

# **cobas<sup>®</sup> DPX**

---

## **Duplex HAV és parvovírus B19 nukleinsavteszt**

*In vitro* diagnosztikai célra

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

# Tartalomjegyzék

<b>Rendeltetésszerű használat.....</b>	<b>4</b>
<b>A teszt összegzése és ismertetése .....</b>	<b>4</b>
<b>Reagensek és anyagok.....</b>	<b>7</b>
cobas® DPX reagensek és kontrollok .....	7
cobas omni reagensek minta-előkészítéshez.....	10
A reagensek tárolási és kezelési feltételei.....	11
További szükséges anyagok.....	12
A szükséges eszközök és szoftverek .....	12
<b>Óvintézkedések és kezelési követelmények .....</b>	<b>13</b>
Figyelmeztetések és óvintézkedések.....	13
Reagensek kezelése.....	13
Helyes laboratóriumi gyakorlat .....	14
<b>Mintavétel, szállítás, tárolás és minták egyesítése.....</b>	<b>14</b>
Élő donortól származó minták .....	14
<b>Használati utasítás.....</b>	<b>17</b>
Automatizált mintapipettázás és minták egyesítése (opcionális) .....	17
A határérték beállítása parvovírus B19 esetén .....	17
Megjegyzések az eljárással kapcsolatban .....	17
A cobas® DPX teszt futtatása.....	18
<b>Eredmények.....</b>	<b>19</b>
Minőségellenőrzés és az eredmények érvényessége.....	19
Eredmények értelmezése .....	20
Egyes minták ismételt tesztelése .....	21
Az eljárással kapcsolatos korlátozások .....	21

<b>A nem klinikai teljesítmény értékelése .....</b>	<b>22</b>
A legfontosabb teljesítményjellemzők – élődonor-minták.....	22
Kimutatási határ (LoD).....	22
A parvovírus B19 mennyiségi meghatározásának lineáris tartománya.....	23
Reprodukálhatóság.....	24
Pontosság.....	24
Genotípus-inkluzivitás – HAV .....	25
Genotípus szerinti ellenőrzés – parvovírus B19 .....	25
Analitikai specificitás.....	26
Analitikai specificitás – zavaró anyagok.....	27
Korreláció .....	28
Teljes rendszerhiba.....	29
Keresztszennyeződés .....	29
<b>Klinikai teljesítmény .....</b>	<b>30</b>
Reprodukálhatóság.....	30
<b>További információk.....</b>	<b>32</b>
A teszt legfontosabb tulajdonságai.....	32
Szimbólumok.....	33
Technikai segítségnyújtás.....	34
Gyártó és importőr.....	34
Védjegyek és szabadalmak .....	34
Szerzői jogok.....	34
Hivatkozások.....	35
Dokumentumverzió.....	38

## Rendeltetészerű használat

A cobas® DPX teszt egy *in vitro* teszt a parvovírus B19 1, 2 és 3 genotípusai DNS-ének közvetlen mennyiségi meghatározására és a hepatitis A vírus (HAV) I, II és III genotípusai RNS-ének közvetlen minőségi kimutatására emberi plazmában.

A teszt folyamatközi vizsgálatként használható csak a parvovírus B19 DNS mennyiségi meghatározására vagy a parvovírus B19 DNS és a HAV RNS egyszerre történő mennyiségi meghatározására további feldolgozásra szánt plazmából, amit teljesvér-, véralkotórész- vagy plazmadonoroktól gyűjtöttek. Minden donortól származó vagy feldolgozásra egyesített plazmát egyedi mintaként vagy egyedi minták részeiből egyesített mintaként is lehet vizsgálni.

A vizsgálat nem használható köldökzsinórvér-mintákkal.

Ennek a vizsgálatnak nem célja a parvovírus B19 vagy a HAV diagnosztizálásának elősegítése.

## A teszt összegzése és ismertetése

### Háttér: A vér szűrése a vérátömlesztéssel terjedő vírusfertőzések megelőzésére

A humán parvovírus B19 egy apró, burokkal nem rendelkező, egyszálú DNS vírus, amely a *Parvoviridae* család Erythrovirus nemzetségéhez tartozik.<sup>1</sup> A humán eritrovírusok három jól megkülönböztethető genotípusba tartoznak: 1-es genotípus (B19 törzsek), 2-es genotípus (A6 törzsek) és 3-as genotípus (V9/D91/1 törzsek).<sup>2,3</sup> Szinte minden vírusrészecske az 1-es genotípusba tartozik.<sup>1</sup> A 2-es genotípus szóróanyagban megtalálható az USA-ban, Európában és Dél-Amerikában, leginkább 1940 előtt született betegeknél.<sup>1</sup> A 3-as genotípus leginkább Észak- és Nyugat-Afrikában fordul elő, de Franciaországban is azonosították.<sup>1</sup>

A parvovírus B19 gyakori, világszerte elterjedt kórokozó. A lezajlott fertőzésre utaló keringő B19 IgG antitestek előfordulási aránya a kórral növekszik: 1–4 éveseknél körülbelül 20%, felnőtteknél meghaladja a 60%-ot, időskorú populációkban pedig akár 85%-os is lehet.<sup>4–6</sup> Bár az antitestek előfordulnak a népességben, a virémia vagy a vírus DNS-ének jelenléte ritka.<sup>4</sup> A klinikai értelemben vett betegség megnyilvánulása és súlyossága a fertőzött egyén immunológiai és hematológiai állapotától függ.<sup>1,7,8</sup> Immunokompetens személyeknél a fertőzés gyakran tünetmentes vagy enyhe, magától gyógyuló betegséget okoz, például gyermekeknél eritéma infekciózsumot („ötödik betegség”), felnőtteknél pedig ízületi bántalmakat.<sup>1,7,9,10</sup> A parvovírus B19 azonban súlyos betegséget is okozhat, például tranzitorikus aplasztikus vérszegénységet hematológiai rendellenességek esetén vagy hydrops fetalist, veleszületett vérszegénységet és spontán vetélést.<sup>1,7,11–13</sup> A vérben, illetve a plazmadonoroknál a parvovírus B19 előfordulási aránya 0,16–0,9%, a legtöbb esetben nagyon alacsony szintű virális DNS-sel.<sup>14–18</sup> A plazmafeldolgozó iparágban származó tanulmányok alacsonyabb előfordulási arányról számolnak be.<sup>19</sup>

A parvovírus B19 általában cseppfertőzéssel terjed, de plazmakészítményekkel, illetve vörösvértest-transzfúzióval is átvihető.<sup>1,20</sup> A szakirodalom jól leírja a parvovírus B19 DNS kimutatását és a plazmakészítmények, például VIII. faktor koncentrátum, más koagulációs faktorok és oldószer/detergens-kezelt egyesített plazma recipienseibe való átvitelét.<sup>20–30</sup> A szerzők szerint a plazmakészítményekkel történő átvitel összefügghet az egyesített plazmaminták méretével, az akut, szubklinikus parvovírus B19-fertőzésekkel, a virális DNS magas (akár  $10^{12}$  IU/ml-es) szintjével a virémiás vérdonációkban, és azzal, hogy a parvovírus B19 rezisztens az olyan szokásos vírus-inaktiváló vagy -eltávolító lépésekkel szemben, amilyen például az oldószer/detergens- (*Solvent/Detergent* – S/D) kezelés vagy a pasztörizálás.<sup>20,21,27–30</sup> Nagyon kevés klinikai esetet jelentettek, amikor vörösvértest-transzfúzió során parvovírus B19-átvitel történt.<sup>20</sup> Az is rendkívül ritka, hogy a parvovírus B19 DNS alacsony vagy mérsékelt ( $< 10^6$  IU/ml) szintjével rendelkező véralkotórészek recipienseibe történik átvitel.<sup>20</sup>

A HAV egy apró, burokkal nem rendelkező RNS-vírus, amely a *Picornaviridae* család Hepatovirus csoportjához tartozik.<sup>31</sup> A HAV világszerte elterjedt, és átvitele orális-fekális úton történik, főként szoros kontaktus esetén.<sup>32-34</sup> Több genotípusát és altípusát azonosították.<sup>34</sup> A fejlődő országokban, ahol rosszak a higiénés feltételek, gyakoriak a járványok. A fertőzés általában korai életszakaszban történik, így a népesség nagy része rendelkezik HAV-ellenanyaggal.<sup>31-34</sup> Az iparosodott országokban a vírus előfordulási aránya csökkent és az oltóanyagok széles körben elérhetőek, ezért a fertőzés inkább felnőtt korban történik.<sup>31,34</sup> Észak-Európában, Japánban, Kanadában és az USA-ban a vírus előfordulási aránya a népességben nagyon alacsony (~0,01%), és a kitörések elsősorban a nagyobb kockázatú csoportokhoz, például az endémiás területre utazókhöz kapcsolódnak.<sup>32,33</sup>

Az emberi HAV-fertőzések súlyossága a főként kisgyermeknél előforduló tünetmentes fertőzéstől a heveny hepatitisig terjed; az utóbbi egyes esetekben halálhoz vezethet.<sup>31,32</sup> A HAV akut fertőzést okoz, ami krónikushordozó-állapot nélkül zajlik le, így a HAV ritkán okoz transzfúzióval átvitt fertőzést, és a vérellátó szolgálatok nem tesztelik a levett vért HAV jelenlétére, hanem a donor kórtörténete alapján szűrik ki a hepatitises kórelőzményű donorokat.<sup>35</sup> Csak kevés transzfúzióval átvitt HAV-fertőzést jelentettek. Ezek enyhe májbetegséget okoztak.<sup>36,37</sup> Bár a szerológiai ablak időszakában fertőző HAV található a vérben, a HAV transzfúzióval való átvitelének kockázata nagyon alacsony.<sup>35,38</sup> Beszámoltak tünetmentes virémiás állapotú donoroktól való HAV-átvitelről is.<sup>35-38</sup> A HAV-nak nincs lipidburka, ezért nem lehet könnyen inaktiválni S/D kezeléssel vagy pasztörizálással például plazmaszármazékok előállításánál.<sup>35</sup> Ezért számoltak be a HAV átviteléről plazmakészítményekkel, főként koagulációs faktorokkal.<sup>36,39,40</sup>

Míg egy vérdonáció tartalmazhat mind parvovírus B19 DNS-t, mind HAV RNS-t, a parvovírus B19 és a HAV együtt előforduló fertőzésének gyakoriságát a donorok között nem tanulmányozták kellőképpen és nem dokumentálták a szakirodalomban.<sup>41-43</sup> Olyan csecsemőknél és gyermekeknél, akik nem tartoznak a donorpopulációhoz, beszámoltak már a parvovírus B19- és a HAV-fertőződés egyszerre történő előfordulásáról.<sup>41-43</sup> A kétféle fertőzés egyszerre való fennállásának kockázatát a vírusok előfordulási arányai alapján lehet kiszámítani. Bár a HAV előfordulási arányát a donorok körében nem ismerjük pontosan, a népességben ~0,01%-os, a forrás plazmadonor-populációban pedig alacsonyabb (~0,0004%).<sup>32,33,44,45</sup> A parvovírus B19 ~0,9%-os előfordulási arányával<sup>14-18</sup> számolva a parvovírus B19/HAV kombinációval való fertőzöttség ~0,000036%-os lehet (0,0004% × 0,9%), vagyis minden ~28 000 000 donációból 1.

## A NAT-teszt elméleti alapjai

A HAV- és parvovírus B19-fertőződést NAT-teszteléssel lehet kimutatni. 2000 elején néhány plazmafeldolgozó kezdeményezte a tovább feldolgozandó plazma szűrését HAV RNS- és parvovírus B19 DNS-teszteléssel, miután jelentették, hogy egyes esetekben mindkét vírus átvitele megtörtént plazmakészítményekkel.<sup>46</sup> A folyamatközi vizsgálatnak tekintett NAT-tesztelés célja minden HAV-val szennyezett egység eltávolítása és a parvovírus B19-terhelés csökkentése volt az egyesített plazmában.<sup>47</sup> 2004-től az Európai Gyógyszerkönyv szerint minden plazmafeldolgozónak biztosítani kell, hogy a humán anti-D immunoglobulin gyártására használt, feldolgozásra egyesített plazma és a vírus-inaktiválással kezelt egyesített humán plazma parvovírus B19 DNS-szintje  $10^4$  IU/ml alatt legyen.<sup>48</sup> Ehhez hasonló egy 2009-es FDA-irányelv ajánlása, ami szerint a plazmakészítmények előállításánál parvovírus B19 NAT vizsgálatot kell végezniük minden plazmából származó terméken, hogy a feldolgozásra egyesített plazma parvovírus B19 DNS víruskoncentrációja ne haladja meg a  $10^4$  IU/ml értéket.<sup>47</sup> A szabályozók jelenleg sem az USA-ban, sem Európában nem követelik meg a további feldolgozásra egyesített plazma HAV NAT-tesztelését, de az európai törvényi előírások szerint ha a folyamatközi vizsgálatok során a feldolgozásra egyesített plazmában HAV NAT tesztet végeznek, a tesztnek ki kell tudnia mutatni a  $100$  IU/ml-t tartalmazó HAV RNS kontrollt.<sup>49</sup>

## A vizsgálat háttere

A cobas® DPX teszt a cobas® 6800 és a cobas® 8800 rendszeren futtatható duplex teszt. A cobas® DPX teszt a parvovírus B19 1, 2 és 3 genotípusai DNS-ének mennyiségi meghatározását és ezzel egy időben a hepatitis A vírus (HAV) I, II és III genotípusai RNS-ének minőségi kimutatását szolgálja emberi plazmában.

## Az eljárás alapelvei

A cobas® DPX vizsgálat alapja a valós idős PCR-technológia, valamint a teljesen automatizált minta-előkészítés (nukleinsav-kinyerés és -tisztítás), amelyet PCR-amplifikálás és -kimutatás követ. A cobas® 6800/8800 rendszerek ugyanazon mintaadagoló, szállító-, feldolgozó- és elemzőmodulokból állnak. Az automatizált adatkezelést a cobas® 6800/8800 szoftver végzi, ami a WHO B19 nemzetközi standardból közvetlenül származtatott mennyiségi standard (QS) segítségével számítja ki a mennyiségi teszteredményeket (IU/ml mértékegységben) a parvovírus B19-hez.<sup>47</sup> A cobas® 6800/8800 szoftver ezen felül a hepatitis A vírus jelenlétét is vizsgálja, és nem reaktív, reaktív vagy érvénytelen teszteredményt rendel a mintákhoz. Az eredményeket közvetlenül a rendszer képernyőjén lehet áttekinteni vagy jelentésként nyomtatni.

A mintákat egyenként vagy több mintából álló pool-okban lehet tesztelni. Ha a mintákat egyesítve tesztelik, a cobas p 680 készülék vagy a cobas® Synergy szoftver a Hamilton Microlab® STAR/STARlet IVD-vel preanalitikai lépés elvégzéséhez is használható.

A donormintából és a hozzáadott Armored RNS belső kontroll (*Internal Control* – IC) és DNA QS molekulákból (amelyek a minta-előkészítési és amplifikációs/kimutatói eljárás során kontrollként működnek) származó nukleinsavak kinyerése egyszerre zajlik. A mintába proteináz és lízisreagens kerül, és ennek hatására a vírus nukleinsavai felszabadulnak. A felszabadult nukleinsav a hozzáadott mágneses üvegpartikulumok szilikonfelületéhez köt. A szabadon maradt anyagokat és szennyeződések, például a denaturált fehérjét, sejttörmelékét és lehetséges PCR-inhibitorokat (például hemoglobint) az ezt követő mosóreagens-lépések eltávolítják, és egy eluáló puffer magasabb hőmérsékleten eluálja a tisztított nukleinsavat a mágneses üvegpartikulumokról.

A donortól vett mintában a target nukleinsav szelektív amplifikálása a vírusra specifikus forward és reverz primerekkel történik, amelyek a vírusnukleinsav nagy fokban konzervált régióiból kötnek be. A teszt mind a reverz transzkripcióhoz, mind az amplifikáláshoz hőstabil DNS-polimeráz enzimet használ. A master mix dezoxitimidin-trifoszfát (dTTP) helyett dezoxiuridin-trifoszfátot (dUTP) tartalmaz, amely beépül az újonnan szintetizált DNS-be (amplikon).<sup>50-52</sup> A PCR első hevítési lépése során a PCR Master Mix reagensben lévő AmpErase enzim [uracil-N-glikoziláz] az előző PCR-futtatásokból származó minden szennyező amplikont bont. Az újonnan kialakuló amplikonokat viszont nem semmisíti meg, mert az 55 °C-ot meghaladó hőmérséklet miatt az AmpErase enzim maga is inaktív lesz.

A cobas® DPX Master Mix a B19-re és HAV-ra, valamint a QS és IC nukleinsavra specifikus kimutatói próbákat tartalmaz. A B19, HAV, IC és QS kimutatói próbákat négyféle, jelzőfestékként viselkedő egyedi fluoreszcens festék (reporter) egyikével jelölik meg. A próbák egy ötödik festékkel (quencher) is rendelkeznek, ami a blokkolást végzi. A négy jelzőfestéket a teszt meghatározott hullámhosszokon méri, és így az amplifikált B19 és HAV targetet, valamint az IC-t és QS-t egyszerre tudja észlelni és megkülönböztetni.<sup>53, 54</sup> Az érintetlen próbák fluoreszcens jelét a blokkolófesték elfedi. A PCR-amplifikálási lépés során a próbák a specifikus, egyszálú DNS-templáthoz hibridizálnak. Ennek eredményeként a próbát a DNS-polimeráz 5'-3'-nukleázaktivitása hasítja, így a jelzőfesték és a blokkolófesték elválik, és fluoreszcens jel keletkezik. Minden egyes PCR-ciklus során megnő a hasított próbák mennyisége, és ennek velejárójaként növekszik a jelzőfestékből származó jel összesített nagysága is. Mivel a négy jelzőfestéket a teszt meghatározott hullámhosszokon méri, az amplifikált B19 és HAV targeteket, valamint a QS-t és az IC-t egyszerre tudja észlelni és megkülönböztetni.

# Reagensek és anyagok

## cobas® DPX reagensek és kontrollok

Minden felbontatlan reagenst és kontrollt az 1. táblázat – 4. táblázat ajánlásai szerint tároljon.

### 1. táblázat cobas® DPX teszt

#### cobas® DPX teszt

Tárolás: 2–8 °C





192 tesztkazetta (P/N 09171126190)

A készlet összetevői	Reagens-összetevők	Készletenkénti mennyiség
<b>Proteinázoldat (PASE)</b>	Tris puffer, < 0,05% EDTA, kalcium-klorid, kalcium-acetát, 8% proteináz, glicerin EUH210: Kérésre biztonsági adatlap kapható. EUH208: <i>Bacillus subtilis</i> -ből származó szubtilizint tartalmaz. Allergiás reakciót válthat ki.	22,3 ml
<b>DPX belső kontroll és mennyiségi standard (DPX IC/QS)</b>	Tris puffer, < 0,05% EDTA, < 0,01% belső kontroll Armored RNS-konstrukció (nem fertőző RNS MS2 bakteriofágban), < 0,01% nem fertőző, szintetikus QS B19 DNS lambda bakteriofág burokféhrjében, < 0,002% Poly rA RNS (szintetikus), < 0,1% nátrium-azid	21,2 ml
<b>Eluáló puffer (EB)</b>	Tris puffer, 0,2% metil-4-hidroxi-benzoát	21,2 ml
<b>Master Mix reagens 1 (MMX-R1)</b>	Mangán-acetát, kálium-hidroxid, < 0,1% nátrium-azid	7,5 ml
<b>DPX Master Mix reagens 2 (DPX MMX-R2)</b>	Tricin puffer, kálium-acetát, glicerin, 18% dimetil-szulfoxid, Tween 20, EDTA, < 0,06% dATP, dGTP, dCTP, < 0,14% dUTP, < 0,01% upstream és downstream parvovírus B19-, HAV-, belsőkontroll- és mennyiségistandard-primer, < 0,01% fluoreszcensen jelölt parvovírus B19- és HAV-próba, < 0,01% fluoreszcensen jelölt parvovírus B19 QS- és HAV IC-próba, < 0,01% oligonukleotid aptamer, < 0,01% Z05D DNS-polimeráz, < 0,01% AmpErase (uracil-N-glikoziláz) enzim (mikrobiális), < 0,1% nátrium-azid	9,7 ml

## 2. táblázat Kontroll-készlet cobas® DPX Control Kit

## cobas® DPX Control Kit

2-8 °C-on tárolandó  
(P/N 09040749190)

A készlet összetevői	Reagens-összetevők	Készletenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés*
<b>DPX kettős pozitív kontroll (DPX D(+ )C)</b>	<p>&lt; 0,001% szintetikus (Armored) HAV RNS MS2 bakteriofág buroklehéjébe csomagolva, &lt; 0,001% szintetikus (plazmid) parvovírus B19 DNS Lambda bakteriofág buroklehéjébe csomagolva, normál humán plazma, engedélyezett vizsgálatok alapján nem reaktív B19-antitestre, HAV RNS nem kimutatható PCR-eljárásokkal, B19 DNS nem kimutatható PCR-eljárásokkal vagy a kontroll funkcionalitását nem befolyásoló szintű (<math>\leq 5</math> IU/ml)</p> <p>0,1% ProClin® 300 tartósítószer**</p>	8 ml (8 × 1 ml)	  <p><b>FIGYELEM</b></p> <p>H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki. H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P261: Kerülje a gőzök vagy permet belélegzését. P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P280: Védőkesztyű használata kötelező. P333 + P313: Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. P362 + P364: A szennyezett ruhadarabot le kell vetni és újbóli használat előtt ki kell mosni. P501: A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelési üzemben. 55965-84-9 5-klór-2-metil-2H-izotiazol-3-on és 2-metil-2H-izotiazol-3-on reakcióttömege (3:1).</p>
<b>DPX magas pozitív kontroll (DPX H(+ )C)</b>	<p>&lt; 0,001% szintetikus (plazmid) parvovírus B19 DNS Lambda bakteriofág buroklehéjébe csomagolva, normál humán plazma, engedélyezett vizsgálatok alapján nem reaktív B19-antitestre, HAV RNS nem kimutatható PCR-eljárásokkal, B19 DNS nem kimutatható PCR-eljárásokkal vagy a kontroll funkcionalitását nem befolyásoló szintű (<math>\leq 5</math> IU/ml)</p> <p>0,1% ProClin® 300 tartósítószer**</p>	8 ml (8 × 1 ml)	  <p><b>FIGYELEM</b></p> <p>H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki. H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P261: Kerülje a gőzök vagy permet belélegzését. P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P280: Védőkesztyű használata kötelező. P333 + P313: Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. P362 + P364: A szennyezett ruhadarabot le kell vetni és újbóli használat előtt ki kell mosni. P501: A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelési üzemben. 55965-84-9 5-klór-2-metil-2H-izotiazol-3-on és 2-metil-2H-izotiazol-3-on reakcióttömege (3:1).</p>

\* A termék biztonsági címkéi megfelelnek az EU GHS előírásainak.

\*\* Veszélyes anyag.



**3. táblázat** Puffer negatívkontroll-készlet **cobas®** Buffer Negative Control Kit**cobas® Buffer Negative Control Kit**


2-8 °C-on tárolandó

(P/N 09051953190)

<b>A készlet összetevői</b>	<b>Reagens-összetevők</b>	<b>Készletenkénti mennyiség</b>	<b>Biztonsági jelzés és figyelmeztetés</b>
<b>Puffer negatív kontroll (Buffer-NC)</b>	Tris puffer, EDTA, 0,002% Poly rA RNS (szintetikus), < 0,1% nátrium-azid	16 ml (16 × 1 ml)	Nincs

## cobas omni reagensek minta-előkészítéshez

4. táblázat cobas omni reagensek minta-előkészítéshez\*

Reagensek	Reagens-összetevők	Készletenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés**
<b>cobas omni MGP Reagent (MGP)</b> 2–8 °C-on tárolandó. (P/N 06997546190)	Mágneses üvegparkulók, Tris puffer, 0,1% metil-4-hidroxibenzoát, < 0,1% nátrium-azid	480 teszt	Nincs
<b>cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL)</b> 2–8 °C-on tárolandó. (P/N 06997511190)	Tris puffer, 0,1% metil-4-hidroxibenzoát, < 0,1% nátrium-azid	4 × 875 ml	Nincs
<b>cobas omni Lysis Reagent (LYS)</b> 2–8 °C-on tárolandó. (P/N 06997538190)	42,56% (m/m) guanidin-tiocianát**, 5% (m/V) polidokanol**, 2% (m/V) ditiotritol**, nátrium-citrát-dihidrát	4 × 875 ml	 <p><b>VESZÉLY</b></p> <p>H302: Lenyelve ártalmas. H314: Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. H411: Mérgező a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. EUH032: Savval érintkezve nagyon mérgező gázok képződnek. EUH071: Maró hatású a légutakra. P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P280: Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő/hallásvédelem használata kötelező. P303 + P361 + P353: HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel. P304 + P340 + P310: BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. P305 + P351 + P338 + P310: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. P391: A kiömlött anyagot össze kell gyűjteni. 593-84-0 Guanidin-tiocianát 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercapto-bután-2,3-diol</p>
<b>cobas omni Wash Reagent (WASH)</b> 15–30 °C-on tárolandó. (P/N 06997503190)	Nátrium-citrát-dihidrát, 0,1% metil-4-hidroxibenzoát	4,2 l	Nincs

\* Ezeket a reagenseket a cobas® DPX tesztkészlet nem tartalmazza. Lásd a további szükséges anyagok felsorolását (7. táblázat).

\*\* A termék biztonsági címkéi megfelelnek az EU GHS előírásainak.

## A reagensek tárolási és kezelési feltételei

A reagenseket az 5. táblázatban és a 6. táblázatban szerint kell tárolni és kezelni.

Amikor a reagensek nincsenek a cobas® 6800/8800 rendszerekben, tárolja őket az 5. táblázatban szerinti hőmérsékleten.

**5. táblázat** Reagensek tárolása (amikor a reagens nincs a rendszerben)

Reagens	Tárolási hőmérséklet
cobas® DPX – 192	2–8 °C
cobas® DPX Control Kit	2–8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2–8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2–8 °C
cobas omni MGP Reagent	2–8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2–8 °C
cobas omni Wash Reagent	15–30 °C

A cobas® 6800/8800 rendszerbe behelyezett reagenseket a rendszer megfelelő hőmérsékleten tárolja, és figyeli a lejárat idejüket. A rendszer csak akkor engedi a reagensek használatát, ha a 6. táblázat minden feltétele teljesül. A rendszer automatikusan megakadályozza a lejárt reagensek használatát. A 6. táblázatban a cobas® 6800/8800 rendszerek által alkalmazott reagenskezelési szabályok felhasználói leírását tartalmazza.

**6. táblázat** A reagensek cobas® 6800/8800 rendszerekhez kapcsolódó lejárat feltételei

Reagens	Készlet lejárat ideje	A bontott készlet stabilitása	Hány futtatásra használható ez a készlet	Stabilitás a rendszerben (összes hűtőn kívül töltött idő)
cobas® DPX – 192	Nem érte el a dátumot	90 nap az első használatától	Max. 40 futtatás	Max. 40 óra
cobas® DPX Control Kit	Nem érte el a dátumot	Nincs	Nincs	Max. 8 óra
cobas® Buffer Negative Control Kit	Nem érte el a dátumot	Nincs	Nincs	Max. 10 óra
cobas omni Lysis Reagent	Nem érte el a dátumot	30 nap a betöltéstől*	Nincs	Nincs
cobas omni MGP Reagent	Nem érte el a dátumot	30 nap a betöltéstől*	Nincs	Nincs
cobas omni Specimen Diluent	Nem érte el a dátumot	30 nap a betöltéstől*	Nincs	Nincs
cobas omni Wash Reagent	Nem érte el a dátumot	30 nap a betöltéstől*	Nincs	Nincs

\* Az azóta eltelt idő, hogy a reagenst először betöltötték a cobas® 6800/8800 rendszerekbe.

## További szükséges anyagok

7. táblázat A cobas® 6800/8800 rendszerekben használt anyagok és fogyóeszközök

Anyag	P/N
<b>cobas omni</b> Processing Plate (feldolgozólemez)	05534917001
<b>cobas omni</b> Amplification Plate (amplifikálólemez)	05534941001
<b>cobas omni</b> Pipette Tips (pipettahegyek)	05534925001
<b>cobas omni</b> Liquid Waste Container (folyékonyhulladék-tároló)	07094388001
<b>cobas omni</b> Lysis Reagent	06997538190
<b>cobas omni</b> MGP Reagent	06997546190
<b>cobas omni</b> Specimen Diluent	06997511190
<b>cobas omni</b> Wash Reagent	06997503190
Szilárdhulladék-zacsó vagy Szilárdhulladék-zsák béléssel	07435967001 vagy 08030073001
Szilárdhulladék-tartály	07094361001

## A szükséges eszközök és szoftverek

A cobas® 6800/8800 szoftvert és a cobas® DPX elemzőcsomagot telepítik a készülék(ek)re. Az Instrument Gateway (IG) szerver a rendszer része.

8. táblázat Készülékek

<b>cobas® 6800/8800 rendszerek</b>	<b>P/N</b>
<b>cobas®</b> 6800 System (mozgatható platform)	05524245001 és 06379672001
<b>cobas®</b> 6800 System (rögzített platform)	05524245001 és 06379664001
<b>cobas®</b> 8800 System	05412722001
Mintaadagoló modul	06301037001
<b>Pipettázó és mintaegyesítő opciók</b>	<b>P/N</b>
<b>cobas p</b> 680 készülék	06570577001
<b>cobas® Synergy</b> szoftver elektronikus licence	09311238001
Hamilton Microlab® STAR IVD	04640535001
Hamilton Microlab® STARlet IVD	04872649001

A készülékekkel használható elsődleges és másodlagos mintacsövekkel kapcsolatos további információkat a cobas® 6800/8800 rendszerek felhasználói segédletében és a cobas p 680 készülék felhasználói segédletében, vagy a cobas® Synergy szoftver felhasználói segédletében találja.

Megjegyzés: A készülékekkel használható mintaállványok, eltömődött hegyek tárolására való állványok és állványtálcák részletes megrendelőlistájáért forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

# Óvintézkedések és kezelési követelmények

## Figyelmeztetések és óvintézkedések

Mint minden teszteljárásnál, a helyes laboratóriumi gyakorlat alapvető a teszt megfelelő kivitelezéséhez. A vizsgálat nagy érzékenysége miatt ügyeljen arra, hogy a reagensek és amplifikálási keverékek szennyeződéstől mentesek maradjanak.

- Csak *in vitro* diagnosztikai célra.
- Minden mintát fertőzőként kell kezelni a megfelelő biztonságos laboratóriumi eljárások alapján. Ilyeneket ír le a Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories és a CLSI Document M29-A4.<sup>55,56</sup> Ezt az eljárást csak a fertőző anyagok kezelésében és a **cobas® DPX** teszt, **cobas® 6800/8800** rendszerek és adott esetben a **cobas p 680** készülék, illetve a Hamilton Microlab® STAR/STARlet IVD és a **cobas® Synergy** szoftver kombinációjának használatában jártas személy végezheti.
- Minden humán eredetű anyagot potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és az általános óvintézkedések szerint kell kezelni. Kiömlés esetén azonnal fertőtlenítsen desztillált vagy ioncserélt vízzel frissen hígított, 0,6%-os koncentrációjú nátrium-hipoklorit oldattal, illetve kövesse a megfelelő helyszíni eljárásokat.
- A kontrollkészlet **cobas® DPX Control Kit** emberi vérből származó plazmát tartalmaz. A forrásanyagot engedélyezett antitest-vizsgálattal tesztelték, és nem bizonyult reaktívnek B19 IgG- és IgM-antitest jelenlétére. A normál humán plazma PCR-technikákkal történő vizsgálata során nem volt kimutatható HAV RNS, és a B19 DNS szintje vagy nem volt kimutatható, vagy annyira alacsony volt, hogy nem befolyásolta a pozitív DPX kontrollok funkcionalitását. Egyetlen ismert vizsgálati módszer sem nyújthat teljes garanciát arra, hogy a humán vérkészítményekben nincs jelen fertőző anyag.
- A teljes vért nem szabad lefagyasztani.
- Steril, egyszer használatos pipetták és nukleázmentes pipettahegyek használata javasolt. Az optimális vizsgálati feltételek biztosítása érdekében csak a mellékelt vagy a megadott szükséges fogyóeszközöket alkalmazza.
- A biztonsági adatlapok (SDS) igény esetén hozzáférhetőek a Roche helyi irodájában.
- 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.
- A keveredés a vérszövetek és plazma közötti határon vagy az anyag centrifugálás utáni diffúziója nagyobb arányú érvénytelen eredményt okozhat.
- Álpozitív eredmények fordulhatnak elő, ha a minták átvitelét a mintakezelés és -feldolgozás során nem kontrollálják megfelelően.
- Ha a vizsgálat használatakor súlyos nem várt esemény történik, tájékoztassa róla a helyi illetékes hatóságot.

## Reagensek kezelése

- A mintákkal vagy kontrollokkal történő kontamináció elkerülése érdekében minden reagenst, kontrollt és mintát a helyes laboratóriumi gyakorlat szerint kezeljen.
- Felhasználás előtt szemrevételezzon minden reagenskazettát, oldószert, lízisreagenst és mosóreagenst, hogy nem tapasztal-e szivárgásra utaló jeleket. Szivárgás esetén azt az anyagot ne használja fel a vizsgálatához.
- A lízisreagens **cobas omni Lysis Reagent** guanidin-tiocianátot tartalmaz, ami potenciálisan veszélyes vegyület. Kerülje a reagensek bőrrel, szemmel vagy nyálkahártyával való érintkezését. Ha mégis előfordul érintkezés, azonnal mossa le bő vízzel, mert ellenkező esetben égési sérülés történhet.

- A **cobas® DPX** tesztkészletek, reagens **cobas omni** MGP Reagent és a mintaoldószer **cobas omni** Specimen Diluent tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaz. Kerülje a reagensek bőrrel, szemmel vagy nyálkahártyával való érintkezését. Ha mégis előfordul érintkezés, azonnal mossa le bő vízzel, mert ellenkező esetben égési sérülés történhet. Ha a reagensek kiömlenek, szárazra törlés előtt hígítsa őket vízzel.
- Ügyeljen rá, hogy a guanidin-tiocianát tartalmú lízisreagens **cobas omni** Lysis Reagent ne lépjen érintkezésbe nátrium-hipoklorit-oldattal (fehérítő). Az ilyen keverékből erősen mérgező gáz fejlődhet.
- Az országos, állami és helyi szabályozások szerint végezze el minden olyan anyag hulladékkezelését, amely mintákkal vagy reagensekkel kapcsolatba került.

## Helyes laboratóriumi gyakorlat

- Ne pipettázzon szájjal.
- Ne egyen, igyon vagy dohányozzon a kijelölt munkaterületeken.
- A minták és reagensok kezelése közben viseljen laboratóriumi kesztyűt, köpenyt és szemvédőt. A minták, a **cobas® DPX** tesztkészletek és a **cobas omni** reagensok kezelése között a szennyeződés megelőzése érdekében váltson kesztyűt. A minták és kontrollok kezelése során ügyeljen a kesztyűk szennyezésének elkerülésére.
- Alaposan mosson kezet a minták és a készlet reagensének kezelése és kesztyűlevétel után.
- Gondosan tisztítson meg, és desztillált vagy ioncserélt vízből frissen készített 0,6% nátrium-hipoklorit oldattal fertőtlenítsen minden laboratóriumi munkafelületet. Utána törölje át a felületet 70%-os etanollal.
- Ha a **cobas® 6800/8800** készülékre folyadék ömlik, tisztítsa és fertőtlenítsa a készülék(ek) felületét a **cobas® 6800/8800** rendszerek felhasználói kézikönyvében leírtak szerint.

## Mintavétel, szállítás, tárolás és minták egyesítése

**Megjegyzés:** Valamennyi mintát és kontrollt fertőzések átvitelére alkalmasként kell kezelni.

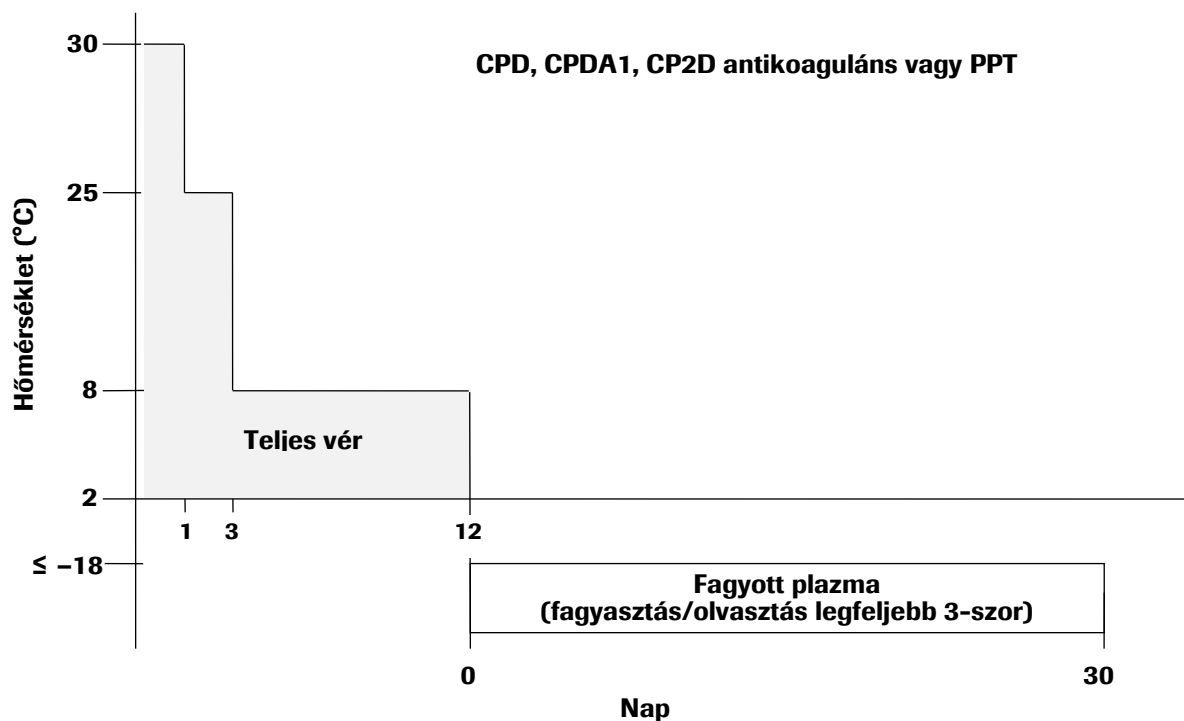
Az összes donormintát az előírt hőmérséklettartományban tárolja.

A minták stabilitását befolyásolja a magasabb hőmérséklet.

## Élő donortól származó minták

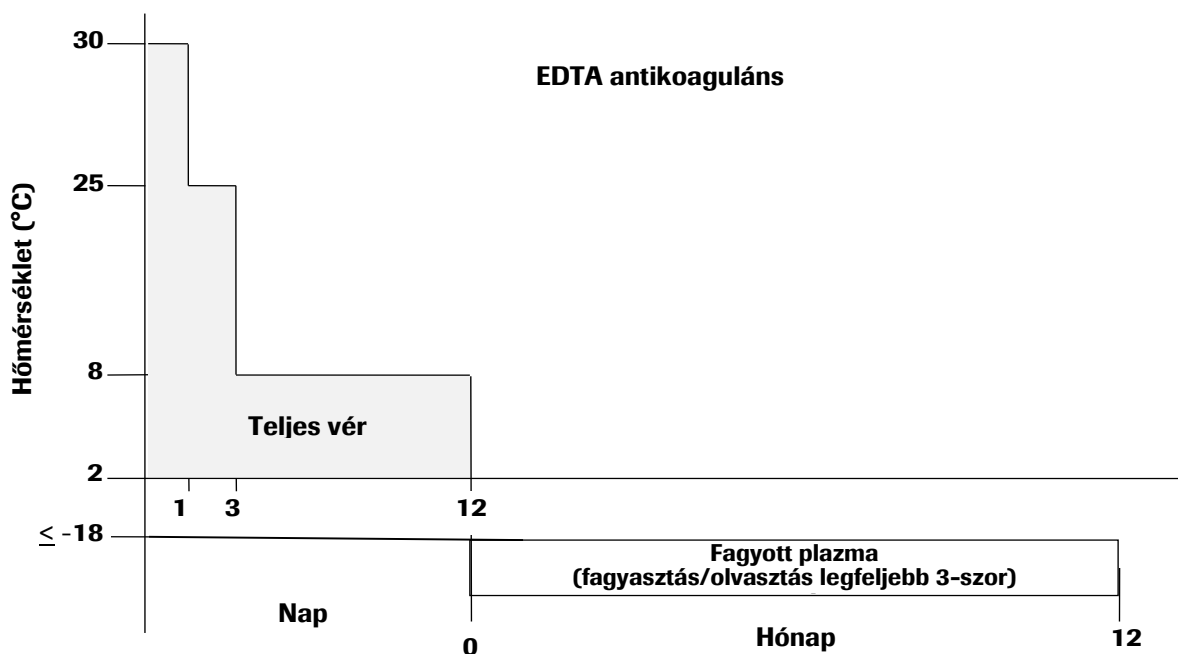
- A **cobas® DPX** tesztrel EDTA, CPD, CPDA1, CP2D és 4% nátrium-citrát antikoagulánsba levett plazma dolgozható fel. A minták kezelésére és centrifugálásra vonatkozóan kövesse a mintavevő cső/zacskó gyártójának utasításait.
- EDTA antikoagulánst tartalmazó mintagyűjtőbe vagy Becton-Dickinson EDTA plazma-előkészítő csövekbe (BD PPT™) vett teljes vér tovább centrifugálható 600 g-n 5 percen át a készülékbe helyezés előtt, esetleges mintaegyesítés (pool-ozás) vagy újratestelés esetén.
- A CPD, CPDA1, illetve CP2D antikoagulánsba vagy Becton-Dickinson EDTA plazma-előkészítő csövekbe (BD PPT™) vett vér legfeljebb 12 napon át tárolható a következő feltételek mellett:
  - A mintákat a vérvételt követő 72 órán belül centrifugálni kell.
  - 8 °C-nál magasabb tárolási hőmérséklet esetén a mintákat 72 órán át lehet tárolni legfeljebb 25 °C-on. Ebből a 72 órából 24 órát tölthetnek legfeljebb 30 °C-on.
  - A fenti kivételeken kívül a mintákat 2–8 °C-on kell tárolni. Ezen felül a sejtektől elválasztott plazma legfeljebb 30 napig tárolható ≤ –18 °C hőmérsékleten legfeljebb három fagyasztás–olvasztás ciklussal. Lásd 1. ábra.

**1. ábra** A donorminták tárolási feltételei



- Az EDTA antikoagulánsba levett vér legfeljebb 12 napig tárolható a következő feltételekkel:
  - A mintákat a vérvételt követő 72 órán belül centrifugálni kell.
  - 8 °C-nál magasabb tárolási hőmérséklet esetén a mintákat 72 órán át lehet tárolni legfeljebb 25 °C-on. Ebből a 72 órából 24 órát tölthetnek legfeljebb 30 °C-on.
  - A fenti kivételeken kívül a mintákat 2–8 °C-on kell tárolni. Ezen felül a sejtektől elválasztott plazma legfeljebb 12 hónapig tárolható ≤ -18 °C hőmérsékleten legfeljebb három fagyasztás–olvasztás ciklussal. Lásd 2. ábra.

2. ábra A donorminták tárolási feltételei



- A 4%-os nátrium-citrát antikoagulánsban lévő plazma legfeljebb 30 napig tárolható 2–8 °C-on.
  - 8 °C-nál magasabb tárolási hőmérséklet esetén a mintákat 72 órán át lehet tárolni legfeljebb 25 °C-on. Ebből a 72 órából 24 órát tölthetnek legfeljebb 30 °C-on.
  - A fenti kivételeken kívül a mintákat 2–8 °C-on kell tárolni. Ezen felül a sejtektől elválasztott plazma legfeljebb 12 hónapig tárolható ≤ -18 °C hőmérsékleten legfeljebb három fagyasztás–olvasztás ciklussal.
- Ha a mintákat szállítani kell, a minták és kórokozó anyagok szállítására vonatkozó országos és/vagy nemzetközi előírásoknak megfelelően kell csomagolni és címkézni.



# Használati utasítás

## Automatizált mintapipettázás és minták egyesítése (opcionális)

A cobas® 6800/8800 rendszerek opcionális kiegészítőjeként a cobas p 680 készülék vagy a cobas® Synergy szoftver és a Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD kombinációja is használható több elsődleges minta aliquotjainak automatizált pipettázására egy egyesített minta létrehozásához.

További információkat a cobas p 680 készülék felhasználói segédletében vagy a cobas® Synergy szoftver felhasználói segédletében talál.

## A határérték beállítása parvovírus B19 esetén

**cobas® 6800/8800 rendszerek**

A laboratórium vezetője az egytagú egyesített minták határértékének beállításával határozza meg a B19V titerének határértékét. A szoftver az itt megadott érték szerint határozza meg a „B19V < határérték” vagy „B19V ≥ határérték” eredményt (10. táblázat). A szoftver a megadott határérték és az egyesített minta mérete alapján automatikusan kiszámítja az eredményt.

A B19V titer határértékének megadása:

A DPX-B19V határértéket a felhasználói felületen az Administration (Adminisztráció) --> Settings (Beállítások) --> Processing settings (Feldolgozási beállítások) --> Roche tests (Roche-tesztek) elemek kiválasztásával találja meg. A DPX-B19V ASAP „Settings” (beállítások) lapján az „Edit” (szerkesztés) gombbal lehet beállítani a határértéket.

**cobas® Synergy megoldás**

A B19 és a DPX végső teszteredményei csak a cobas® Synergy szoftverben érhetőek el, a cobas® 6800/8800 rendszerekben nem.

A cobas® Synergy szoftver felhasználói segédletében talál részleteket a B19V titer határértékének megadásáról (egyesített mintánként, IU/ml mértékegységben). A cobas® 6800/8800 szoftverében a határértéket ajánlott 1-re állítani.

## Megjegyzések az eljárással kapcsolatban

- Lejárat idejük után ne használja a cobas® DPX tesztreagenseket, a kontrollkészletet cobas® DPX Control Kit, a negatívkontroll-készlet cobas® Buffer Negative Control Kit vagy a cobas omni reagenseket.
- A fogyóeszközöket ne használja újra. Csak egyszeri használatra készültek.
- A készülékek megfelelő karbantartásának leírását a cobas® 6800/8800 rendszerek felhasználói segédletében találja.

## A cobas® DPX teszt futtatása

A teszteljárás részletes leírását a **cobas®** 6800/8800 rendszerek felhasználói segédlete tartalmazza. Az opcionális mintaegyesítési eljárások részleteit a **cobas p 680** készülék felhasználói segédletében és a **cobas® Synergy** szoftver felhasználói segédletében találja.

Az alábbi 3. ábra összegzi az eljárást.

### 3. ábra A cobas® DPX teszteljárás

<b>1</b>	Pipettázás és mintaegyesítés
<b>2</b>	Hozzon létre vizsgálatkérést
<b>3</b>	<p>Töltse be a reagenseket és fogyóeszközöket a rendszer utasításai szerint:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Töltse be a mosóreagenst, lízisreagenst és hígítót</li> <li>• Töltse be a feldolgozólemezeket és amplifikálólemezeket</li> <li>• Töltse be a mágneses üvegpartikulumokat</li> <li>• Töltse be a tesztspecifikus reagenseket</li> <li>• Töltse be a kontrollkazettákat</li> <li>• Töltse be a hegyállványokat</li> <li>• Cserélje az eltömődött hegyek tárolására használt állványt</li> </ul>
<b>4</b>	<p>A futtatás indítása:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Töltse fel az állványokat mintákkal</li> <li>• Válassza az indítógombot („Start”) a felhasználói felületen</li> </ul>
<b>5</b>	Tekintse át és fogadja el az eredményeket
<b>6</b>	<p>Távolítsa el a fogyóeszközöket:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Távolítsa el az amplifikálólemezeket az elemzőmodulból</li> <li>• Távolítsa el az üres kontrollkazettákat</li> <li>• Távolítsa el a szilárd hulladékot</li> <li>• Távolítsa el a folyékony hulladékot</li> </ul>

## Eredmények

A cobas® 6800/8800 rendszer automatikusan meghatározza a donorminták és kontrollok parvovírus B19 DNS-koncentrációját. A parvovírus B19 DNS-koncentráció mértékegysége a milliliterenkénti nemzetközi egység (IU/ml). Ezen felül a cobas® 6800/8800 rendszerek automatikusan kimutatják a mintákban és kontrollokban lévő HAV RNS-t.

### Minőségellenőrzés és az eredmények érvényessége

- A teszt minden mintacsoporttal együtt egy negatív kontrollt [(-) C] és két pozitív kontrollt [DPX D(+)C és DPX H(+)C] is feldolgoz.
- A mintacsoport érvényes eredményének biztosítása érdekében figyelje a jelzőket és a hozzájuk tartozó eredményeket a cobas® 6800/8800 szoftverben és/vagy jelentésben.
- A mintacsoport akkor érvényes, ha a három kontroll egyike sem kap jelzést.

A cobas® 6800/8800 szoftver automatikusan érvényteleníti az eredményeket a negatív és pozitív kontrollok érvénytelensége alapján.

### Kontrolljelzések

**9. táblázat** A negatív és pozitív kontrollok kontrolljelzései

Negatív kontroll	Jelzés	Eredmény	Értelmezés
(-) C	Q02	Invalid	Az egész mintacsoport érvénytelen, ha a (-) C eredménye érvénytelen.
Pozitív kontroll	Jelzés	Eredmény	Értelmezés
DPX D(+)C	Q02	Invalid	Érvénytelen eredmény, vagy a parvovírus B19 számított titereredménye nincs a meghatározott tartományban, vagy a HAV-eredmény nem reaktív. Csak B19: Érvénytelen eredmény a hozzá tartozó QS miatt, vagy a parvovírus B19 számított titereredménye nincs a meghatározott tartományban. Csak HAV: Érvénytelen eredmény a hozzá tartozó IC miatt, vagy a HAV-eredmény nem reaktív.
DPX H(+)C	Q02	Invalid	Érvénytelen eredmény vagy a magas pozitív kontroll számított titer eredménye nem esik a megadott tartományba.

Ha a mintacsoport érvénytelen, ismételje meg az egész csoport (mind a minták, mind a kontrollok) tesztelését.

## Eredmények értelmezése

Érvényes mintacsoport esetén ellenőrizze az egyes minták jelzőit a **cobas**® 6800/8800 szoftverben és/vagy jelentésben. Az eredményeket így kell értelmezni:

- Egy érvényes mintacsoport mind érvényes, mind érvénytelen donorminta-eredményeket tartalmazhat attól függően, hogy az egyes minták milyen jelzéseket kaptak.
- A minták eredménye csak akkor érvényes, ha a megfelelő pozitív kontrollok és a mintacsoport negatív kontrollja is érvényesek.

A teszt minden mintánál egyszerre négy paramétert mér: egyet a parvovírus B19-hez, egyet a HAV-hoz, egyet a mennyiségi standardhoz és egyet a belső kontrollhoz. A **cobas**® DPX teszt végső mintaeredményeit a szoftver jelenti. Az érvénytelen egyesített minták donormintáit újra kell vizsgálni. Az összesített eredményeken kívül az egyes targetek eredményei megjelennek a **cobas**® 6800/8800 szoftverben. Ezek értelmezése:

**10. táblázat** Az egyes targetek eredményének értelmezése

Target eredménye	Értelmezés
HAV Non-Reactive	Nincs HAV targetre utaló jel, és az IC jele kimutatható.
HAV Reactive	HAV targetre utaló jel van, és az IC jele vagy kimutatható, vagy nem.
B19 < határérték	A B19 titere nem éri el a felhasználó által megadott határértéket; a titer megjelenik. B19 Non-Reactive: Nincs B19 DNS targetre utaló jel, és a QS jele kimutatható. B19 < Titer Min: A teszt kimutatja a B19-et, és a számított titer a vizsgálat alsó mennyiségi kvantifikációs határa (LLoQ) alatt van. Megjegyzés: <b>cobas p 680</b> – a B19 határértéke a <b>cobas</b> ® 6800/8800 rendszerek szoftverében jelenik meg. <b>cobas</b> ® <b>Synergy</b> – a B19 határértéke a <b>cobas</b> ® <b>Synergy</b> szoftverben jelenik meg.
B19 ≥ határérték	A B19 titere meghaladja a felhasználó által megadott határértéket; a titer megjelenik. B19 > Titer Max: A számított titer a vizsgálat felső mennyiségi kvantifikációs határa (ULoQ) fölött van. <sup>a</sup> Megjegyzés: <b>cobas p 680</b> – a B19 határértéke a <b>cobas</b> ® 6800/8800 rendszerek szoftverében jelenik meg. <b>cobas</b> ® <b>Synergy</b> – a B19 határértéke a <b>cobas</b> ® <b>Synergy</b> szoftverben jelenik meg.
Invalid	Nem kimutatható a HAV target és a belső kontroll jele. A szoftver a HAV-ra nem reaktív eredményeket érvénytelenként jelenti, ha a B19 titer > 10 <sup>6</sup> IU/ml. B19 QS targetre utaló jel nem mutatható ki, és a B19 vagy kimutatható, vagy nem.

<sup>a</sup> Ha mennyiségi eredményre van szükség, hígítsa az eredeti mintát parvovírus B19-re negatív EDTA-s plazmával, és tesztelje újra. Szorozza meg a mért eredményt a hígítási faktoral. A **cobas**® **Synergy** szoftver használatakor a végső eredmények számításának áttekintését a **cobas**® **Synergy** szoftverrel végezze.

## Egyes minták ismételt tesztelése

A vizsgálatot a többi target érvényes eredményétől függetlenül meg kell ismételni az olyan mintacsövek esetén, amelyek végső eredménye egy targetre érvénytelen (Invalid). Ha a HAV a magas titerű (> 10<sup>6</sup> IU/ml) B19 miatt érvénytelen lett, az ismételt eredmény is érvénytelen lesz. Ha 600 g sebességgel centrifugálást végez 5 percen át, csökkentheti az ismételt érvénytelen eredmények előfordulását az EDTA antikoagulánsba, Becton-Dickinson EDTA plazma-előkészítő csövekbe (BD PPT™) vett vér esetében.

## Az eljárással kapcsolatos korlátozások

- A **cobas**® DPX tesztet a pozitívkontroll-készlet **cobas**® DPX Control Kit, a puffer negatívkontroll-készlet **cobas**® Buffer Negative Control Kit, a reagens **cobas** **omni** MGP Reagent, a lízisreagens **cobas** **omni** Lysis Reagent, a mintaoldószer **cobas** **omni** Specimen Diluent és a mosóreagens **cobas** **omni** Wash Reagent használatával értékelték ki a **cobas**® 6800/8800 rendszereken.
- A megbízható eredmény a megfelelő mintalevételen, -tároláson és -kezelési eljárásokon múlik.
- Ne használjon heparinos plazmát ehhez a teszthez, mert a heparinról kimutatták, hogy gátolja a PCR-t.
- A parvovírus B19 DNS és a HAV RNS kimutatása a mintában lévő víruspartikulumok számától függ, ezért befolyásolhatják a mintalevételi módszerek, a tárolás és kezelés, a beteg tényezők (azaz a kor vagy a tünetek) és/vagy a fertőzés stádiuma, valamint az egyesített minta mérete.
- Ritkán bár, de előfordulhat, hogy a **cobas**® DPX teszt által lefedett virális genom nagy fokban konzervált régióiban lévő mutációk hatással vannak a primerek és/vagy próbák kötődésére, és így a vírus mennyiségi meghatározása túl alacsony értéket mutat, vagy nem sikerül kimutatni a vírus jelenlétét.
- A technológiák különbözősége miatt javasolt, hogy az egyik technológiáról a másokra áttéréskor a felhasználók végezzenek korrelációs laboratóriumi vizsgálatokat, hogy a technológiák közötti különbség minősíthető legyen. A felhasználóknak a helyi specifikus irányelveket/eljárásokat kell követniük.

# A nem klinikai teljesítmény értékelése

## A legfontosabb teljesítményjellemzők – élődonor-minták

### Kimutatási határ (LoD)

#### A WHO nemzetközi standardjai

A cobas® DPX teszt kimutatási határait (LoD) HAV RNS-re és parvovírus B19 DNS-re a WHO nemzetközi HAV-standardjával (NIBSC kód: 00/560) és parvovírus B19-standardjával (NIBSC 99/802) határozták meg.

Minden vírusstandardból három független hígítási sorozatot készítettek egyesített, vírusnegatív EDTA-s humán plazmával. Mindegyik hígítási sorozatot három különböző tétekszámú cobas® DPX reagenskészlettel vizsgálták, készletenként körülbelül 21 ismétlésben, így összesen mintegy 189 ismétlést végeztek koncentrációnként. A kimutatási határt (LoD) és a kétoldali 95%-os fiduciális konfidenciaintervallumokat úgy becsülték meg, hogy a vizsgált ismétlések egyesített adataival minden vírus esetében PROBIT analízist végeztek. A kimutatási határ vizsgálatának eredményeit itt találja: 11. táblázat – 13. táblázat.

**11. táblázat** Az EDTA-s plazmában lévő vírusstandardokról gyűjtött LoD-adatokról készült PROBIT analízis eredményei

Analit	Mértékegységek	LoD	Alsó 95%-os konfidenciahatár	Felső 95%-os konfidenciahatár
HAV	IU/ml	1,1	0,9	1,3
Parvovírus B19	IU/ml	13,9	11,7	17,4

**12. táblázat** HAV EDTA-s plazmában – a reaktivitási arányok összegzése

HAV RNS-koncentráció (IU/ml)	Reaktívák száma	Érvényes ismétlések száma	Reaktívák %-os aránya	95%-os alsó konfidenciahatár (egyoldali)
6	189	189	100%	98,4%
3	189	189	100%	98,4%
1,5	186	189	98,4%	95,9%
0,75	165	189	87,3%	82,6%
0,375	119	189	63,0%	56,8%

**13. táblázat** Parvovírus B19 EDTA-s plazmában – a reaktivitási arányok összegzése

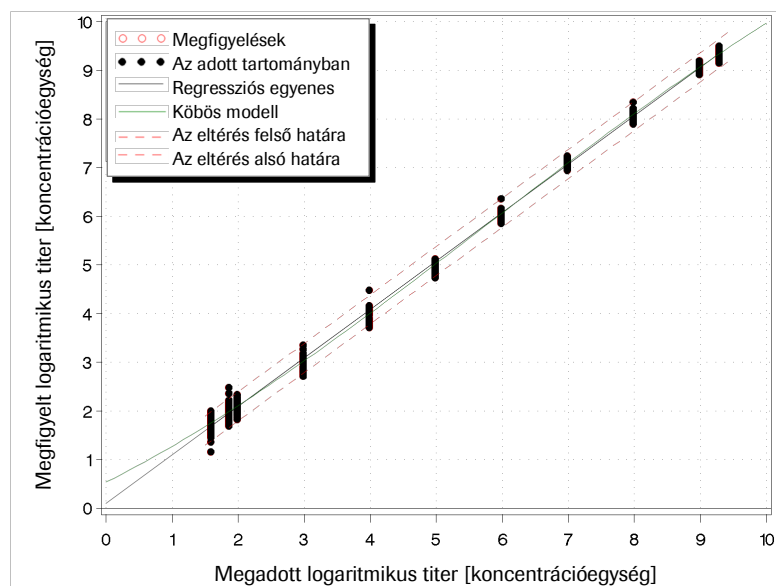
Parvovírus B19 DNS-koncentráció (IU/ml)	Reaktívák száma	Érvényes ismétlések száma	Reaktívák %-os aránya	95%-os alsó konfidenciahatár (egyoldali)
40	187	189	98,9%	96,7%
20	184	189	97,4%	94,5%
10	175	189	92,6%	88,7%
5	145	189	76,7%	71,1%
2,5	91	189	48,1%	42,0%

## A parvovírus B19 mennyiségi meghatározásának lineáris tartománya

A cobas® DPX teszt parvovírus B19 mennyiségi meghatározásának linearitási vizsgálatát 12 olyan paneltag hígítási sorozatával végezték, amelyek lefedték a parvovírus B19 predomináns 1-es genotípusának lineáris céltartományát. A vizsgálatot a CLSI EP6-A útmutatása szerint végezték. Három reagenstételt elemeztek három cobas® 6800/8800 rendszeren, három kezelővel. Paneltagonként és gyártási tételként összesen 16 ismétlést teszteltek 12 napon keresztül.

A vizsgálatot a reagensek három gyártási tételével végezték. A lineáris tartomány határai a vizsgálat szerint 40 IU/ml és  $1,00E+09$  IU/ml ( $38,5-1,93E+09$  IU/ml), és az abszolút eltérés a jobban illeszkedő nemlineáris regressziótól kisebb, mint  $\pm 0,3 \log_{10}$  humán EDTA-s plazmában (lásd: 4. ábra).

**4. ábra** Parvovírus B19 EDTA-s plazmában – a lineáris tartomány meghatározása



## Reprodukálhatóság

A cobas® DPX teszt reprodukálhatóságát a reagensek három gyártási tételével vizsgálták három különböző napon, négy különböző rendszeren és kezelővel, és figyelték a futtatások közötti eltéréseket is. A 14. táblázat a reagenstételek eredményeinek összefoglalását tartalmazza.

**14. táblázat** A reagenstételek közötti reprodukálhatóság

Analit	Koncentráció	Reagenstétel	Reaktívok (reaktív/érvényes ismétlések) százalékos aránya	A 95%-os konfidenciaintervallum alsó határa	A 95%-os konfidenciaintervallum felső határa
HAV	2 × LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 × LoD	1	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
		2	96,8% (61/63)	89,0%	99,6%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	0,5 × LoD	1	79,4% (50/63)	67,3%	88,5%
		2	90,5% (57/63)	80,4%	96,4%
		3	92,1% (58/63)	82,4%	97,4%

## Pontosság

A cobas® DPX teszt a parvovírus B19-re vonatkozó pontosságát egy parvovírus B19-re pozitív minta sorozathígításainak elemzésével határozták meg negatív EDTA-s plazmában. Nyolc hígítási szintet vizsgáltak szintenként 48 ismétléssel a cobas® DPX tesztreagensek három gyártási tételével, három készüléken és három kezelővel, 12 napon keresztül. Minden mintát végigvittek a teljes cobas® DPX teszteljáráson a teljesen automatizált cobas® 6800/8800 rendszereken. Ezért az itt közölt pontosság a vizsgálati eljárás valamennyi aspektusát reprezentálja. Az eredményeket a 15. táblázatban tartalmazza.

A cobas® DPX parvovírus B19-re nagy pontosságot mutatott a reagensek három gyártási tételén az 1,00E+03–2,0E+09 IU/ml koncentrációtartományban.

**15. táblázat** A cobas® DPX teszt laboratóriumi pontosságán belül\*

Névleges koncentráció (IU/ml)	Megadott koncentráció (IU/ml)	Forrásanyag	EDTA-s plazma			
			1. tétel	2. tétel	3. tétel	Minden gyártási tétel
			SD	SD	SD	Poolozott SD
2,00E+09	1,93E+09	Klinikai minták	0,08	0,05	0,04	0,06
1,00E+09	9,63E+08	Klinikai minták	0,05	0,06	0,04	0,05
1,00E+08	9,63E+07	Klinikai minták	0,04	0,07	0,04	0,05
1,00E+07	9,63E+06	Klinikai minták	0,04	0,04	0,03	0,04
1,00E+06	9,63E+05	Klinikai minták	0,12	0,04	0,04	0,08
1,00E+05	9,63E+04	Klinikai minták	0,06	0,05	0,02	0,05
1,00E+04	9,63E+03	Klinikai minták	0,06	0,12	0,04	0,08
1,00E+03	9,63E+02	Klinikai minták	0,05	0,09	0,04	0,06

\* A titeradatokat logaritmikusan normál eloszlásának tekintették, és log<sub>10</sub> transzformáció után elemezték. A szórást (Standard Deviation – SD) tartalmazó oszlopok a logaritmikusan transzformált titerek összesítését tartalmazzák mind a három reagenstételre.



## Genotípus-inkluzivitás – HAV

A cobas® DPX teszt teljesítményét a HAV három genotípusának kimutatására összesen 12 egyedi klinikai minta, a HAV WHO standard (NIBSC kód: 00/560) és nyolc ismert genotípusú HAV-izolátumkultúra tesztelésével határozták meg. Minden klinikai minta és izolátumkultúra mennyiségi meghatározását a cobas® DPX teszttel végezték „calibrator bracketing” módszerrel. Minden klinikai mintát tisztán, és normál, a (HAV) vírusra negatív humán EDTA-s plazmával is tesztelték a cobas® DPX teszt kimutatási határának 3,6-szorosára hígítva. Mind a nyolc tenyészetből származó izolátumot és a HAV WHO standardot a (HAV) vírusra negatív humán EDTA-s plazmával a cobas® DPX teszt kimutatási határának 3,6-szorosára hígítva tesztelték. A teszt az összes klinikai mintát és tenyészetből származó izolátumot tisztán és/vagy 3,6 × LoD hígításban kimutatta (16. táblázat).

**16. táblázat** HAV klinikai minták és izolátumkultúrák

Genotípus	Klinikai minták		Izolátumkultúrák
	Reaktívak százalékos aránya (reaktívak/teszteltek száma) tiszta	Reaktívak százalékos aránya (reaktívak/teszteltek száma) 3,6 × LoD hígítás	Reaktívak százalékos aránya (reaktívak/teszteltek száma) 3,6 × LoD hígítás
I A	100,0% (11/11)	100,0% (12/12)**	Nem tesztelték*
I B	100,0% (1/1)	100,0% (1/1)	100,0% (1/1)
II A	Nem tesztelték*	Nem tesztelték*	100,0% (1/1)
II B	Nem tesztelték*	Nem tesztelték*	100,0% (1/1)
III A	Nem tesztelték*	Nem tesztelték*	100,0% (3/3)
III B	Nem tesztelték*	Nem tesztelték*	100,0% (2/2)

\* Nem állt rendelkezésre megfelelő mennyiség a tiszta/hígított teszteléshez.

\*\* A HAV WHO standardot is beleértve (NIBSC kód: 00/560).

## Genotípus szerinti ellenőrzés – parvovírus B19

A cobas® DPX teszt teljesítményét a parvovírus B19 genotípusainak kimutatására a következőkkel értékelték ki:

- A kimutatási határ ellenőrzése az 1-es, 2-es és 3-as genotípus esetén
- A linearitás ellenőrzése a 2-es és 3-as genotípus esetén

### A kimutatási határ ellenőrzése az 1–3-as genotípusok esetén

Három különböző (1, 2, 3a) genotípusú parvovírus B19 DNS klinikai mintát hígítottak egy koncentrációs szintre EDTA-s plazmában. A parvovírus B19 plazmidjét a 3b genotípushoz egy koncentrációs szintre hígították EDTA-s plazmában. A reaktivitási arány meghatározását 21 ismétléssel végezték. A tesztelést a cobas® DPX reagensek egy gyártási tételével végezték. Az EDTA-s plazmából származó eredményeket a 17. táblázat tartalmazza. Ezek az eredmények igazolják, hogy a cobas® DPX teszt 100%-os reaktivitási aránnyal kimutatta a parvovírus B19 DNS-t három különböző genotípus esetén 10,3–17,4 IU/ml koncentrációnál.

**17. táblázat** Parvovírus B19 – genotípus-inkluzivitás

Genotípus	Koncentráció	Reaktívok (reaktív/érvényes ismétlések) százalékos aránya	A 95%-os konfidencia-intervallum alsó határa	A 95%-os konfidencia-intervallum felső határa
1	17,4 IU/ml	100% (21/21)	83,9%	100,0%
2	10,3 IU/ml	100% (21/21)	83,9%	100,0%
3a	10,3 IU/ml	100% (21/21)	83,9%	100,0%
3b	17,4 IU/ml	100% (20/20)	83,2%	100,0%

## A lineáris tartomány ellenőrzése a 2 és a 3a genotípus esetén

A cobas® DPX teszt genotípusok linearitási vizsgálatában használt hígítási sorozat hét paneltagból áll, amelyek lefedik a célzott lineáris tartományt. A magas titerű paneltagokat magas titerű plazmid DNS-törzsből készítették, az alacsony titerű paneltagokat pedig a parvovírus B19 genotípusok 1. WHO nemzetközi referenciapaneljéből (NIBSC: 09/110). A linearitási panelt úgy tervezték, hogy körülbelül 2 log<sub>10</sub> titerátfedés legyen a két anyagforrás között. A cobas® DPX teszt lineáris tartománya az LLoQ (40 IU/ml) és az ULoQ (1,00E+09 IU/ml) között volt, és egy orvosi döntési pontot tartalmazott. A tesztelést a cobas® DPX reagens egy gyártási tételével végezték; szintenként 11 ismétlést teszteltek EDTA-s plazmában. A cobas® DPX teszt lineáris tartományát mindkét genotípusra (2 és 3a) ellenőrizték. A lineáris regresszió és a jobban illeszkedő nemlineáris regresszió közötti maximális eltérés legfeljebb 0,3 log<sub>10</sub> volt.

## Analitikai specificitás

A cobas® DPX teszt analitikai specificitását a keresztreaktivitás tekintetében egy 27 mikroorganizmusból álló panellel vizsgálták 10<sup>6</sup> részecskével, IU-val, kópiával vagy CFU/ml-rel; lásd 18. táblázat. A mikroorganizmusokat normál, vírusnegatív, egyesített humán plazmához adták, és HAV vagy parvovírus B19 jelenlétében, illetve nélkül tesztelték. A HAV hígítása a cobas® DPX teszt LoD-értékének körülbelül a 3-szorosa volt (3 × LoD), a parvovírus B19 hígítása a teszt LLoQ-értékének 5-szöröse (5 × LLoQ). A HAV vagy parvovírus B19 hozzáadása nélküli mikroorganizmus-mintákat a cobas® DPX teszt mind nem reaktívnak mutatta, a HAV vagy parvovírus B19 tartalmú mikroorganizmus-mintákat pedig mind reaktívnak. Ezen felül a potenciálisan keresztreakáló organizmusokat tartalmazó pozitív parvovírus B19-minták mindegyikének az átlagos log<sub>10</sub> titer értéke ±0,5 log<sub>10</sub> eltérésen belül volt az adott oltott minta átlagos log<sub>10</sub> titeréhez képest. A vizsgált mikroorganizmusok nem mutattak keresztreakciót a cobas® DPX teszttel.

A vizsgált mikroorganizmusok nem mutattak interferenciát a cobas® DPX teszttel.

**18. táblázat** Az analitikai specificitás vizsgálatára használt mikroorganizmusok

Vírusok	Flavivirus	Baktériumok	Sarjadzógomba
Adenovírus 5	West Nile vírus (WNV)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Chikungunya vírus	1-es típusú dengue vírus	<i>Propionibacterium acnes</i>	-
Cytomegalovírus (CMV)	Usutu vírus	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Epstein-Barr vírus (EBV)	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Hepatitis B vírus (HBV)	-	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-
Hepatitis C vírus (HCV)	-	<i>Streptococcus viridans</i>	-
Hepatitis E vírus (HEV)	-	-	-
Hepatitis G vírus (GBV C)	-	-	-
1-es típusú herpes simplex vírus (HSV-1)	-	-	-
2-es típusú herpes simplex vírus (HSV-2)	-	-	-
Humán herpeszvírus 6A (HHV-6)	-	-	-
Humán immundeficiencia vírus (HIV-1M és HIV-2 altípusok)	-	-	-
I. típusú humán T-sejtes lymphotrop vírus (HTLV I)	-	-	-
II. típusú humán T-sejtes lymphotrop vírus (HTLV II)	-	-	-
Influenzavírus A	-	-	-
Varicella-zoster vírus (VZV)	-	-	-

A 19. táblázatban felsorolt kórokozókat tartalmazó plazmamintákat HAV vagy parvovírus B19 jelenlétében, illetve nélkül tesztelték. A HAV hígítása a **cobas**® DPX teszt LoD-értékének körülbelül a 3-szorosa volt ( $3 \times \text{LoD}$ ), a parvovírus B19 hígítása a teszt LLoQ-értékének 5-szöröse ( $5 \times \text{LLOQ}$ ). A **cobas**® DPX teszt nem reaktív eredményt adott az összes kóros esetből származó mintára, amelyhez nem adtak HAV-ot vagy parvovírus B19-et. A **cobas**® DPX teszt reaktív eredményt adott az összes kóros esetből származó mintára, amelyhez HAV-ot vagy parvovírus B19-et adtak. Ezen felül a potenciálisan keresztreakáló organizmusokat tartalmazó pozitív parvovírus B19-minták mindegyikének az átlagos  $\log_{10}$  titer értéke  $\pm 0,5 \log_{10}$  eltérésen belül volt az adott oltott minta átlagos  $\log_{10}$  titeréhez képest. Ezek a kóros állapotok nem mutattak interferenciát a **cobas**® DPX teszttel.

**19. táblázat** Az analitikai specificitás vizsgálatára használt kóros állapotokból vett minták

Kóros állapot		
Adenovírus, 5-es típus	Hepatitis C vírus	I. típusú humán T-sejtes lymphotrop vírus
Cytomegalovírus	Hepatitis E vírus	II. típusú humán T-sejtes lymphotrop vírus
Dengue vírus	<i>Herpes simplex</i> vírus, 1-as típus	West Nile vírus
Epstein-Barr-vírus	<i>Herpes simplex</i> vírus, 2-as típus	-
Hepatitis B vírus	Humán immundeficiencia vírus (HIV-1M)	-

## Analitikai specificitás – zavaró anyagok

### Zavaró endogén anyagok

Abnormálisan magas szintű triglicerideket (33 g/l-ig), hemoglobint (2 g/l-ig), nem kötött bilirubint (0,2 g/l-ig), kötött bilirubint (0,2 g/l-ig), albumint (60 g/l-ig), valamint humán DNS-t (1,8 mg/l-ig) tartalmazó plazmamintákat vizsgáltak HAV, illetve parvovírus B19 jelenlétében vagy nélkül a **cobas**® DPX teszt HAV kimutatási határának háromszorosára ( $3 \times \text{LoD}$ ), illetve a parvovírus B19 alsó mennyiségi meghatározási határának ötszörösére ( $5 \times \text{LLOQ}$ ) hígított mintákkal. Az ezeket az endogén anyagokat tartalmazó minták nem zavarták a **cobas**® DPX teszt szenzitivitását, mennyiségi meghatározását vagy specificitását.

### Zavaró exogén anyagok

Abnormálisan magas gyógyszerkoncentrációjú (20. táblázat) normál, vírusnegatív humán EDTA-s plazmamintákat vizsgáltak HAV és parvovírus B19 jelenlétében, illetve nélkül. A HAV hígítása a **cobas**® DPX teszt LoD-értékének körülbelül a 3-szorosa volt ( $3 \times \text{LoD}$ ), a parvovírus B19 hígítása a teszt LLoQ-értékének 5-szöröse ( $5 \times \text{LLOQ}$ ). Ezek az exogén anyagok nem zavarták a **cobas**® DPX teszt szenzitivitását, mennyiségi meghatározását vagy specificitását.

**20. táblázat** Gyógyszerekkel tesztelt klinikai minták

A tesztelt gyógyszer neve	Koncentráció
Acetaminofen	1324 µmol/l
Acetilszalicilsav	3620 µmol/l
Aszkorbinsav	342 µmol/l
Atorvasztatin	600 µg ekv./l
Fluoxetin	11,2 µmol/l
Ibuprofen	2425 µmol/l
Loratadin	0,78 µmol/l
Nadolol	3,88 µmol/l
Naproxén	2170 µmol/l
Paroxetin	3,04 µmol/l
Fenilefrin-HCl	491 µmol/l
Szertralin	1,96 µmol/l

## Korreláció

### A cobas® DPX teszt és a cobas® TaqScreen DPX teszt hatékonyságának összehasonlítása

A cobas® DPX teszt és a cobas® TaqScreen DPX teszt teljesítményének összehasonlításához 84 HAV NAT-pozitív plazmamintát, 100 parvovírus B19 NAT-pozitív plazmamintát és 100 HAV-ra és B19-re negatív mintát teszteltek.

A negatív minták 100%-os specificitást mutattak, mert 100 közül 100 nem reaktív eredmény keletkezett mindkét módszerrel.

HAV-pozitív minták esetén a cobas® DPX teszt és a cobas® TaqScreen DPX teszt azonos eredményt adott a 84 minta közül 84 esetében (21. táblázat). Ezek szerint a pozitív megfelelési arány 100%-os.

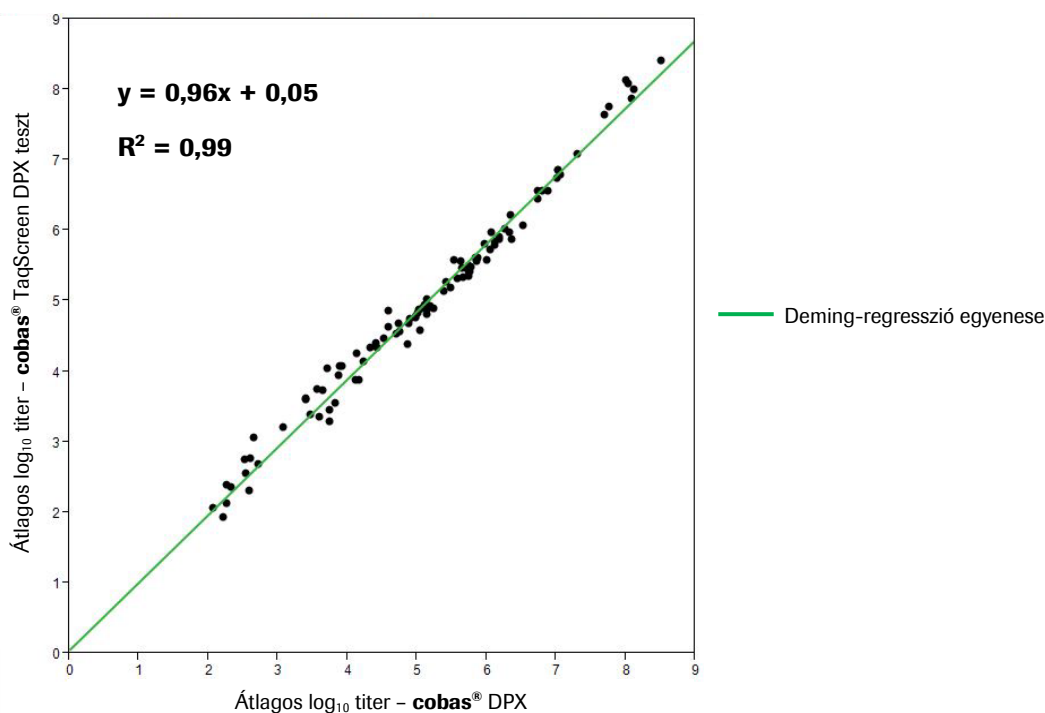
**21. táblázat** A HAV-pozitív/-negatív minták korrelációja

Módszerek		HAV-eredmények	
cobas® TaqScreen DPX	cobas® DPX	Pozitív minták	Negatív minták
Nem reaktív	Nem reaktív	0	100
Reaktív	Nem reaktív	0	0
Nem reaktív	Reaktív	0	0
Reaktív	Reaktív	84	0
Összesen		84	100
McNemar-teszt, p-érték (kétoldalú, $\alpha = 0,05$ )		1,00	1,00

A parvovírus B19 pozitív mintákat párhuzamosan vizsgálták a **cobas® DPX** teszttel és a **cobas® TaqScreen DPX** teszttel. Deming-regressziós analízist végeztek. A két teszttel vizsgált minták átlagos titereltérése  $0,15 \log_{10}$  volt. Ezen kívül az  $1,0E+03$ – $1,0E+06$  IU/ml titertartományban a két teszt közötti átlagos titereltérés  $0,14 \log_{10}$  volt.

A Deming-regresszióanalízis eredményeit a 5. ábra tartalmazza.

**5. ábra** A **cobas® DPX** és a **cobas® TaqScreen DPX** teszt regressziós analízise 100 pozitív parvovírus B19 mintán



## Teljes rendszerhiba

A **cobas® DPX** teszt teljes rendszerhiba-arányát HAV-val és parvovírus B19-cel oltott EDTA-s plazma 100 ismétlésével határozták meg. Ezeket a mintákat a kimutatási határ mintegy háromszorosával ( $3 \times \text{LoD}$ ) megegyező célkoncentrációnál vizsgálták egytagú egyesített mintaként (hígítatlanul). A vizsgálatot a **cobas® 8800** rendszeren folytatták a **cobas p 680** készülékkel (pipettázás és minták egyesítése).

A vizsgálat eredményei szerint az összes ismétlés reaktív volt parvovírus B19-re, vagyis a teljes rendszerhiba aránya 0% volt. A kétoldali 95%-os pontos konfidenciaintervallum 0% volt az alsó határra, és 3,62% a felső határra [0%: 3,62%].

A vizsgálat eredményei szerint a 100 ismétlés közül 99 reaktív volt HAV-ra, vagyis a teljes rendszerhiba aránya 1% volt. A kétoldali 95%-os pontos konfidenciaintervallum 0% volt az alsó határra, és 5,45% a felső határra [0%: 5,45%].

## Keresztszennyeződés

A **cobas® DPX** teszt keresztszennyeződési arányát a negatívkontroll-puffer 239 ismétlésével és egy magas titerű ( $1,00E+08$  IU/ml) parvovírus B19-minta 223 ismétlésével határozták meg. A vizsgálatot a **cobas® 8800** rendszeren végezték. Összesen öt futtatást végeztek pozitív és negatív mintákkal, sakktáblaszerű konfigurációban.

A negatív kontrollpuffer mind a 239 ismétlése nem reaktív eredményt mutatott, vagyis a keresztszennyeződési arány 0% volt. A kétoldali 95%-os pontos konfidenciaintervallum 0% volt az alsó határra, és 1,53% a felső határra [0%: 1,53%].

# Klinikai teljesítmény

## Reprodukálhatóság

A cobas® DPX reprodukálhatóságát egy 16 tagú panel tesztelésével állapították meg, melyben a panel két tagja HAV-ra negatív volt és a parvovírus B19 kevesebb volt mint az alsó kimutatási határ (LLOQ), a panel további 14 tagja pozitív plazmamintákból állt. Ez utóbbiak két HAV-ra pozitív mintát tartalmaztak 3 különböző koncentrációban (a cobas® DPX HAV-ra érvényes LoD kb. 0,5-szöröse, 1,0-szorosa és 3,0-szorosa), valamint két parvovírus B19-mintát 4 különböző koncentrációban ( $10^3$ – $10^6$  IU/ml tartományban).

A cobas® DPX három vizsgálati helyén a kezelők öt napig végeztek tesztelést a cobas® DPX reagensek 3 gyártási tételével, naponta két érvényes futással. Koncentrációnként két ismétlésben teszteltek, és így minden paneltag esetében legfeljebb 180 tesztet végeztek el a HAV mind a három koncentrációján és a parvovírus B19 mind a négy koncentrációján.

A HAV esetében az összes érvényes futást és vizsgálati eredményt az egyes paneltagok reaktív teszteredményének és a negatív kontroll paneltagok nem reaktív eredményének százalékos arányának kiszámításával analizálták (22. táblázat). A vizsgálatból kiderült, hogy a cobas® DPX mind a három tesztelt HAV-koncentráció esetén reprodukálható teljesítményt mutat minden felmért változó esetén (gyártási tétel, helyszín/készülék, nap, futás és futáson belül).

**22. táblázat** A HAV-teszt eredményei helyszín/készülék, gyártási tétel, nap és futás alapján összegezve (pozitív paneltagok)

				Reaktív tesztek száma/érvényes eredmények összes száma											
HAV-koncentráció	Átlag Ct	Ct SD	Ct CV%	Tétel			Hely/készülék			Nap			Futás		
				ID	Reaktív/érvényes	%	ID	Reaktív/érvényes	%	ID	Reaktív/érvényes	%	ID	Reaktív/érvényes	%
0,5 × LoD	37,50	0,799	2,1	1	53/60	88,3	1	48/60	80,0	1	30/36	83,3	1	76/90	84,4
				2	48/60	80,0	2	51/60	85,0	2	33/36	91,7	2	77/90	85,6
				3	52/60	86,7	3	54/60	90,0	3	31/36	86,1			
										4	26/36	72,2			
										5	33/36	91,7			
1,0 × LoD	37,04	0,763	2,1	1	57/59	96,6	1	55/60	91,7	1	34/36	94,4	1	88/89	98,9
				2	58/60	96,7	2	59/59	100,0	2	35/35	100,0	2	85/90	94,4
				3	58/60	96,7	3	59/60	98,3	3	36/36	100,0			
										4	34/36	94,4			
										5	34/36	94,4			
3,0 × LoD	35,95	0,725	2,0	1	60/60	100,0	1	60/60	100,0	1	36/36	100,0	1	90/90	100,0
				2	60/60	100,0	2	60/60	100,0	2	36/36	100,0	2	90/90	100,0
				3	60/60	100,0	3	60/60	100,0	3	36/36	100,0			
										4	36/36	100,0			
										5	36/36	100,0			

Megjegyzés: Ct = ciklus-küszöbérték.

A parvovírus B19 esetében minden érvényes futást és teszteredményt az egyes változók szórásának kiszámításával (gyártási tétel, helyszín/készülék, nap, futás és futáson belül), valamint minden egyes B19 koncentrációhoz tartozó összes pontossági szórás kiszámításával analizálták (23. táblázat). A vizsgálatból kiderült, hogy a cobas® DPX mind a négy különböző tesztelt parvovírus B19-koncentráció esetén reprodukálható teljesítményt mutat minden felmért változó esetén (gyártási tétel, helyszín/készülék, nap, futás és futáson belül).

**23. táblázat** A parvovírus B19-teszt eredményei helyszín/készülék, gyártási tétel, nap és futás alapján összegezve (pozitív paneltagok)

Várt B19 DNS-koncentráció (log <sub>10</sub> IU/ml)	Várt B19 DNS-koncentráció (IU/ml)	Átlagos B19 DNS-koncentráció (log <sub>10</sub> IU/ml)	Lognormális átlag B19 DNS-koncentráció (IU/ml) <sup>a</sup>	Tesztek sz. <sup>b</sup>	Tétel	Hely/kész.	Nap	Futás	Futáson belül	Log <sub>10</sub> B19 DNS-koncentráció összes szórása
3,000	1000	3,09	1252	176	0,0444	0,0092	0,0000	0,0000	0,0559	0,072
4,000	10000	4,04	11 008	178	0,0348	0,0141	0,0248	0,0135	0,0543	0,072
5,000	100 000	5,04	111 745	179	0,0305	0,0221	0,0000	0,0265	0,0663	0,081
6,000	1 000 000	6,08	1 216 471	179	0,0248	0,0181	0,0166	0,0141	0,0718	0,081

<sup>a</sup> Lognormális átlag =  $10^{\hat{\mu} + \hat{\sigma}^2 \cdot 1.151}$ , ahol az átlag és a szórás a véletlenhatás-alapú variancia-összetevős modellekből nyert becslések.

<sup>b</sup> Észlelhető virális terheléssel végzett tesztek száma. Paneltagonként legalább 180 tesztet terveztek. Az érvénytelen tesztek nem ismételték meg.

## További információk

### A teszt legfontosabb tulajdonságai

<b>Mintatípus</b>	Plazma*
<b>Szükséges mintamennyiség</b>	1000 µl
<b>Feldolgozott mintamennyiség</b>	850 µl





















































\* A teszthez használt csöveknek eltérő holt térfogata lehet, és a minimális térfogat is eltérhet. További információkért forduljon a Roche helyi szervizképviselőjéhez.



## Szimbólumok

A Roche PCR diagnosztikai termékek jelölésére a következő szimbólumokat használják.

24. táblázat A Roche PCR diagnosztikai termékek címkéjén használt szimbólumok

 Age/DOB	Kor vagy születési dátum		Nem a beteg közelében használható teszteszköz	 QS IU/PCR	QS-IU-k száma PCR-reakciónként; használja a QS-IU-k (nemzetközi egységek) reakciónkénti számát az eredmények számításához.
	Segédsoftver		Nem öntesztelő eszköz	 SN	Sorozatszám
 Assigned Range [copies/mL]	Megadott tartomány (kópia/ml)		Forgalmazó (Megjegyzés: Az alkalmazandó ország/régió a szimbólum alatt jelölhető meg.)	 Site	Hely
 Assigned Range [IU/mL]	Megadott tartomány (IU/ml)		Ne használja újra	 Procedure Standard	Szokásos eljárás
 EC REP	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben		Nő	 STERILE EO	Etilén-oxiddal sterilizálva
 BARCODE	Vonalkód-adatlap		Csak IVD teljesítmény értékelésre		Sötétben tárolandó
 LOT	Lotszám	 GTIN	Globális kereskedelmi cikkszám		Hőmérsékletkorlát
	Biológiai veszély		Importőr		Vizsgálatdefiníciós fájl
 REF	Katalógusszám	 IVD	<i>In vitro</i> diagnosztikai felhasználásra		Felfelé nézzen
	CE megfelelési jelzés: ez az eszköz megfelel az <i>in vitro</i> diagnosztikai felhasználású orvostechnikai eszközök CE jelölésére vonatkozó előírásoknak	 LLR	Megadott tartomány alsó határa	 Procedure UltraSensitive	Ultraérzékeny eljárás
 Collect Date	Adatgyűjtés		Férfi	 UDI	Egyedi eszközazonosítás
	Olvassa el a használati útmutatót		Gyártó	 ULR	Megadott tartomány felső határa
	Tartalma <n> vizsgálathoz elegendő	 CONTROL -	Negatív kontroll	 Urine Fill Line	Eddig töltendő vizelettel
 CONTENT	A készlet tartalma		Nem steril	 Rx Only	Csak az USA-ban: Az USA szövetségi törvényei értelmében az eszköz csak orvos részére vagy rendelvényére adható ki.
 CONTROL	Kontroll		Beteg neve		Lejárat dátuma
	Gyártás napja		Beteg száma		
	Beteg közelében használható teszteszköz		Itt válassza le		
	Öntesztelő eszköz	 CONTROL +	Pozitív kontroll		
		 QS copies / PCR	QS-kópiák száma PCR-reakciónként; használja a QS-kópiák reakciónkénti számát az eredmények számításához.		

## Technikai segítségnyújtás

Technikai segítségnyújtásért (segítségért) forduljon a helyi kirendeltséghez:

[https://www.roche.com/about/business/roche\\_worldwide.htm](https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm)

## Gyártó és importőr

### 25. táblázat Gyártó és importőr



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

Készült az USA-ban



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany

## Védjegyek és szabadalmak

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

## Szerzői jogok

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Str. 116  
68305 Mannheim  
Germany



## Hivatkozások

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

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

41. Kishore J, Sen M. Parvovirus B19-induced thrombocytopenia and anemia in a child with fatal fulminant hepatic failure coinfecting with hepatitis A and E viruses. *J Trop Pediatr*. 2009;55:335-7.
42. Ozçay F, Bikmaz YE, Canan O, Ozbek N. Hepatitis A and parvovirus B19 infections in an infant with fulminant hepatic failure. *Turk J Gastroenterol*. 2006;17:148-50.
43. Dwivedi M, Manocha H, Tiwari S, Tripathi G, Dhole TN. Coinfection of parvovirus b19 with other hepatitis viruses leading to fulminant hepatitis of unfavorable outcome in children. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:649-50.
44. Hughes JA, Fontaine MJ, Gonzalez CL, et al. Case report of a transfusion-associated hepatitis A infection. *Transfusion*. 2014;54:2202-6.
45. Jones S, Leighton K, Chapa J, et al. Prevalence of hepatitis A virus (HAV) and high-titer parvovirus B19 in recovered and source plasma donations. Poster SP395 presented at: ABB Annual Meeting and CTTXPO; 2013 October 12-15; Denver, CO. *Transfusion*. 2013;53(Suppl 2):211A.
46. Müller MM, Fraile MI, Hourfar MK, et al. Evaluation of two, commercial, multi-dye, nucleic acid amplification technology tests, for HBV/HCV/HIV-1/HIV-2 and B19V/HAV, for screening blood and plasma for further manufacture. *Vox Sang*. 2013;104:19-29.
47. U.S. Food and Drug Administration. Guidance for industry: nucleic acid testing (NAT) to reduce the possible risk of human parvovirus B19 transmission by plasma-derived products. Updated July 2009; Accessed: 09 September 2022. <https://www.fda.gov/files/vaccines%2C%20blood%20%26%20biologics/published/Guidance-for-Industry---Nucleic-Acid-Testing--to-Reduce-the-Possible-Risk-of-Parvovirus-B19-Transmission-by-Plasma-Derived-Products.pdf>.
48. Council of Europe. Human anti-D immunoglobulin (monograph 0557) (since 1/1/2004); Human anti-D immunoglobulin for intravenous administration (monograph 1527) (since 1/1/2004); Human plasma pooled and treated for virus inactivation (monograph 1646) (since 1/7/2004). In: *European Pharmacopoeia*. 6th Edition. Strasbourg, France: Council of Europe; 2011.
49. Council of Europe. Human plasma pooled and treated for virus inactivation (monograph 1646) (since 1/2011). In: *European Pharmacopoeia*. 6th Edition. Supplement 6.3. Strasbourg, France: Council of Europe; 2011.
50. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8.
51. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93.
52. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78.
53. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7.
54. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
55. Chosewood LC, Wilson DE, eds. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. US Department of Health and Human Services; 2009.
56. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*. 4th ed. M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2014.

## Dokumentumverzió

Dokumentum verzióinformációi	
Doc Rev. 1.0 01/2023	Első közzététel.

A biztonsági és teljesítményjelentés összegzését a következő hivatkozáson találja: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>