt **[WNV (+) C]** is fel kell dolgozni. A kontrollokat élő donor minta és kadáverminta esetében is azonos módon kell feldolgozni a **cobas[®]** TaqScreen WNV teszttel.
4. Minden kontrollt csak egyszer lehet felhasználni.
5. A rendszer megakadályozza, hogy a COBAS[®] AmpliPrep készülékben tölthető időt (a felbontást követően 40 kumulatív órát vagy 30 napot) túllépő reagenseket, lejárt reagenseket, illetve a rendszerben már korábban használt négykazettás szettből származó kevert kazettákat használjon.

C. Mintafeldolgozás

1. A minták és kontrollok kezelése során ügyeljen a kesztyűk szennyezésének elkerülésére.
2. Vigyázzon, hogy ne szennyezze a mintákat és a **[WNV (-) C]**-t a pozitív kontrollokkal.

HASZNÁLATI UTASÍTÁS

A **cobas s 201** rendszer négy fő eljárást foglal magában: Minta és kontroll pipettázása a Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettorral, minta-előkészítés a COBAS[®] AmpliPrep készüléken a **cobas[®]** TaqScreen WNV teszttel, amplifikálás/kimutatás a COBAS[®] TaqMan[®] analizátoron, valamint adatkezelés.

A **cobas s 201** rendszerkiépítéshez legfeljebb hat Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettor, öt adatkezelő munkaállomás és tíz AMPLILINK adatállomás tartozhat. Egy AMPLILINK adatállomáshoz legfeljebb három COBAS[®] AmpliPrep készülék és két COBAS[®] TaqMan[®] analizátor kapcsolható. A **cobas s 201** rendszerkiépítésről további információkat a **cobas s201 rendszer felhasználói kézikönyvben** talál.

Minden **cobas[®]** TaqScreen WNV teszt készlet nyolc kazettát tartalmaz: két **WNV CS1** kazettát magnésis üvegpartikulumokkal, két **WNV CS2** kazettát lízisreagenssel, két **WNV CS3** kazettát proteázzal és eluáló pufferrel, valamint két **WNV CS4** kazettát IC-vel, MMX reagenssel és mangánoldattal. A teszt készletet a **cobas[®]** TaqScreen WNV kontrollkészlettel és a **cobas[®]** TaqScreen mosóreagenssel együtt kell használni, valamint kadáverminták feldolgozásához a **cobas[®]** TaqScreen kadáverminta-oldószerkészlettel.

Megjegyzés: *Ne nyissa ki a kazettákat.*

Megjegyzés: *Ne öntsön össze különböző tételekből, vagy azonos tételből, de különböző flakonokból származó reagenseket.*

Megjegyzés: *Ne keverje a különböző készletből származó reagenseket (se a kazettákat). Ne töltsön kevert tételszámú reagenseket a COBAS[®] AmpliPrep készülékbe.*

Megjegyzés: *Ne válassza le a kontrolcsöveket az adapterről (a műanyag kontrolcsőtartó).*

Megjegyzés: *A PDM szoftver nyomon követi és biztosítja, hogy a tétel egyetlen COBAS[®] AmpliPrep készüléken és COBAS[®] TaqMan[®] analizátoron fusson, amelyek azonos AMPLILINK adatállomáshoz csatlakoznak.*

Megjegyzés: *Egy tételt ne osszon szét több COBAS[®] AmpliPrep készülékre vagy COBAS[®] TaqMan[®] analizátorra.*

Minden szükséges karbantartást a **cobas s 201** rendszer felhasználói kézikönyv utasításai szerint végezzen.

A részletes használati utasításokat a **cobas s 201** rendszer felhasználói kézikönyvben találja. A vizsgálat megfelelő kivitelezése érdekében fontos, hogy a felhasználó kövesse a **cobas s 201** rendszer felhasználói kézikönyv utasításait.

A. Kontrollok és minták pipettázása a Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettorral

Megjegyzés: *A minták és kontrollok előkészítése során ügyeljen a kesztyűk szennyezésének elkerülésére.*

Megjegyzés: *Keverje meg a kontrollokat legalább háromszori óvatos döntögetéssel úgy, hogy ne képződjenek buborékok, az alábbiak szerint.*

- *Egy döntögetés a kontroll fejjel lefelé, majd visszafordítását jelenti.*
- *Egy döntögetés során a kontrollt legalább 2 másodpercig tartsa mindkét helyzetben (azaz fordítsa a fejjel lefelé, és tartsa így legalább 2 másodpercig. Utána fordítsa vissza a kontrollt, és így is tartsa legalább 2 másodpercig.)*

Megjegyzés: *Kadáverminták vizsgálatához a mély lyukú lemez használata nem volt hozzáférhető a cobas s 201 rendszer üzembe helyezésének időpontjában.*

A1. Helyezze üzembe a Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettort, majd a képernyőn megjelenő utasításokat követve indítsa el a Roche PDM csoportosítási varázslót.

A2. Ügyeljen rá, hogy ne sértse meg a mintacsövek és kontrollcső adaptorok azonosító vonalkódját. Ha sérült, a rendszer nem fogja felismerni a mintákat vagy kontrollokat.

A3. Távolítsa el a kontrollcsövek kupakját és helyezze a mintákat, fogyóeszközöket és kontrollokat a Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettorba. A minták, fogyóeszközök és kontrollok betöltése után a készülék átviszi a kontrollokat és mintákat az S-csővekbe. A minták és a kontrollok a nyitott csövekben legfeljebb 5 óráig, az S-csővekben további 5 óráig stabilak.

A4. Különböző kadáverminták esetében pipettázzon 2000 µl **CADV SPEC DIL** oldószert megfelelően jelölt 13 x 100 mm-es csővekbe, adagoljon minden egyes csőbe 500 µl kadávermintát, és keverje meg őket négyszeri (4) fel-le pipettázással. Töltse be a hígított kadávermintákat, fogyóeszközöket és kontrollokat a Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettorba. A hígított kadáverminták, fogyóeszközök és kontrollok betöltése után a készülék átviszi a kontrollokat és hígított mintákat az S-csővekbe. A hígított kadáverminták és WNV kontrollok a nyitott csövekben legfeljebb 5 óráig stabilak.

Megjegyzés: *Ahhoz, hogy a készülék 1:10 arányú hígítást készítsen a [WNV (+) C] kontrollból, használj [WNV (+) C] kontrollcsövenként két [WNV (-) C] kontrollcsövet kell bekészíteni.*

A5. A pipettázási folyamatot követően tekintse át a figyelmeztetéseket és nyomtassa ki a csoportosítási jelentés(ek)e)t. Ellenőrizze a csoportokat és a mély lyukú lemezek lyukait. Érvénytelenítse a csoportokat és/vagy lyukakat, ha vörösvértest-szennyeződést észlel, illetve a térfogatok nem egyenletesek.

A6. Zárja le az S-csőveket, és vigye át az SK24 állvány(oka)t a COBAS® AmpliPrep készülékbe a nukleinsavkivonás lépésének elvégzésére. Ha megtörtént az átvitel a COBAS® AmpliPrep Instrumentbe, az S-csővekben minden vírustarget és kontroll 5 óráig stabil.

A7. Zárja le és tárolja a mély lyukú lemezeket (amennyiben lemezek készültek a pipettázási futás során). A mély lyukú lemezek 7 napig tárolhatók 2–8 °C-on vagy ≤ –18 °C-on hosszabb ideig is.

A8. Távolítsa el a tároló- és donorcsőveket. A tárolási módokról a „Mintavétel, -tárolás és -csoportosítás” című részben olvashat.

A9. Távolítsa el és dobja ki a kontrollcsöveket. (A kontrollcsöveket csak egyszer lehet felhasználni.)

B. A cobas® TaqScreen WNV teszt reagenseinek előkészítése és betöltése

Megjegyzés: *Ügyeljen rá, hogy ne sértse meg a kazetták címkeit. A COBAS® AmpliPrep készülék vonalkódolvasója automatikusan leolvassa minden kazetta vonalkódcímkeit, amikor a reagensállványok a készülékbe kerülnek.*

B1. Az első minta feldolgozása előtt a reagenseket tartsa legalább 30 percig szobahőmérsékleten. Nincs szükség egyéb reagenselőkészítési lépésre.

- B2. Az indítást megelőzően minden kazettából annyit kell betölteni, hogy elegendő legyen a feldolgozásra kerülő minták teljes számának befogadására a COBAS® AmpliPrep készülék folyamatos üzeme során. Mindegyik kazetta 48 vizsgálatra elegendő reagenst tartalmaz. A reagensek folyamatos üzem során történő betöltéséről a **cobas s 201 rendszer felhasználói kézikönyvben** található információkat.
- B3. Helyezze a **WNV CS1** kazettát a reagensállványba úgy, hogy a kazetta vonalkódja egy vonalban legyen az állvány jobb oldalán található vonalkóddal. A **WNV CS1** kazettákat együtt kell betölteni a többi kazettától eltérő reagensállványba.
- B4. Helyezze be a **WNV CS1** kazettákat tartalmazó reagensállványt a COBAS® AmpliPrep készülék A állványpozíciójába, és csúsztassa be az ütközőig, majd várjon, amíg a reagensállvány LED-je zöldre vált, mielőtt az állványt a készülék belsejében elhelyezkedő végső pozíciójába tolja. Ne töltsön kevert tételeszámú reagenseket a készülékbe.
- B5. Helyezzen **WNV CS1** kazettánként egy-egy szett **WNV CS2**, **WNV CS3** és **WNV CS4** kazettát a reagensállvány(ok)ba úgy, hogy a kazetták vonalkódja egy vonalban legyen az állvány jobb oldalán található vonalkóddal.
- B6. Helyezze be a reagensállvány(oka)t a COBAS® AmpliPrep készülék B, C, D, illetve E állványpozíciójába, és csúsztassa be a tüvel való ütközésig, majd várjon, amíg a reagensállvány LED zöldre vált, mielőtt az állványt a készülék belsejében elhelyezkedő végső pozíciójába tolja.
- B7. Ha a készlet minden szükséges eleme a készülékben van, és a készülék felismerte őket, a COBAS® AmpliPrep készülék állapotsorán a LED-ek zöldre váltanak.

C. Nukleinsavak kivonása a pipettázott mintákból és kontrollokból

Megjegyzés: Az alábbi lépéseket tiszta munkapadon végezze el.

- C1. Távolítsa el a mintafeldolgozó egység (SPU) csomagolását, de hagyja a szalagot és a műanyag fedőt érintetlenül.
- C2. Az SPU-állvány nagy füle a felhasználó felé nézzen. Illessze az SPU-öblítő nyálábót az SPU-állvány jobb oldalához.
- C3. Távolítsa el a szalagot és a műanyag fedőt az állványba illesztett SPU-król. Ellenőrizze, hogy minden SPU megfelelően benyomva, egy szintben legyen és teljes mértékben illeszkedjen az állványba. Egy elmozdult SPU műszerhibát okozhat. Ne nyomja meg a SPU-ban található S-hegyet.
- C4. Csúsztassa a betöltött SPU-állványokat a COBAS® AmpliPrep készülék J, K vagy L SPU-pozícióiba ütközésig, hogy a készülék felismerje őket. A készülék egyszerre 72 SPU befogadására alkalmas. Töltsön be legalább annyi SPU-t, amennyi a futtatáshoz szükséges, illetve szükség esetén továbbiakat is.
- C5. Távolítsa el a gyártó által betöltött K-csővek és K-hegyek celofán csomagolását, és vigyázzon, hogy ne döntse meg az állványokat. Ellenőrizze, hogy megfelelően illeszkednek-e.
- C6. Csúsztasson be legalább a szükséges számú K-cső és K-hegy állványt a COBAS® AmpliPrep készülék M, N, O és P pozícióiba.
- C7. Töltse be a Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettorral pipettázott mintákat tartalmazó SK24 állványokat a COBAS® AmpliPrep készülék F, G, illetve H pozícióiba. Az állványokat kattánásig tolja be. Ellenőrizze a rendszer mintaállapot ablakában, hogy a készülék az összes állvány összes mintáját felismerte-e.
- C8. Az AMPLILINK szoftver segítségével ellenőrizze, hogy elegendő mennyiségű reagens és fogyóeszköz lett-e betöltve a kívánt minta-előkészítési eljárásához.
- C9. Nyomja meg az AMPLILINK szoftver munkaállomás Start gombját, hogy elindítsa a COBAS® AmpliPrep készülék minta-előkészítési eljárást.
- C10. Minden fel nem használt és ki nem vett K-hegy és K-cső a COBAS® AmpliPrep készülékben marad a következő futtatásban való felhasználásra, és a készülék ezt nyomon követi.

D. Amplifikálás és kimutatás

Megjegyzés: *Az SK24 állványban lévő master mix munkareagens plusz feldolgozott minták korlátozott stabilitásúak. Amikor a COBAS® AmpliPrep készülék befejezte a minta-előkészítési eljárást, a COBAS® TaqMan® analizátornak készen kell állnia a minták fogadására.*

D1. Vigye át a feldolgozott mintákat tartalmazó az SK24 állványokat a COBAS® TaqMan® analizátorra. A COBAS® TaqMan® analizátor automatikusan megkezdí az amplifikálási és kimutatási eljárást. A futtatásnak a COBAS® TaqMan® analizátoron 1 órán belül el kell kezdődnie attól számítva, hogy az adott SK24 állványban befejeződött a minta-előkészítés. Az 1 órán belül át nem vitt részben megtöltött SK24 állványban lévő tételre kaphat érvényes eredményt is. Az AMPLILINK szoftver minden mintához nyomon követi a Master Mix hozzáadása és az amplifikálás/kimutatás megkezdése között engedélyezett időt, és az egész állványt érvényteleníti, ha az első feldolgozott minta meghaladja az időkorlátot.

D2. Ha befejeződött az amplifikálás és kimutatás a COBAS® TaqMan® analizátoron, a vizsgált minták automatikusan a hulladékgyűjtőbe kerülnek.

D3. Az AMPLILINK szoftver munkaállomás eredményeit a rendszer automatikusan elfogadja.

D4. Az eredmények automatikusan a PDM szoftverre továbbítódnak.

E. Eredmények áttekintése és kiadása

E1. Indítsa el a Roche PDM adatállomást.

E2. Keresse ki a még nem értékelt tételeket az adatkezelő munkaállomás „Review Batches” lapján.

E3. A figyelmeztetések áttekintéséhez jelöljön ki egy tételt, és kattintson a „Next” gombra.

E4. Tekintse át a kontrolleredményeket a „Controls Review” lapon. A kontrollok érvényességi feltételeit a „Minőség-ellenőrzés” című részben találja.

E5. Tekintse át a csoporteredményeket a kiválasztott tétel „Pools Review” lapján. A nem reaktív csoportok szükség esetén a felhasználó által manuálisan érvényteleníthetőek. Az érvénytelen csoportok minden donornormtáját újra kell vizsgálni.

E6. Tekintse át és adja ki a donoreredményeket a kiválasztott tétel „Donor Review” lapján.

E7. Nyomtassa ki a jelentéseket és küldje tovább a laboratóriumi információs rendszerre (LIS), ha ilyen rendelkezésre áll.

MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

1. Tételenként egy negatív kontroll [WNV (-) C] és a pozitív kontroll [WNV (+) C] egy másodpéldányát is fel kell dolgozni.

2. Tétel állapota: A tétel állapota „Complete, Valid” lesz, ha a tételkontrollok érvényesek. Ha a tételben bármelyik kontroll érvénytelen, az egész tétel eredménye érvénytelen lesz. Az eredmények kontrollhibából adódó érvénytelenítését a PDM szoftver automatikusan végzi.

a. Negatív kontroll

Ahhoz, hogy a negatív kontroll [WNV (-) C] érvényes legyen, az eredmény értékelésének nem reaktívnak, a hozzá tartozó belső kontrollnak pedig érvényesnek kell lennie. Amennyiben a belső kontroll érvénytelen, a negatív kontroll eredményének értékelése is érvénytelen lesz. Ha a negatív kontroll eredményének értékelése érvénytelen, az egész tétel érvénytelen lesz, és a vizsgálatot meg kell ismételni.

b. Pozitív kontroll

Ahhoz, hogy a pozitív kontroll [WNV (+) C] érvényes legyen, az eredmény értékelésének reaktívnak, a hozzá tartozó belső kontrollnak pedig érvényesnek kell lennie. Amennyiben a belső kontroll érvénytelen, a pozitív kontroll eredményének értékelése is érvénytelen lesz. Ha a pozitív kontroll eredményének értékelése érvénytelen, az egész tétel érvénytelen lesz, és a vizsgálatot meg kell ismételni.

3. Donorminták belső kontrollja

- Ahhoz, hogy a donorminta érvényes, nem reaktív (–) vizsgálati eredményt adjon, a hozzá tartozó belső kontrollnak érvényesnek kell lennie. Ha nem így van, a nem reaktív eredmény érvénytelen lesz, és a donorminta vizsgálatát meg kell ismételni.
- Ahhoz, hogy a donorminta érvényes, reaktív vizsgálati eredményt adjon, a járulékos belső kontroll érvényes vagy érvénytelen is lehet.

EREDMÉNYEK

- A mintaeredmények csak akkor érvényesek, ha a teljes, őket tartalmazó tétel érvényes. Az elfogadhatóság feltételeit a *Minőség-ellenőrzés* részben találja. A vizsgálat minden minta esetében két paramétert mér; az egyik a WNV targetre, a másik a belső kontrollra vonatkozik.
- A **cobas®** TaqScreen WNV teszt végső donoreredményeit a PDM szoftver a következőképpen jelenti:

Állapot	Jelentés
Completed Non-Reactive	A donor nem reaktív a WNV-re.
Completed Reactive	A donor reaktív a WNV-re.
Completed Unresolved	Az életképességi időkorlát lejárt, mielőtt a donor reaktív vagy nem reaktív státuszt kapott volna. A donor további vizsgálata nem végezhető el a rendszeren. (Az életképességi időkorlát leírását a cobas s 201 rendszer felhasználói kézikönyvben találja.)

Másodlagos csoportos vizsgálat

Az érvénytelen („invalid”) csoportos vagy egyéni eredményt adó donorcsovek vizsgálatát meg kell ismételni. Amikor a vizsgálat csoportban történt, és a csoport a **cobas s 201** rendszer szerint reaktív eredményű, a csoport érintett donorjaihoz a rendszer másodlagos csoportos vizsgálatot kér, és a Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettorral pipettázza az egyes mintákat a mély lyukú lemezekből vagy az eredeti donorcsovekből. A **cobas®** TaqScreen WNV teszt ugyanazokkal a (különálló mintákra vizsgált) módszerekkel keresi meg az egyes reaktív mintákat, mint csoportos vizsgálat esetén.

Ha egy csoport egy vagy több mintája reaktív, bizonyul, ezeket a vizsgálat „Completed Reactive” eredményként jelenti, a kiinduló pozitív csoport fennmaradó negatív mintáit pedig „Completed, Non-reactive” eredményként. Ha az adott csoportban minden donorminta negatív eredményű, ezeket a vizsgálat „Completed, Non-reactive” eredményként jelenti.

ELJÁRÁSSAL KAPCSOLATOS KORLÁTOZÁSOK

1. A **cobas**® TaqScreen WNV tesztet csak a **cobas**® TaqScreen WNV kontrollkészlet, a **cobas**® TaqScreen mosóreagens és a **cobas s** 201 rendszer együttes használatára értékelték ki.
2. Kadáverminták vizsgálatára a **cobas**® TaqScreen WNV tesztet csak a **cobas**® TaqScreen kadáverminta-oldószerkészlet, a **cobas**® TaqScreen WNV kontrollkészlet, a **cobas**® TaqScreen mosóreagens és a **cobas s** 201 rendszer együttes használatára értékelték ki.
3. A heparinról kimutatták, hogy gátolja a PCR-t. Az eljáráshoz ne használjon heparinos plazmát.
4. A megbízható eredmény a megfelelő mintalevételen, valamint a helyes transzporteljárásokon múlik.
5. A WNV RNS kimutatása a mintában jelenlévő víruspartikulumok számától függ, ezért befolyásolhatják a mintalevételi módszerek, betegjellemzők (azaz a kor vagy a tünetek) és/vagy a fertőzés stádiuma, valamint a gyűjtött minta mérete.
6. A plazmacsoportok automatikus előkészítésére csak a Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettort validálták a **cobas**® TaqScreen WNV teszttel végzett együttes használatra. Tartsa be a **cobas s** 201 rendszer felhasználói kézikönyv és a Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD pipettor felhasználói kézikönyvében a hardverrel kapcsolatosan megfogalmazott utasításokat és biztonsági óvintézkedéseket.
7. A **cobas**® TaqScreen WNV teszt során a japán encephalitis vírus szerokomplex tagjai (a japán encephalitis, a Murray Valley encephalitis és a St. Louis encephalitis vírus, valamint a Kunjin vírus) szintén reaktívnak bizonyulhatnak.
8. Ritkán, de előfordulhat, hogy a **cobas**® TaqScreen WNV teszt primerei és/vagy próbái által lefedett virális genom nagy fokban konzervált régiójában lévő mutációk következtében a vírus kimutatása sikertelen lesz.
9. A technológiák különbözősége miatt javasolt, hogy az egyik technológiáról a másira való áttéréskor a felhasználók végezzenek korrelációs laboratóriumi vizsgálatokat, hogy a technológiák közötti különbség minősíthető legyen. A felhasználóknak a helyi specifikus irányelveket/eljárásokat kell követniük.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

ÉLŐ DONOR MINTÁK

Reprodukálhatóság

A **cobas**® TaqScreen WNV teszt reprodukálhatóságát a **cobas s** 201 rendszeren egy 21 tagú, randomizált, vak panel vizsgálatával állapították meg. A panel hat negatív plazmamintát, hat pozitív, a **cobas**® TaqScreen WNV teszt kimutatási határához (LOD) képest 0,49-szeres koncentrációjú plazmamintát és további három pozitív, a LOD-hoz képest 2,5-szörös, 5-szörös, illetve 10-szeres koncentrációjú plazmamintát tartalmazott. A vizsgálatokat 3 vizsgálati helyen végezte helyenként 1 felhasználó 3 különböző tételeszámú **cobas**® TaqScreen WNV teszttel és 1 **cobas s** 201 rendszeren. Mindegyik vizsgálati helyen naponta 4 panelt vizsgáltak 5 napon át a hozzájuk tartozó pozitív és negatív kontrollokkal. Paneltagonként összesen 180 vizsgálatot végeztek. Minden érvényes reprodukálhatósági adatot úgy számítottak ki, hogy minden panelszinthez kiszámították a reaktív vizsgálati eredmények százalékos arányát. Az adatokat készletenként, helyszínenként és felhasználónként, valamint naponként és futtatásonként elemezték, majd összesítették (1. táblázat). Az elemzés a **cobas**® TaqScreen WNV tesztnél konzisztens eredményt mutatott a különböző tételeszámú készletek, vizsgálati helyszínek és felhasználók, illetve napok és futtatások esetén.

1. táblázat
cobas® TaqScreen WNV teszt – reprodukálhatósági eredmények

Koncentráció	Készlettel	Negatív eredmények százalékaránya készlettel szerint	Vizsgálati helyszínelhasználó	Negatív eredmények százalékaránya vizsgálati helyszínelhasználó szerint	Nap/futtatás*	Negatív eredmények százalékaránya nap/futtatás szerint	Összesített százalékarány (95% CI)**
Készletek között			Helyszínek között		Vizsgálatok között		Összes
Negatív	A	100,0 (359/359)	1	100,0 (360/360)	1	100,0 (209/209)	100,0 (1077/1077) (99,7; 100,0)
	B	100,0 (359/359)	2	100,0 (359/359)	2	100,0 (198/198)	
	C	100,0 (359/359)	3	100,0 (358/358)	3	100,0 (209/209)	
					4	100,0 (192/192)	
					5	100,0 (203/203)	
					6	100,0 (66/66)	
Koncentráció	Készlettel	Reaktív eredmények százalékaránya készlettel szerint	Vizsgálati helyszínelhasználó	Reaktív eredmények százalékaránya vizsgálati helyszínelhasználó szerint	Nap/futtatás*	Reaktív eredmények százalékaránya nap/futtatás szerint	Összesített százalékarány (95% CI)**
Készletek között			Helyszínek között		Vizsgálatok között		Összes
0,49 x LOD	A	73,9 (264/357)	1	75,5 (271/359)	1	71,5 (148/207)	73,4 (791/1077) (70,7; 76,1)
	B	72,2 (260/360)	2	74,7 (269/360)	2	68,2 (135/198)	
	C	74,2 (267/360)	3	70,1 (251/358)	3	74,6 (156/209)	
					4	78,1 (150/192)	
					5	74,6 (153/205)	
					6	74,2 (49/66)	
2,5 x LOD	A	99,4 (179/180)	1	100,0 (180/180)	1	100,0 (105/105)	99,8 (538/539) (99,0; 100,0)
	B	100,0 (179/179)	2	100,0 (179/179)	2	100,0 (98/98)	
	C	100,0 (180/180)	3	99,4 (179/180)	3	100,0 (105/105)	
					4	100,0 (96/96)	
					5	99,0 (101/102)	
					6	100,0 (33/33)	
5,0 x LOD	A	99,4 (178/179)	1	100,0 (180/180)	1	99,0 (103/104)	99,8 (537/538) (99,0; 100,0)
	B	100,0 (179/179)	2	100,0 (179/179)	2	100,0 (99/99)	
	C	100,0 (180/180)	3	99,4 (178/179)	3	100,0 (104/104)	
					4	100,0 (96/96)	
					5	100,0 (102/102)	
					6	100,0 (33/33)	
10,0 x LOD	A	100,0 (179/179)	1	100,0 (180/180)	1	100,0 (105/105)	100,0 (539/539) (99,3; 100,0)
	B	100,0 (180/180)	2	100,0 (179/179)	2	100,0 (98/98)	
	C	100,0 (180/180)	3	100,0 (180/180)	3	100,0 (105/105)	
					4	100,0 (96/96)	
					5	100,0 (102/102)	
					6	100,0 (33/33)	

* A 6. napra azért került sor, mert az 1–5. napok érvénytelen tételeit ekkor ismételték meg.

* 95% CI = 95% pontos binomiális konfidenciaintervallum.

Analitikai érzékenység – Health Canada standard – 1. törzs

A **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt kimutatási határát (LOD) a Health Canada (Kanadai Közegészségügyi Minisztérium) WNV referenciastandardjával értékelték ki¹¹ (Infectious Diseases, Canadian Blood Services, (fertőző betegségek, kanadai vérellátó szolgálat) 1800 Alta Vista, Ottawa, Ontario, K1G 4J5). A panelek előállításához a standardot normál, a vírusra negatív humán plazmává hígították. Minden hígítást a **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt három különböző gyártási tételével vizsgáltak. Készletkéntként összesen 30 ismétlést vizsgáltak, koncentrációnként összesen 90 ismétlést. Az összes ismétlés vizsgálatának összesített adatai alapján a LOD értékét a pozitívítási arány alapján határozták meg 95%-os (egyoldali) alsó konfidenciahatárral. A 95%-os kimutatási határ (LOD) és a kétoldali 95%-os fiduciaális konfidencia-intervallumok becslésére PROBIT analízist is végeztek (2. táblázat). A Health Canada standard – 1. törzssel becsült 95%-os LOD 40,3 kópia/ml volt.

2. táblázat

Az analitikai érzékenység összefoglalása

a Health Canada (Kanadai Közegészségügyi Minisztérium) nyugat-nílusi vírusstandardjával

Névleges bevitel (kópia/ml)	Reaktívak száma	Egyéni vizsgálatok száma	Reaktívak %	95%-os alsó konfidencia határ (egyoldali)
0	0	89*	0	NA
5	10	90	11,1	6,2%
10	43	90	47,8	38,7%
20	70	90	77,8	69,4%
25	74	90	82,2	74,3%
30	76	90	84,4	76,8%
35	85	90	94,4	88,7%
50	89	90	98,9	94,8%
PROBIT analízis	Kimutatási arány (%)	Koncentráció (kópia/ml)	Alsó 95%-os konfidenciahatár (kópia/ml)	Felső 95%-os konfidenciahatár (kópia/ml)
	95	40,3	35,1	47,8

* Egy ismétlés érvénytelen volt

Analitikai érzékenység – Roche WNV másodlagos standard – 1. törzs

A **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt kimutatási határát (LOD) a Roche WNV másodlagos standardjával értékelték ki (Zeptomatrix nyugat-nílusi víruskultúra, NY 2001-6263, tételszám: 302142, a Health Canada WNV referenciastandardja alapján kalibrálva). A panelek előállításához a standardot normál, a vírusra negatív humán plazmává hígították. Minden hígítást a **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt három különböző gyártási tételével vizsgálták. Készlettelélenként összesen 64 ismétlést vizsgáltak, koncentrációként összesen 192 ismétlést. Az összes ismétlés vizsgálatának összesített adatai alapján a LOD értékét a pozitívítási arány alapján határozták meg 95%-os (egyoldali) alsó konfidenciahatárral. PROBIT analízist is végeztek a 95%-os kimutatási határ (LOD) és a kétoldali 95%-os fiducialis konfidencia-intervallumok becslésére (3. táblázat). A Roche WNV másodlagos standard – 1. törzssel becsült 95%-os LOD 36,9 kópia/ml volt.

3. táblázat

Az analitikai érzékenység összefoglalása a Roche WNV másodlagos standardjával

Névleges bevitel (kópia/ml)	Reaktívak száma	Egyéni vizsgálatok száma	Reaktívak %	95%-os alsó konfidencia határ (egyoldali)
0	0	192	0	NA
5	68	192	35,4	29,7%
10	110	191*	57,6	51,4%
20	153	192	79,7	74,3%
25	173	192	90,1	85,8%
30	182	192	94,8	91,3%
35	183	192	95,3	92,0%
50	187	192	97,4	94,6%
PROBIT analízis	Kimutatási arány (%)	Koncentráció (kópia/ml)	Alsó 95%-os konfidenciahatár (kópia/ml)	Felső 95%-os konfidenciahatár (kópia/ml)
	95	36,9	32,7	42,6

* Egy ismétlés érvénytelen volt

Analitikai érzékenység – CBER/FDA WNV panel – 1. törzs

A **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt kimutatási határát (LOD) a CBER/FDA WNV panellel értékelték ki. A panel 14 tagja egy humán nyugat-nílusi vírus 1. törzs izolátumból (Hu2002) és egy flamingó nyugat-nílusi vírus 1. törzs izolátumból (NY99) származott (a CBER számára előállította a BBI Diagnostics, 375 West Street, West Bridgewater MA, 02379). A panel minden tagját kétszeresen vizsgálták a **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt három különböző gyártási tételével (4. táblázat).

4. táblázat

Az analitikai érzékenység összefoglalása a CBER/FDA WNV paneljével

Tag azonosítója	1. törzs izolátum	Névleges bevitel (kópia/ml)	Reaktívak %
CBER/FDA – 03	Hu2002	0	0% (0/6)
CBER/FDA – 05	NY99	0	0% (0/6)
CBER/FDA – 09	Hu2002	5	50% (3/6)
CBER/FDA – 10	NY99	5	83% (5/6)
CBER/FDA – 12	Hu2002	10	50% (3/6)
CBER/FDA – 02	NY99	10	33% (2/6)
CBER/FDA – 04	Hu2002	50	100% (6/6)
CBER/FDA – 13	NY99	50	100% (6/6)
CBER/FDA – 07	Hu2002	100	100% (6/6)
CBER/FDA – 01	NY99	100	100% (5/5)*
CBER/FDA – 14	Hu2002	500	100% (6/6)
CBER/FDA – 11	NY99	500	100% (6/6)
CBER/FDA – 08	Hu2002	1000	100% (6/6)
CBER/FDA – 06	NY99	1000	100% (6/6)

* Egy ismétlés érvénytelen volt

Analitikai érzékenység – a nyugat-nílusi vírus RNS-minősítő panelje (QWN701) – 2. törzs szerint

A **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt kimutatási határát (LOD) a WNV RNS-minősítő panellel (QWN701) értékelték ki (WNV kultúra, 2. törzs^{12,13}, Uganda - BBI Diagnostics, 375 West Street, West Bridgewater MA, 02379). A víruskultúrát a gyártó TaqMan[®] alapú RT PCR vizsgálattal kalibrálta¹⁴. A panelek előállításához a standardokat normál, a vírusra negatív humán plazmává hígították. Minden hígítást a **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt három különböző gyártási tételével vizsgáltak. Készlettelélenként összesen 30 ismétlést vizsgáltak, koncentrációként összesen 90 ismétlést. Az összes ismétlés vizsgálatának összesített adatai alapján a LOD értékét a pozitívitási arány alapján határozták meg 95%-os (egyoldali) alsó konfidenciahatárral. A 95%-os kimutatási határ (LOD) és a kétoldali 95%-os fiduciális konfidencia-intervallumok becslésére PROBIT analízist is végeztek (5. táblázat). A nyugat-nílusi vírus RNS-minősítő panelje (QWN701) – 2. törzzsel becsült 95%-os LOD 3,8 kópia/ml volt.

5. táblázat
Az analitikai érzékenység összefoglalása a WNV RNS-minősítő panelje (QWN701) – 2. törzs szerint

Névleges bevitel (kópia/ml)	Reaktívak száma	Egyéni vizsgálatok száma	Reaktívak %	95%-os alsó konfidencia határ (egyoldali)
0,00	0	90	0	NA
0,25	22	90	24	17,2%
0,50	29	90	32	24,1%
1,00	48	90	53	44,1%
1,50	68	90	76	67,0%
3,00	85	90	94	88,7%
5,00	90	90	100	96,7%
PROBIT analízis	Kimutatási arány (%)	Koncentráció (kópia/ml)	Alsó 95%-os konfidenciahatár (kópia/ml)	Felső 95%-os konfidenciahatár (kópia/ml)
	95	3,8	2,3	11,1

Analitikai specifitás – Potenciálisan keresztreakáló és zavarást okozó mikroorganizmusok

A **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt analitikai specifitását egy 52 mikroorganizmust, ezen belül 47 vírusizolátumot, 4 baktériumtörzset és 1 élesztőizolátumot tartalmazó panel vizsgálatával értékelték (6. táblázat). A mikroorganizmusokat normál, vírusra negatív humán plazmához adták, és úgy vizsgálták, hogy a **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt kimutatási határához képest háromszoros koncentrációhoz adtak, illetve nem adtak nyugat-nílusi vírust. A japán encephalitis víruscsalád (a japán encephalitis, a Murray Valley encephalitis és a St. Louis encephalitis vírus, valamint a Kunjin vírus) 4 izolátumának kivételével nem reaktív eredményeket kaptak a **cobas**[®] TaqScreen WNV tesztrel az összes nyugat-nílusi vírus hozzáadása nélküli mikroorganizmus-mintánál, és reaktív eredményeket az összes nyugat-nílusi vírust tartalmazó mikroorganizmus-mintánál. A japán encephalitis víruscsalád 4 izolátuma mind a 8 vizsgálatismétlésben reaktív volt. Ez az eredmény várható volt, mert az említett vírusok nukleotidszekvenciája homológ a nyugat-nílusi vírusével, valamint a **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt primerjeivel és próbáiával.

6. táblázat
Vizsgált mikroorganizmusok

Adenovírus 2-ös típus	Hepatitis C vírus, 6-os genotípus	HIV-1, A altípus
Adenovírus 3-ös típus	HTLV-I-t termelő MJ (G11) sejtek	HIV-1, B altípus
Adenovírus 7-ös típus	HTLV-I-t termelő (C5/MJ) sejtek	HIV-1, C altípus
<i>Candida albicans</i>	HTLV-II-t termelő (MoT) sejtek	HIV-1, D altípus
Cytomegalovírus Davis	(DeltaH6H11) teljes hosszúságú HTLV-II	HIV-1, E altípus
Cytomegalovírus Towne	Herpes simplex I F	HIV-1, F altípus
Epstein-Barr vírus RAJI	Herpes simplex I HF	HIV-1, G altípus
Epstein-Barr vírus P3	Herpes simplex I MacIntyre	HIV-1, H altípus
Hepatitis A vírus (PA 21)	Herpes simplex II G	HIV-2
Hepatitis B vírus, A genotípus	Herpes simplex II MS	<i>Pneumocystis carinii</i> D&D
Hepatitis B vírus, B genotípus	Humán papilloma vírus, 11-as típus	<i>Propionibacterium acnes</i>
Hepatitis C vírus, 1a genotípus	Humán papilloma vírus, 18-as típus	<i>Staphylococcus aureus</i>
Hepatitis C vírus, 1b genotípus	Humán papilloma vírus, 6B típus	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Hepatitis C vírus, 2a genotípus	Influenza A vírus (A/New Jersey/8/76)	Japán encephalitis vírus
Hepatitis C vírus, 2b genotípus	Influenza B vírus (B/Hong Kong/5/72)	Murray Valley encephalitis vírus
Hepatitis C vírus, 3-as genotípus	Varicella-zoster vírus Ellen	St. Louis encephalitis vírus
Hepatitis C vírus, 4-as genotípus	Varicella-zoster vírus Oka	Kunjin vírus
Hepatitis C vírus, 5-as genotípus		

Analitikai specificitás – egyéb kórallapotok

10–20 beteg plazmamintáját vizsgálták a betegségek következő kategóriáiban (cytomegalovírus-fertőzés, hepatitis A vírusfertőzés, hepatitis B vírusfertőzés, hepatitis C vírusfertőzés, humán immundeficiencia vírus (HIV-1), Epstein Barr vírusfertőzés) úgy, hogy a **cobas®** TaqScreen WNV teszt kimutatási határához képest 3-szoros koncentrációhoz adtak, illetve nem adtak nyugat-nílusi vírust. A **cobas®** TaqScreen WNV teszt nem reaktív eredményt adott minden kórallapotú beteg mintájánál, ahol nem adtak a mintához WNV-t, és reaktív eredményt adott minden kórallapotú beteg mintájánál, ahol a mintához WNV-t adtak. Ezek a kórallapotok nincsenek hatással a **cobas®** TaqScreen WNV teszt szenzitivitására vagy specificitására.

Potenciálisan zavaró anyagok

Endogén zavarást okozó anyagok

Abnormálisan magas szintű trigliceridet (2487 mg/dl-ig), hemoglobint (516 mg/dl-ig), bilirubint (23,5 mg/dl-ig), illetve albumint (6900 mg/dl-ig) tartalmazó plazmamintákat vizsgáltak úgy, hogy a **cobas®** TaqScreen WNV teszt kimutatási határához képest 3-szoros koncentrációhoz adtak, illetve nem adtak nyugat-nílusi vírust. Ezek az endogén anyagok nem voltak hatással a **cobas®** TaqScreen WNV teszt szenzitivitására vagy specificitására.

Diagnosztizált autoimmun állapotú/betegségű (antinukleárisantitest-pozitív, RF-pozitív, illetve szisztémás lupus erythematosus) betegek plazmamintáját úgy vizsgálták, hogy a **cobas®** TaqScreen WNV teszt kimutatási határához képest 3-szoros koncentrációhoz adtak, illetve nem adtak nyugat-nílusi vírust. Ezek az endogén anyagok nem voltak hatással a **cobas®** TaqScreen WNV teszt szenzitivitására vagy specificitására.

Annai vörösvértestet adtak plazmamintákhoz, amivel abnormálisan magas (legfeljebb 10% v/v) szintet értek el, és ezeket úgy vizsgálták, hogy a **cobas®** TaqScreen WNV teszt kimutatási határához képest 3-szoros koncentrációhoz adtak, illetve nem adtak nyugat-nílusi vírust. A vörösvértesttel dúsított plazma 10% (v/v) hatással volt a **cobas®** TaqScreen WNV teszt szenzitivitására, illetve specificitására.

Exogén zavaró anyagok

Abnormálisan nagy koncentrációjú acetaminofen (1324 µmol/l), acetyl-salicilsav (3,62 µmol/l), atorvasztatin (600 Eq/l), fluoxetin (11,2 µmol/l), loratadin (0,78 µmol/l), nadolol (3,88 µmol/l), naproxen (2170 µmol/l), paroxetin (3,04 µmol/l), szertralin (1,96 µmol/l), aszkorbinsav (284 µmol/l), ibuprofen (2425 µmol/L), illetve fenilefrin HCl (327,5 µmol/L) tartalmú plazmamintákat vizsgáltak úgy, hogy a **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt kimutatási határához képest 3-szoros koncentrációhoz adtak, illetve nem adtak nyugat-nílusi vírust. Ezek az exogén anyagok nem voltak hatással a **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt szenzitivitására vagy specificitására.

KADÁVER DONOR MINTÁK

Reprodukálhatóság

Húszt élő donor EDTA plazmamintát és 20 egyéni kadáver EDTA plazmamintát oltottak be WNV vírustargettel, és a Roche WNV másodlagos standardjával a végkoncentráció az egyes minták hemolizisszintjének megfelelően a LOD 3-szorosa lett. A kadávermintákat **cobas**[®] TaqScreen kadáverminta-hígítóval 1:5 arányban manuálisan hígították, majd kadáverminta-vizsgálati módszerrel vizsgálták. Mind a 20 élő donort és kadávermintát 2 felhasználó vizsgálta egyenként három különböző készlettel a **cobas**[®] TaqScreen WNV teszttel. Egy felhasználó egy **cobas s** 201 rendszeren dolgozott, vagyis két felhasználó-készülék pár volt.

Minden érvényes reprodukálhatósági eredményt úgy elemeztek, hogy az élő donor és a kadávermintákba oltott WNV vírustargetek reaktív arányát a három készlettel (7. táblázat), illetve a két felhasználó-készülék pár szerint (8. táblázat) összehasonlították. Az eredményeket egyoldalas Fisher egzakt próba segítségével értékelték annak meghatározására, hogy az élő donor és kadáverminták közötti reaktív arányának különbsége szignifikáns-e.

7. táblázat

A reprodukálhatóság összefoglalása kadáverminták és élő donor minták esetében – eredmények készlettel szerint

Vírustarget	Donortípus	1. tétel	2. tétel	3. tétel	p-érték élő- vs. kadáverminta
WNV	Kadáver	40 / 40 (100%)	39 / 39* (100%)	40 / 40 (100%)	1,0
	Élő	39 / 39* (100%)	39 / 39* (100%)	40 / 40 (100%)	
Egyoldalas p-érték élő- vs. kadáverminta, reagenstelenként		1,0	1,0	1,0	

* Egy ismétlés érvénytelen volt

Megjegyzés: A 0,05-nél nagyobb Fisher egzakt próba p-értékei nem számítanak statisztikailag szignifikánsnak

8. táblázat

A reprodukálhatóság összefoglalása kadáverminták és élő donor minták esetében – eredmények felhasználó-készülék párok szerint

Vírustarget	Donortípus	1. felhasználó- készülék pár	2. felhasználó- készülék pár	p-érték élő- vs. kadáverminta
WNV	Kadáver	60 / 60 (100%)	59 / 59* (100%)	1,0
	Élő	59 / 59* (100%)	59 / 59* (100%)	
Egyoldalas p-érték élő- vs. kadáverminta, készülék- felhasználó páronként		1,0	1,0	

* Egy ismétlés érvénytelen volt

Megjegyzés: A 0,05-nél nagyobb Fisher egzakt próba p-értékei nem számítanak statisztikailag szignifikánsnak

Specifititás

WNV RNS-re negatív 70 egyéni élő donor és 71 egyéni kadáver EDTA plazmamintáját három csoportba sorolták, és az egyes csoportok mintáit háromféle reagenstétellel **cobas®** TaqScreen WNV tesztkészlet egyikével vizsgálták. A kadáverek EDTA plazmamintáit három, 25, 21 és 25 tagú csoportra osztották, manuálisan 1:5 arányban hígították a **cobas®** TaqScreen kadáverminta-oldószerrel, és a kadáverminta-vizsgálati eljárással vizsgálták. Az élő donorok EDTA plazmamintáit három, 25, 20 és 25 tagú csoportra osztották, manuálisan 1:6 arányban hígították WNV RNS-re negatív EDTA csoportos plazmamintával a vizsgálat előtt, és ezzel szimulálták a **cobas®** TaqScreen WNV teszthez ajánlott hatos vizsgálati eljárást.

A kadáverminták esetében 69 érvényes eredményt kaptak három készlettel alkalmazásával. Mind a 69 eredmény nem reaktív volt WNV RNS-re, és így 100%-os specificitást mutatott. Az élő donor minták esetében hetven érvényes eredményt kaptak a három készlettel alkalmazásával. Az egyik mintát az első vizsgálat reaktívnak mutatta, de amikor a vizsgálatot megismételték két példányban, nem volt reaktív WNV RNS-re. A specificitási vizsgálat eredményeinek összefoglalását a 9. táblázat tartalmazza.

9. táblázat
A cobas® TaqScreen WNV vizsgálat specificitási vizsgálatának
összefoglalása kadáver- és élő donor minták esetében

Reagens-tétel	Kadáver donor minták			Élő donor minták (1:6 hígításban)		
	Érvényes eredmények száma	Nem reaktív eredmények száma	Reaktív eredmények száma	Érvényes eredmények száma	Nem reaktív eredmények száma	Reaktív eredmények száma
1. tétel	23	23	0	25	25	0
2. tétel	21	21	0	20	20	0
3. tétel	25	25	0	25	24	1**
Összes	69*	69	0	70	69	1
Specificitás	100%			98,6%		

*Nem szerepelnek az első érvénytelen eredmények

**Nem reaktív eredmény a vizsgálat két példányban történő megismétlésekor

Az analitikai érzékenység kadávermintáknál a Roche WNV másodlagos standardjával

A **cobas®** TaqScreen WNV teszt kimutatási határát (LOD) kadáverek EDTA plazmamintáiban a Roche WNV másodlagos standardjával értékelték ki (Zeptomatrix nyugat-nílusi víruskultúra, NY 2001-6263, tételes szám: 302142, a Health Canada WNV referenciastandardja alapján kalibrálva). Mérsékelt hemolizált paneleket állítottak össze a standard olyan vírusra negatív kadáver EDTA plazmacsoportba hígításával, amelyben az egyes kadáverminták a mérsékelt hemolizált minták kategóriájába tartoztak (a színük a szalmasárgától a rózsaszínig terjedt). A nagy fokban hemolizált mintamátrix mesterséges mátrix volt, és hosszabb ideig tárolt, lizált teljes vér és EDTA plazma keverékből állt, így nagy fokban hemolizált klinikai mintát szimulált (a színe vöröstől sötétvörösre vagy barnáig terjedt). A nagy fokban hemolizált mintamátrixot a hígított panelek előkészítése előtt WNV RNS-re negatívnak vizsgálták. A mérsékelt hemolizált paneleket a **cobas®** TaqScreen WNV teszt két készlettelével, a nagy fokban hemolizált paneleket a **cobas®** TaqScreen WNV teszt egy készlettelével vizsgálták. Mindegyik mátrix esetében az összes ismétlés vizsgálatának összesített adatai alapján a LOD értékét a pozitívítási arány alapján határozták meg 95%-os (egyoldali) alsó konfidenciahatárral. PROBIT analízist is végeztek a 95%-os kimutatási határ (LOD) és a kétoldali 95%-os fiduciális konfidencia-intervallumok becslésére (10. és 11. táblázat). Amikor mérsékelt hemolizált kadávermintákat vizsgáltak a Roche WNV másodlagos standardjával, a becslött 95%-os LOD 117,4 kópia/ml volt, a nagy fokban hemolizált mintamátrixban pedig 365,1 kópia/ml.

10. táblázat
Az analitikai érzékenység összefoglalása a Roche WNV másodlagos standardjával
mérsékelt hemolizált kadávermintákban

Névleges bevitel (kópia/ml)	Reaktívak száma	Egyéni vizsgálatok száma	Reaktívak %	95%-os alsó konfidencia határ (egyoldali)
40	28	43	65,1	51,5%
90	38	44	86,4	74,9%
120	64	66	97,0	90,8%
140	64	66	97,0	90,8%
160	65	66	98,5	93,0%
200	65	66	98,5	93,0%
PROBIT analízis	Kimutatási arány (%)	Koncentráció (kópia/ml)	Alsó 95%-os konfidenciahatár (kópia/ml)	Felső 95%-os konfidenciahatár (kópia/ml)
	95	117,4	97,8	150,7

11. táblázat
Az analitikai érzékenység összefoglalása a Roche WNV másodlagos standardjával
nagy fokban hemolizált mintamátrixnál

Névleges bevitel (kópia/ml)	Reaktívak száma	Egyéni vizsgálatok száma	Reaktívak %	95%-os alsó konfidencia határ (egyoldali)
200	39	44	88,6	77,6%
330	43	44	97,7	89,7%
400	43	44	97,7	89,7%
425	43	43*	100,0	93,3%
450	43	44	97,7	89,7%
525	43	44	97,7	89,7%
PROBIT analízis	Kimutatási arány (%)	Koncentráció (kópia/ml)	Alsó 95%-os konfidenciahatár (kópia/ml)	Felső 95%-os konfidenciahatár (kópia/ml)
	95	365,1	285,6	873,0

* Egy ismétlés érvénytelen volt

Érzékenység

Hatvan véletlenszerűen kiválasztott kadáver EDTA plazmamintáját, amely nem volt reaktív WNV RNS-re és amelyet hemolizisszint szerint [mérsékelt hemolizált minta (szalmasárgától rózsaszínűig), illetve nagy fokban hemolizált minta (a színük vöröstől sötétvörösig vagy barnáig terjedt)] osztályoztak, 5 darab, csoportonként 12 mintát tartalmazó csoportba soroltak. Az egyes csoportokba tartozó mintákat WNV vírális targettel oltották csoportonként eltérő klinikai vírus izolátumokkal. Így érték el a mintegy 570 kópia/ml (3 x 190 kópia/ml) végkoncentrációt a mérsékelt hemolizált kadávermintáknál, és a mintegy 990 kópia/ml (3 x 330 kópia/ml) végkoncentrációt a nagy fokban hemolizált kadávermintáknál. Ezeket a WNV RNS-sel oltott mintákat vagy közvetlenül az oltás után, vagy egy hónappal később vizsgálták, amelynek során a mintákat $\leq -80^{\circ}\text{C}$ hőmérsékleten tárolták. A vizsgálat előtt mindegyik mintát manuálisan hígították 1:5 arányban a **cobas**® TaqScreen kadáverminta-oldószerezellel. A tizenkettő közül négy mintát vizsgáltak minden csoportban egy-egy reagens-készlettel. Ebben a vizsgálatban összesen három reagens-készletet használtak, reagens-készletként összesen 20 mintát vizsgáltak. A **cobas**® TaqScreen WNV teszt reaktivitási aránya 100% volt [95% CI: 94–100%] a vizsgálatban vizsgált összes kadávermintára. Az érzékenységi vizsgálat eredményeinek összefoglalását a 12. táblázat tartalmazza.

12. táblázat
A WNV vizsgálat érzékenységének összefoglalása mérsékelt hemolizált (MH) és nagy fokban hemolizált (HH) kadáverminták esetében

Készlettel	Kadáverminta típusa	WNV
1. tétel	MH	14/14
	HH	6/6
2. tétel	MH	13/13
	HH	7/7
3. tétel	MH	16/16
	HH	4/4
Összes	MH + HH	60/60
Érzékenység	100% [95% CI: 94,0–100%]	

KLINIKAI TELJESÍTMÉNY – ÉLŐ DONOR MINTÁK

Klinikai érzékenység – az ismerten WNV-pozitív minták klinikai érzékenységének vizsgálata

A **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt klinikai érzékenységét 315 különálló, nyugat-nílusi vírusra pozitív klinikai minta vizsgálatával állapították meg. A mintákról három nukleinsav-vizsgálat egyikével állapították meg, hogy nyugat-nílusi vírus RNS-pozitívak. A vizsgálatot 3 laboratóriumban végezték. Az egyes helyszíneken körülbelül 100-100 mintát vizsgáltak tisztán és 1:6 arányban hígítva a **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt három különböző készlettelével.

A **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt érzékenysége e szerint a vizsgálat szerint a tiszta mintáknál 100% volt (95% CI 98,8–100,0), az 1:6 arányban hígított mintáknál pedig 97,5% (95% CI 95,1–98,9) (13. táblázat). A nyolc (8) nem reaktív, 1:6 arányban hígított minta olyan tiszta mintákból származott, amelyek víruskoncentrációja a National Genetics Institute WNV kvantitatív PCR vizsgálata szerint kevesebb, mint 100 kópia/ml volt.

13. táblázat
Az ismerten WNV-pozitív minták klinikai érzékenysége

	Vizsgált minták száma	Vizsgált reaktív minták száma	Vizsgált nem reaktív minták száma	Érzékenység (%)	Érzékenység (95% CI)	
					Alsó határ	Felső határ
Tiszta	314*	314	0	100	98,8	100,0
1:6 arányban hígítva	315	307	8	97,5	95,1	98,9

* Egy tiszta minta érvénytelen volt

Klinikai specifitás

A **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt klinikai specifitását véletlenszerűen kiválasztott teljesvér-mintákban vizsgálták hat külső laboratóriumi helyszínen. Különálló mintákat és hat mintából álló csoportokat vizsgáltak. A vizsgálatban a **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt három különböző készlettelét használták. A **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt klinikai specifitását az olyan WNV negatív státuszú donorok százalékarányaként (95% pontos kétoldali binomiális konfidenciaintervallum [CI]) számították ki, akiknél a **cobas**[®] TaqScreen WNV teszt nem reaktív eredményt adott. 86 935 értékelhető donor volt a csoportos vizsgálatban, és 10 375 értékelhető donor a különálló minták vizsgálatában.

A csoportos vizsgálat eredményei

A 14. táblázat a **cobas®** TaqScreen WNV teszt klinikai specificitásának számítását tartalmazza a csoportos vizsgálat 86 935 értékelhető donorára. A **cobas®** TaqScreen WNV teszt csoportos vizsgálathoz kapcsolódó klinikai specificitását ez a vizsgálat 100%-osnak találta (86 935/86 935; 95% CI = 99,996%–100,000%).

14. táblázat
A cobas® TaqScreen WNV teszt klinikai specificitása – csoportos vizsgálat

WNV végpont*	WNV-donor állapota**				Összes
	Pozitív	Pozitívnak tartott***	Negatív	Ismeretlen****	
WNV-reaktív	0 (n/a)	0 (n/a)	0 (0,000%)	0 (n/a)	0
Nem WNV-reaktív	0 (n/a)	0 (n/a)	86 935 (100,000%)	0 (n/a)	86 935
Összes	0	0	86 935	0	86 935
Klinikai specificitás (95% CI)			100,000% (99,996%, 100,000%)		

* A WNV végpontot az érvényes **cobas®** TaqScreen WNV teszt eredményéből származtatták azáltal, hogy a csoportos vizsgálati algoritmust használták az első vérvételi minták vizsgálatára.

** A „WNV-donor állapota” kategóriába sorolás programozottan történt a vizsgálat reaktivitási törvényszerűségei alapján; a donoroktól elsőként levett mintát vizsgálták, és ha volt(ak) későbbi vérvétel(ek), az(oka)t is.

*** A „WNV-donor állapota” kategóriát a program „Pozitívnak tartott” értékűnek választotta, ha az adott donortól nem történt utánkövető vérvétel, de az első vérvételi eredménye a **cobas®** TaqScreen WNV teszt szerint reaktív volt, és az első vérminta alternatív plazmaforrás, alternatív NAT vagy Igm vizsgálata reaktív/pozitív eredményt mutatott.

**** A „WNV-donor állapota” akkor lett „Ismeretlen”, ha a donor esetében nem volt elegendő vizsgálati eredmény a kategóriába soroláshoz.

A **cobas®** TaqScreen WNV teszt csoportos specificitása az első vérvételek esetében 99,986% (14 387/14 389; 95% CI = 99,950%–99,998%) volt. Két 6 tagú csoportot a **cobas®** TaqScreen WNV teszt reaktívnak mutatott, de mindkettőről kiderült, hogy tartalmaztak a **cobas®** TaqScreen WNV teszt szerint nem reaktív mintákat, amikor különálló mintaként vizsgálták őket. A belső kontroll és eszközhiba miatt 2,3% lett az érvénytelen vizsgálatok aránya a csoportos minták eredményeinél.

A mintánkénti vizsgálat eredményei

A 15. táblázat a **cobas®** TaqScreen WNV teszt klinikai specificitásának számítását tartalmazza a mintánkénti vizsgálat 10 375 értékelhető donorára. A **cobas®** TaqScreen WNV teszt mintánkénti vizsgálathoz kapcsolódó klinikai specificitását ez a vizsgálat 100%-osnak találta (10 375/10 375; 95% CI = 99,964%–100,000%). A belső kontroll és eszközhiba miatt 1,1% lett az érvénytelen vizsgálatok aránya a külön vizsgált minták eredményeinél.

15. táblázat
A cobas® TaqScreen WNV teszt klinikai specificitása – mintánkénti vizsgálat

WNV végpont*	WNV-donor állapota**				Összes
	Pozitív	Pozitívnak tartott***	Negatív	Ismeretlen****	
WNV-reaktív	0 (n/a)	0 (n/a)	0 (0,000%)	0 (n/a)	0
Nem WNV-reaktív	0 (n/a)	0 (n/a)	10 375 (100,000%)	0 (n/a)	10 375
Összes	0	0	10 375	0	10 375
Klinikai specificitás (95% CI)			100,000% (99,964%, 100,000%)		

* A WNV végpontot az érvényes **cobas®** TaqScreen WNV teszt eredményéből származtatták azáltal, hogy a csoportos vizsgálati algoritmust használták az első vérvételi minták vizsgálatára.

** A „WNV-donor állapota” kategóriába sorolás programozottan történt a vizsgálat reaktivitási törvényszerűségei alapján; a donoroktól elsőként levett mintát vizsgálták, és ha volt(ak) későbbi vérvétel(ek), az(oka)t is.

*** A „WNV-donor állapota” kategóriát a program „Pozitívnak tartott” értékűnek választotta, ha az adott donortól nem történt utánkövető vérvétel, de az első vérvételi eredménye a **cobas®** TaqScreen WNV teszt szerint reaktív volt, és az első vérminta alternatív plazmaforrás, alternatív NAT vagy Igm vizsgálata reaktív/positív eredményt mutatott.

**** A „WNV-donor állapota” akkor lett „Ismeretlen”, ha a donor esetében nem volt elegendő vizsgálati eredmény a kategóriába soroláshoz.

HIVATKOZÁSOK

1. Petersen L.R., Marfin, A.A. A primer for the clinician, *Ann Intern Med* 2002; **137**:173-179.
2. Kramer, L.D., Bernard, K.A. West Nile Virus in the western hemisphere, *Curr Opin Infect Dis* 2001; **14**(5):519-525.
3. Longo, M.C., Berninger, M.S., Hartley, J.L. 1990. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene* **93**:125-128.
4. Savva, R., McAuley-Hecht, K., Brown, T., Pearl, L. 1995. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature* **373**:487-493.
5. Mol, C. D., Arvai, A. S., Slupphaug, G., Kavli, B., Alseth, I., Krokan, H. E., Tainer, J. A. 1995. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell* **80**:869-878
6. Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P.S., Griffith, R. 1992. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. **10**:413-417.
7. Heid, C.A., Stevens, J., Livak, J.K., Williams, P.M. 1996. Real time quantitative PCR. *Genome Research* **6**:986-994.
8. Richmond, J.Y. and McKinney, R.W. (eds.). 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories HHS Publication Number (CDC) 93-8395.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Approved Guideline-Third Edition. CLSI Document M29-A3 Wayne, PA:CLSI, 2005.
10. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 41st Edition. 2000. 704 pp.
11. Saldanha, J., Shead, S., Heath, A., Drebot, M., and the West Nile Virus Collaborative Group. 2005. Collaborative study to evaluate a working reagent for West Nile virus RNA detection by nucleic acid testing. *Transfusion* **45**:97-102.
12. Briese, T., Rambaut, A., Pathmajeyan, M., Bishara, J., Weinberger, M., Pitlik, S., Lipkin, W.I. 2002. Phylogenetic analysis of human isolate from the 2000 Israel West Nile virus epidemic. *Emerging Infectious Diseases* **8**(5):528-531.
13. Hayes, C.G., West Nile Virus: Uganda, 1937, to New York City, 1999. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **951**:25-37.
14. Ji, J., Chen, X., Manak, M., 2001. TaqMan® Probe Assay for the Detection of West Nile Virus, 16th Annual San Diego Conference New Technologies for Molecular Diagnostics. *Clinical Chem.* 2001; **47**:2078-2085. (Poster 11).

Dokumentum verzióinformációi	
Doc Rev. 5.0 05/2014	„Veszélyes a környezetre” jelzés eltávolítva. Esetleges kérdésével forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.
Doc Rev. 4.0 12/2013	A MINTAVÉTEL, -TÁROLÁS ÉS -CSOPORTOSÍTÁS című rész kiegészült az Élő donor minták követelménnyel, amely szerint BD EDTA plazma-előkészítő csöveket (BD PPT) kell használni (az A részben), valamint stabilitási feltételekkel (a B részben). A használati utasítás végén frissítve lettek a harmonizált szimbólumoldal leírásai. A „Minden jog fenntartva” felirat eltávolítva a szerzői jogi nyilatkozatból. Esetleges kérdésével forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
U.S. License No. 1636



Distributed by

Roche Diagnostics (Schweiz) AG
Industriestrasse 7
68343 Rotkreuz, Switzerland

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Straße 116
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics, SL
Avda. Generalitat, 171-173
E-08174 Sant Cugat del Valès

Barcelona, Spain

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

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

A COBAS, a COBAS S, a TAQMAN, a TAQSCREEN, az AMPLILINK, az AMPERASE és az AMPLIPREP a Roche védjegyei.

A MICROLAB a Hamilton Company védjegye.

Az ARMORED RNA az Ambion, Inc. és Cenetron Diagnostics, LLC. által kifejlesztett szabadalmaztatott technológia. Az 5,677,124, 5,919,625, és 5,939,262 számú és egyéb szabadalmak kiadása az Egyesült Államokban folyamatban van. Az ARMORED RNA az Ambion és Cenetron védjegye.

A PROCLIN a Rohm and Haas Company védjegye.

A MICROCIDSE SQ a Global Biotechnologies, Inc. védjegye.

A termékben található cianinfestékeket a GE Healthcare Bio-Sciences Corp. és a Carnegie Mellon University szabadalmi jogai védik, és a Roche kizárólag arra rendelkezik engedéllyel, hogy azokat a kutatásban és *in vitro* diagnosztikai rendszerek komponenseiként felhasználja. Az ilyen rendszereknek nem kutatási vagy *in vitro* diagnosztikai célú felhasználása a GE Healthcare Bio-Sciences Corp., Piscataway, New Jersey, U.S.A. és a Carnegie Mellon University, Pittsburgh, Pennsylvania, U.S.A. további engedélyéhez kötött.

©2014 Roche Molecular Systems, Inc.

05/2014
Doc Rev. 5.0

05462975001-01



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



A Roche PCR diagnosztikai termékek jelölésére a következő jelzéseket használják.



Segédsoftver



In vitro diagnosztikai felhasználásra



Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben



Megadott tartomány alsó határa



Vonalkód adatlap



Gyártó



Lotszám



Sötétben tárolandó



Biológiai veszély



Tartalma <n> vizsgálatához elegendő



Katalógusszám



Tárolási hőmérséklet



Olvassa el a használati útmutatót



Vizsgálatdefiníciós fájl



A csomag tartalma



Megadott tartomány felső határa



Forgalmazó



Lejárat dátum



Csak IVD teljesítmény értékelésre



Ez a termék eleget tesz az *in vitro* orvosi diagnosztikai eszközökről szóló 98/79 EK irányelv előírásainak.