

cobas[®] HEV

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*



cobas[®] HEV – 192	P/N: 09040986190
cobas[®] HEV Control Kit	P/N: 09040889190
cobas[®] NHP Negative Control Kit	P/N: 09051554190
cobas[®] omni MGP Reagent	P/N: 06997546190
cobas[®] omni Specimen Diluent	P/N: 06997511190
cobas[®] omni Lysis Reagent	P/N: 06997538190
cobas[®] omni Wash Reagent	P/N: 06997503190

Spis treści

Przeznaczenie.....	4
Podsumowanie oraz opis testu.....	4
Odczynniki i materiały.....	8
Odczynniki i kontrole do testu cobas® HEV	8
Odczynniki cobas® omni do przygotowywania próbek.....	11
Wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania odczynników.....	12
Wymagania dotyczące użytkowania systemu cobas® 5800	12
Wymagania dotyczące użytkowania systemów cobas® 6800/8800	13
Materiały dodatkowe wymagane dla systemu cobas® 5800	14
Materiały dodatkowe wymagane do systemów cobas® 6800/8800	14
Wymagane urządzenia i oprogramowanie.....	15
Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania.....	16
Ostrzeżenia i środki ostrożności.....	16
Użytkowanie odczynników.....	16
Dobra praktyka laboratoryjna.....	17
Pobieranie, transport, przechowywanie i pulowanie próbek.....	17
Próbki pochodzące od żywych dawców.....	17
Instrukcja obsługi.....	21
Automatyczne pipetowanie i pulowanie próbek (opcjonalne).....	21
Uwagi dotyczące wykonania testu.....	21
Wykonanie testu cobas® HEV w systemie cobas® 5800	22
Wykonanie testu cobas® HEV w systemach cobas® 6800/8800	23
Wyniki.....	24
Kontrola jakości i ważność wyników w systemie cobas® 5800	24
Wyniki kontroli w systemie cobas® 5800	24
Kontrola jakości i ważność wyników w systemach cobas® 6800/8800	25
Oflagowanie kontroli w systemach cobas® 6800/8800	25
Interpretacja wyników.....	25

Dodatkowe informacje dotyczące interpretacji wyników w systemie cobas® 5800.....	26
Powtarzanie testu dla poszczególnych próbek	26
Ograniczenia metody.....	26
Równoważność/porównanie systemu	26
Ocena skuteczności w badaniach nieklinicznych przeprowadzona w systemach cobas® 6800/8800	27
Najważniejsze parametry działania testu – próbki od dawców żyjących.....	27
Granica wykrywalności (LoD)	27
Odtwarzalność.....	28
Weryfikacja genotypu	29
Swoistość analityczna	30
Swoistość analityczna – substancje interferujące	31
Korelacja	32
Błąd całego systemu.....	32
Dodatkowe informacje	33
Najważniejsze cechy testu	33
Oznaczenia	34
Pomoc techniczna	35
Wytwórca i importer.....	35
Znaki towarowe i patenty.....	35
Prawo autorskie	35
Piśmiennictwo	36
Wersja dokumentu.....	39

Przeznaczenie

Test cobas® HEV do stosowania w systemach cobas® 5800/6800/8800 jest jakościowym testem amplifikacji kwasu nukleinowego *in vitro* do bezpośredniego wykrywania RNA wirusa zapalenia wątroby typu E (HEV) (genotypy 1–4) w ludzkim osoczu.

Ten test jest przeznaczony do wykonywania badań przesiewowych próbek pod kątem RNA HEV w próbkach osocza od indywidualnych dawców krwi, w tym dawców krwi pełnej, składników krwi (erytrocytów, płytek krwi i osocza) i od pozostałych żywych dawców. Osocze od wszystkich dawców może być badane przesiewowo w formie pojedynczych próbek. Próbkę osocza pochodzącą z krwi pełnej i jej składników można badać pojedynczo lub w pulach składających się z porcji poszczególnych próbek.

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

Ten test nie jest przeznaczony do stosowania jako narzędzie diagnostyczne dla HEV.

Podsumowanie oraz opis testu

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

Wirus zapalenia wątroby typu E (HEV), niewielki, pozbawiony otoczki wirus RNA należący do rodzaju Hepevirus (rodzina Hepeviridae), jest patogenem człowieka rozpowszechnionym na całym świecie.¹ Wirus składa się z cząstki dwudziestościennej, która zawiera sensowny, jednoniciowy genom RNA 7,2 kb.² U ludzi i zwierząt (w tym świń domowych, dzików, jeleniowatych i gryzoni) zidentyfikowano cztery główne genotypy wirusa HEV, reprezentujące pojedynczy serotyp.^{1,3,4}

Charakteryzacja molekularna różnych szczepów wirusa HEV występujących wśród ludzi i zwierząt doprowadziła do rozpoznania czterech głównych genotypów.¹ Genotyp 1, który występuje głównie w Azji oraz genotyp 2, który występuje w Afryce i Meksyku, są ograniczone do ludzi i przenoszone przez zanieczyszczoną wodę w krajach rozwijających się.^{1,5} Genotypy 3 i 4 zakażają ludzi, świnię i inne gatunki ssaków oraz powodują sporadyczne przypadki rdzennych zakażeń wirusem HEV zarówno w krajach rozwijających się, jak i rozwiniętych.⁶ Genotyp 3 jest jedynym genotypem aktualnie identyfikowanym jako przyczyna rdzennego zakażenia w Stanach Zjednoczonych⁷ i jest przyczyną większości zakażeń w Europie, Nowej Zelandii oraz Ameryce Północnej.^{1,8–12} Genotypy 3 i 4 występują w Japonii.¹ Genotypy 1, 3 i 4 wirusa HEV są endemiczne dla Chin.¹ Ostre zakażenie wirusem zapalenia wątroby typu E jest powszechniejsze niż wirusem typu A w Chinach, Francji, Wielkiej Brytanii i Japonii.¹

Główna droga przenoszenia wirusa HEV to droga fekalno-oralna przez zanieczyszczoną wodę pitną¹, jednak donoszono również o przenoszeniu przez żywność po spożyciu niedogotowanej surowej wieprzowiny, podrobów lub skorupiaków, jak również drogą odzwierzęcą wskutek kontaktu z zakażoną świnią, zwierzętami udomowionymi lub dzikimi.^{7,13–16} Nie jest znany pełny zakres rezerwuarów wirusa HEV.¹

Zakażenie wirusem HEV zazwyczaj powoduje łagodne lub subkliniczne zakażenie z samoistnie ustępującymi dolegliwościami, które trwają od 4 do 6 tygodni.^{1,8–11,17,18} Objawy są bardzo podobne do występujących w innych postaciach zakażenia wirusem zapalenia wątroby, zwłaszcza typu A, i obejmują zmęczenie, żółtaczkę, gorączkę, złe samopoczucie, nudności, wymioty, jadalnostręt psychiczny oraz ból brzucha.¹ Pacjenci często mają podwyższone stężenia transaminazy alaninowej (~1500 j.m./l) i u wielu występuje żółtaczka.¹ Zakażenia wirusem HEV niekiedy mogą być cięższe i powodować piorunującą niewydolność wątroby, zwłaszcza u kobiet w ciąży, u których współczynnik umieralności może sięgać od 10% do 25%; niemowląt i dzieci poniżej 2. roku życia, osób z zasadniczą chorobą wątroby (np. marskością) oraz

osób z obniżoną odpornością.^{1, 19–23} Każdego roku zakażenia wirusem HEV powodują ponad 3 miliony objawowych przypadków ostrego zapalenia wątroby typu E na całym świecie, co powoduje około 70 000 zgonów rocznie.²⁴ Całkowity współczynnik umieralności waha się od 0,2% do 4,0%.¹ Większość zgonów z powodu zakażeń genotypem 3 (HEV3) jest spowodowane ostrą lub podostrą niewydolnością wątroby u pacjentów z istniejącą chorobą wątroby, taką jak związana z alkoholem choroba wątroby.^{1, 22, 25, 26}

Wirus HEV3 powoduje zakażenie przewlekłe, dotyczące nawet 60% zakażonych osób z obniżoną odpornością, z czego u 10% wystąpi marskość.¹ Zakażenie przewlekłe jest definiowane jako RNA wirusa HEV utrzymujący się w surowicy lub kale przez 6 miesięcy lub dłużej.¹ Większość przypadków występuje u biorców przeszczepów narządów mięsnych, chociaż donoszono również o zakażeniu u osób z zaburzeniami hematologicznymi otrzymującymi transfuzje i chemioterapię i kilku osób z wirusem HIV.^{27–33} Zakażenie przewlekłe nie było zgłaszane w przypadku wirusów HEV1 lub HEV2.¹

Zakażenie wirusem HEV było również związane z zespołami neurologicznymi, w tym zespołem Guillain-Barré, objawem Bella, ostrym poprzecznym zapaleniem rdzenia, ostrym zapaleniem opon i mózgu, ataksją i zapaleniem mózgu; objawy neurologiczne zazwyczaj ustępują u pacjentów, u których znika wirus.¹ W ostrym zakażeniu wirusem HEV donoszono o błoniasto-rozplemowym i błoniastym kłębuszkowym zapaleniu nerek, ostrym zapaleniu trzustki i ciężkiej trombocytopenii, chociaż nie zostały określone żadne mechanizmy patofizjologiczne ani związek przyczynowo-skutkowy.¹ Wykazano, że terapia rybawiryną jest skutecznym leczeniem ostrego zakażenia wirusem HEV3 i biorcy przeszczepów z przewlekłym zakażeniem wirusem HEV są zazwyczaj leczeni zmniejszeniem immunosupresji (zwłaszcza lekami celującymi w komórki T), interferonem- α i rybawiryną.¹

Uzasadnienie badań NAT

Podobnie jak inne hepatytydy, wirus HEV może być przenoszony przez transfuzję krwi lub produktów krwiopochodnych. W wielu krajach odnotowano występowanie potransfuzyjnego zapalenia wątroby typu E.^{1, 33–38} Stwierdzono, że wskaźnik seropozytywności dla HEV wśród światowych dawców krwi waha się w granicach 0,4–20,6%.^{39–47} Bezobjawowe zakażenia wirusem HEV występują z bardzo wysoką częstością na świecie i ze względu na występowanie wirusa, wielu krwiodawców może być zakażonych oraz przenosić wirusa na biorców ich produktów krwiopochodnych. Przykładowo niedawno przeprowadzone badanie u brytyjskich krwiodawców wykazało, że 11% surowic krwiodawców było reaktywnych pod względem przeciwciał IgG przeciwko wirusowi HEV, co wskazywało na przebyte zakażenie, natomiast 0,7% surowic krwiodawców było reaktywnych pod względem przeciwciał IgM, co wskazywało na ostre zakażenie.⁴⁵ Dodatkowo 0,7% minipul osocza od angielskich krwiodawców zawierało RNA wirusa HEV.⁴⁶ Badanie chińskich krwiodawców ujawniło podobne wyniki: 32,6% surowic krwiodawców było reaktywnych pod względem przeciwciała IgG przeciwko wirusowi HEV; 0,94% surowic krwiodawców było reaktywnych pod względem przeciwciała IgM przeciwko wirusowi HEV; a 0,07% donacji wykazywało wirus HEV.⁴⁷ Globalne badanie pul frakcjonowania osocza ujawniło, że 10% badanych pul było dodatnie pod względem RNA wirusa HEV.^{47, 48}

Objaśnienie testu

Test **cobas®** HEV to jakościowy test PCR do wykrywania RNA wirusa HEV z użyciem systemów **cobas®** 5800/6800/8800. Test **cobas®** HEV umożliwia jednoczesne wykrycie RNA wirusa HEV i kontroli wewnętrznej w ramach oznaczenia pojedynczej, zakażonej donacji lub puli osocza z poszczególnych donacji.

Zasady procedury

Test **cobas® HEV** opiera się na technologii reakcji PCR w czasie rzeczywistym na próbkach przygotowanych w sposób całkowicie zautomatyzowany (ekstrakcja i oczyszczanie kwasów nukleinowych), po czym przeprowadzana jest amplifikacja i detekcja podczas reakcji PCR. System **cobas® 5800** składa się z jednego, zintegrowanego aparatu. **cobas® 6800/8800** składa się z modułu podawania próbek, modułu transferu, modułu przetwarzania oraz modułu analitycznego. Automatyczne przetwarzanie danych prowadzone jest przez oprogramowanie systemu **cobas® 5800** lub **cobas® 6800/8800**, które przypisuje wynik testu (próbka niereaktywna, próbka reaktywna, wynik nieważny) do wszystkich analiz. W przypadku korzystania z systemu **cobas® 5800**, do przeglądania wyników i drukowania raportów zaleca się użycie oprogramowania **cobas® Synergy**, które jest też wymagane do wysyłania wyników do Laboratoryjnego systemu zarządzania informacją (LIMS) lub innego systemu zarządzania wynikami. W przypadku korzystania z systemu **cobas® 6800/8800** wyniki można przeglądać bezpośrednio na ekranie systemu, wydrukować w postaci raportu albo wysłać do Laboratoryjnego systemu zarządzania informacją (LIMS) lub innego systemu zarządzania wynikami.

Próbki można badać pojedynczo lub w pulach składających się z wielu próbek.

W przypadku wykonywania badań w systemie **cobas® 5800** użycie oprogramowania **cobas® Synergy** jest wymagane nawet, jeśli nie wykonuje się pulowania. Jeśli na etapie przedanalizy wykonuje się pulowanie, można użyć oprogramowania **cobas® Synergy** z urządzeniem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD.

W przypadku wykonywania badań w systemach **cobas® 6800/8800**, aparatu **cobas® p 680** lub oprogramowania **cobas® Synergy** z urządzeniem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD można opcjonalnie użyć na etapie przedanalizy, gdy będzie wykonywane pulowanie.

Jednocześnie zachodzi ekstrakcja kwasu nukleinowego z próbki i dodanej kontroli wewnętrznej (IC) armored RNA (która służy jako kontrola procesów przygotowywania próbek i amplifikacji/detekcji). Dodatkowo w teście są wykorzystywane dwie kontrole: dodatnia i ujemna. Wirusowy kwas nukleinowy jest uwalniany poprzez dodanie do próbki proteiny i odczynnik lizujący. Uwolniony kwas nukleinowy wiąże się z silikonową powierzchnią dodanych szklanych cząstek magnetycznych. Niezwiązane substancje i zanieczyszczenia, takie jak zdenaturowane białka, pozostałości komórek i potencjalne inhibitory reakcji PCR (np. hemoglobina), są usuwane na kolejnych etapach z użyciem odczynnika płuczącego, a oczyszczony kwas nukleinowy jest następnie wymywany w podwyższonej temperaturze ze szklanych cząstek z użyciem buforu do elucji.

Wybiórcza amplifikacja docelowego kwasu nukleinowego z próbki dawcy jest możliwa poprzez zastosowanie swoistych dla wirusa starterów, przedniego (ang. *forward*) i wstecznego (ang. *reverse*), które są projektowane w obrębie wysoce konserwatywnych obszarów wirusowego kwasu nukleinowego. Do odwrotnej transkrypcji oraz amplifikacji wykorzystywana jest termostabilna polimeraza DNA. Odczynnik Master Mix zamiast trifosforanu deoksytymidyny (dTTP) zawiera trifosforan deoksyurydyny (dUTP), który wbudowywany jest do nowo syntetyzowanego DNA (amplikonu).⁴⁹⁻⁵¹ Każdy zanieczyszczający amplikon z poprzedniej reakcji PCR zostanie zniszczony podczas podgrzewania w pierwszym etapie cyklu termicznego, dzięki aktywności enzymu AmpErase (uracilo-N-glikozylazy), który znajduje się w mieszaninie Master Mix do reakcji PCR. Jednak nowo powstały amplikon nie ulega degradacji, gdyż enzym AmpErase jest inaktywowany w temperaturze przekraczającej 55°C.

Odczynnik Master Mix **cobas® HEV** zawiera sondy detekcyjne, które są swoiste wobec kwasu nukleinowego wirusa HEV oraz kontroli wewnętrznej. Swoiste dla wirusa HEV oraz kontroli wewnętrznej sondy detekcyjne są znakowane jednym z dwóch unikatowych barwników fluorescencyjnych, pełniących rolę barwnika reporterowego. Każda sonda jest również wyznakowana drugim barwnikiem pełniącym rolę wygaszacza. Fluorescencja dwóch swoistych barwników reporterowych jest mierzona przy określonych długościach fali, możliwa jest równoczesna detekcja i rozróżnienie zamplifikowanych

sekwencji docelowych wirusów HEV oraz IC.^{52, 53} Sygnał fluorescencyjny nienaruszonej sondy jest tłumiony przez barwnik wygaszający. Podczas amplifikacji PCR hybrydyzacja sond do swoistych sekwencji jednoniciowej matrycy DNA powoduje rozszczepienie nici przez polimerazę DNA dzięki jej aktywności nukleolitycznej w kierunku 5' do 3', co powoduje rozdzielenie barwników reporterowych i wygaszających oraz wygenerowanie sygnału fluorescencyjnego. Z każdym cyklem PCR generowana jest zwiększająca się liczba rozszczepionych sond i jednocześnie wzrasta sumaryczny sygnał barwnika reporterowego. Ponieważ fluorescencja dwóch swoistych barwników reporterowych jest mierzona przy określonych długościach fali, możliwa jest równoczesna detekcja i rozróżnienie zamplifikowanych sekwencji docelowych wirusów HEV oraz kontroli wewnętrznej.

Odczynniki i materiały

Odczynniki i kontrole do testu cobas® HEV

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

Tabela 1 Test cobas® HEV
(HEV)

Przechowywać w temperaturze 2–8°C
Kaseta na 192 testów (P/N 09040986190)

Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw 192 testów
Roztwór proteiny (PASE)	Bufor Tris, < 0,05% EDTA, chlorek wapnia, octan wapnia, 8% (udział wagowo-obj.) proteiny, glicerol EUH210: Karta charakterystyki dostępna na żądanie. EUH208: Zawiera subtylizynę z <i>Bacillus subtilis</i> . Może powodować wystąpienie reakcji alergicznej.	22,3 ml
Kontrola wewnętrzna (IC)	Bufor Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% konstruktu kontroli wewnętrznej Armored RNA (niezakaźnego RNA w bakteriofagu MS2), < 0,002% poli-rA RNA (syntetycznego), < 0,1% azydku sodu	21,2 ml
Bufor do elucji (EB)	Bufor Tris, 0,2% metylo-4-hydroksybenzoesan	21,2 ml
Odczynnik Master Mix 1 (MMX-R1)	Octan magnezu, wodorotlenek potasu, < 0,1% azydku sodu	7,5 ml
Odczynnik HEV Master Mix 2 (HEV MMX-R2)	Bufor trycynowy, octan potasu, glicerol, 18% dimetylosulfotlenku, Tween 20, EDTA, < 0,06% dATP, dGTP, dCTP, < 0,14% dUTP, < 0,01% starterów sensownych i antysensownych dla wirusa HEV oraz kontroli wewnętrznej, < 0,01% znakowanych fluorescencyjnie sond dla wirusa HEV, < 0,01% znakowanej fluorescencyjnie sondy dla kontroli wewnętrznej, < 0,01% aptameru oligonukleotydowego, < 0,01% polimerazy DNA Z05D, < 0,01% enzymu AmpErase (uracylo-N-glikozylazy) (pochodzenia bakteryjnego), < 0,1% azydku sodu	9,7 ml

Tabela 2 cobas® HEV Control Kit
(HEV (+) C)

Przechowywać w temperaturze 2–8°C
(P/N 09040889190)

Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie*
Kontrola dodatnia HEV (HEV (+) C)	< 0,001% syntetycznego RNA (Armored) wirusa HEV opłaskzonego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, prawidłowe osocze ludzkie; niewykrywalne metodami PCR RNA wirusa HEV 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	  OSTRZEŻENIE H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P261: Unikać wdychania mgły lub par. P273: Unikać uwolnienia do środowiska. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Masa reakcyjna 5-chloro-2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu i 2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu (3:1).

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

** Substancja niebezpieczna.

Tabela 3 cobas® NHP Negative Control Kit
(NHP-NC)

Przechowywać w temperaturze 2–8°C

(P/N 09051554190)

Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie*
Kontrola ujemna z prawidłowego osocza ludzkiego (NHP-NC)	Prawidłowe osocze ludzkie; niewykrywalne metodami PCR RNA wirusa HEV < 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	  OSTRZEŻENIE H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania mgły lub par. P272: Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wynosić poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Masa reakcyjna 5-chloro-2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu i 2-metylo-2H-izotioazolo-3-onu (3:1).

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

** Substancja niebezpieczna.

Odczynniki cobas® omni do przygotowywania próbek

Tabela 4 Odczynniki cobas® omni do przygotowywania próbek*

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

* Te odczynniki nie są dołączone do zestawu testu cobas® HEV. Należy zapoznać się z listą wymaganych materiałów dodatkowych (Tabela 8 i Tabela 9).

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

*** Substancja niebezpieczna.

Wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania odczynników

Odczynniki należy przechowywać i użytkować zgodnie z informacjami, które zawiera Tabela 5, Tabela 6 i Tabela 7.

Jeśli odczynniki nie zostały umieszczone w systemach cobas® 5800/6800/8800, należy przechowywać je w odpowiedniej temperaturze, zgodnie z informacjami, które zawiera Tabela 5.

Tabela 5 Przechowywanie odczynników (umieszczonych poza systemem)

Odczynnik	Temperatura przechowywania
cobas® HEV – 192	2–8°C
cobas® HEV Control Kit	2–8°C
cobas® NHP Negative Control Kit	2–8°C
cobas® omni Lysis Reagent	2–8°C
cobas® omni MGP Reagent	2–8°C
cobas® omni Specimen Diluent	2–8°C
cobas® omni Wash Reagent	15–30°C

Wymagania dotyczące użytkowania systemu cobas® 5800

Odczynniki umieszczone w systemie cobas® 5800 przechowywane są w odpowiedniej temperaturze, a ich data przydatności do użycia monitorowana jest przez system. System umożliwia wykorzystanie odczynników tylko w przypadku spełnienia wszystkich warunków, które zawiera Tabela 6. System automatycznie uniemożliwia wykorzystanie przeterminowanych odczynników. Tabela 6 pozwala na zrozumienie warunków użytkowania odczynników wymuszanych przez system cobas® 5800.

Tabela 6 Warunki dotyczące daty ważności odczynników wymuszane przez system cobas® 5800

Odczynnik	Data ważności zestawu	Stabilność otwartego zestawu	Liczba przebiegów pracy, do których można wykorzystać zestaw	Stabilność na pokładzie urządzenia (łącznie czas w urządzeniu poza chłodziarką)
cobas® HEV – 192	Nieprzekroczona	90 dni od pierwszego użycia	Maksymalnie 40 przebiegów	Maks. 36 dni
cobas® HEV Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy*	Nie dotyczy	Maks. 36 dni
cobas® NHP Negative Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy*	Nie dotyczy	Maks. 36 dni
cobas® omni Lysis Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas® omni MGP Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas® omni Specimen Diluent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas® omni Wash Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie**	Nie dotyczy	Nie dotyczy

* Odczynniki do jednorazowego użycia.

** Czas jest mierzony od umieszczenia po raz pierwszy odczynnika w systemie cobas® 5800.

Wymagania dotyczące użytkowania systemów cobas® 6800/8800

Odczynniki umieszczone w systemach cobas® 6800/8800 przechowywane są w odpowiedniej temperaturze, a ich data przydatności do użycia monitorowana jest przez system. System umożliwia wykorzystanie odczynników tylko w przypadku spełnienia wszystkich warunków, które zawiera Tabela 7. System automatycznie uniemożliwia wykorzystanie przeterminowanych odczynników. Tabela 7 pozwala na zrozumienie wymuszonych przez systemy cobas® 6800/8800 warunków użytkowania odczynników.

Tabela 7 Warunki dotyczące daty ważności odczynników wymuszane przez systemy cobas® 6800/8800

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

* Odczynniki do jednorazowego użycia.

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

Materiały dodatkowe wymagane dla systemu cobas® 5800

Tabela 8 Materiały i materiały zużywalne do użytku z systemem cobas® 5800

Material	P/N
cobas® omni Processing Plate 24	08413975001
cobas® omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas® omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Końcówki CORE TIPS z filtrem, 1 ml	04639642001
Końcówki CORE TIPS z filtrem, 300 µl	07345607001
cobas® omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Worek na odpady stałe	07435967001
lub	lub
Worek na odpady stałe z wkładką	08030073001

Materiały dodatkowe wymagane do systemów cobas® 6800/8800

Tabela 9 Materiały i materiały zużywalne do użytku z systemami cobas® 6800/8800

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

Wymagane urządzenia i oprogramowanie

W systemie **cobas® 5800** należy zainstalować pakiet oprogramowania do analizy **cobas® HEV** dla systemu **cobas® 5800**. Z systemem zostanie dostarczone oprogramowanie x800 Data Manager dla systemu **cobas® 5800**. Należy zainstalować oprogramowanie **cobas® Synergy**.

Na aparacie(-tach) należy zainstalować oprogramowanie **cobas® 6800/8800** oraz pakiet oprogramowania do analizy **cobas® HEV**. Z systemem dostarczany jest serwer Instrument Gateway (IG). W razie potrzeby należy zainstalować oprogramowanie **cobas® Synergy**.

Tabela 10 Urządzenia

Systemy cobas® 6800/8800	P/N
cobas® 6800 System (opcja, na ruchomej platformie)	05524245001 i 06379672001
cobas® 6800 System (nieruchomy)	05524245001 i 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Moduł dostarczania próbek dla systemów cobas® 6800/8800	06301037001
Licencja elektroniczna oprogramowania cobas® Synergy (tylko dla systemu cobas® 5800)	09311246001
Opcje pipetowania i pulowania	P/N
Aparat cobas® p 680	06570577001
Licencja elektroniczna oprogramowania cobas® Synergy (systemy cobas® 6800/8800) (opcjonalnie)	09311238001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001
Hamilton MICROLAB® STAR/let IVD	04872649001

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy zapoznać się z asystentem użytkownika systemu **cobas® 5800** lub asystentem użytkownika systemów **cobas® 6800/8800**. Dodatkowe informacje dotyczące pierwotnych i wtórnych próbek akceptowanych przez aparaty zawiera asystent użytkownika aparatu **cobas® p 680** lub asystent użytkownika oprogramowania **cobas® Synergy**.

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

Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania

Ostrzeżenia i środki ostrożności

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

- Do stosowania wyłącznie w diagnostyce *in vitro*.
- Ze wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak jak z materiałem zakaźnym, stosując procedury dobrej praktyki laboratoryjnej, takie jak określone w dokumentach Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories oraz CLSI Document M29-A4.^{54, 55} Procedurę tę może wykonywać wyłącznie personel biegły w użytkowaniu testu **cobas® HEV**, systemów **cobas® 5800/6800/8800**, aparatu **cobas® p 680** (dla systemów **cobas® 6800/8800**) lub urządzenia Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD z oprogramowaniem **cobas® Synergy**.
- Wszystkie materiały pochodzenia ludzkiego należy uważać za potencjalnie zakaźne i postępować z nimi z zastosowaniem ogólnych środków ostrożności. W przypadku rozlania materiału należy natychmiast odkazić świeżo przygotowanym 0,6% roztworem podchlorynu sodu w destylowanej lub dejonizowanej wodzie lub postępować zgodnie z procedurami przyjętymi w danym ośrodku.
- **cobas® HEV Control Kit** oraz **cobas® NHP Negative Control Kit** zawierają osocze uzyskane z krwi ludzkiej. Testowanie prawidłowego osocza ludzkiego metodami PCR nie wykazało obecności RNA wirusa HEV. Żadna ze znanych metod badania nie może zaoferować całkowitej pewności, że produkty otrzymane z ludzkiej krwi nie będą przenosić czynników zakaźnych.
- Nie zamrażać krwi pełnej.
- Zaleca się używanie jałowych jednorazowych pipet oraz końcówek pipet wolnych od nukleazy. W celu zagwarantowania optymalnego działania testu należy stosować wyłącznie dostarczone lub wymienione potrzebne materiały zużywalne.
- Ścisłe przestrzegać podanych procedur i wytycznych w celu zapewnienia prawidłowego wykonania testu. Wszelkie odchylenia od procedur i wytycznych mogą mieć wpływ na optymalną skuteczność testu.
- Odsetek nieważnych wyników może wzrosnąć w przypadku naruszenia powierzchni styku warstwy komórek i osocza lub w przypadku dyfuzji materiału po odwirowaniu.
- Jeżeli w trakcie pracy z próbkami i na etapie ich przygotowywania nie stosuje się odpowiedniej kontroli kontaminacji pomiędzy próbkami, może dojść do uzyskania fałszywie dodatnich wyników.
- Należy poinformować lokalny właściwy organ oraz producenta o wszelkich poważnych zdarzeniach, które mogą wystąpić podczas stosowania tego testu.

Użytkowanie odczynników

- Aby uniknąć zanieczyszczenia pomiędzy próbkami lub kontrolami, ze wszystkimi odczynnikami, kontrolami i próbkami należy postępować zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej.
- Przed użyciem należy ocenić wzrokowo każdą kasetę odczynnikową, rozcieńczalnik, odczynnik do lizy i odczynnik płuczający, aby upewnić się, że nie ma jakiegokolwiek wycieku. W razie wystąpienia wycieku nie wolno używać tego materiału do badania.
- **cobas® omni** Lysis Reagent zawiera izotiocyanian guanidyny, potencjalnie niebezpieczną substancję chemiczną. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia.

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

Dobra praktyka laboratoryjna

- Nie należy pipetować za pomocą ust.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić tytoniu w obszarach roboczych.
- Podczas pracy z próbkami i odczynnikami należy nosić rękawiczki laboratoryjne, fartuch oraz osłonę oczu. W celu uniknięcia zanieczyszczenia należy zmieniać rękawice pomiędzy obchodzeniem się z próbkami i użytkowaniem zestawów testów **cobas® HEV** oraz odczynników **cobas® omni**. Podczas pracy z próbkami i kontrolami należy unikać zanieczyszczenia rękawiczek.
- Po zakończeniu pracy z próbkami i zestawami odczynnikowymi oraz po zdjęciu rękawiczek należy dokładnie umyć ręce.
- Jeśli na powierzchni aparatu **cobas® 5800** dojdzie do rozlania płynu, należy postępować zgodnie z instrukcjami zamieszczonymi w asystencie użytkownika systemu **cobas® 5800** w celu prawidłowego wyczyszczenia i odkażenia powierzchni aparatu(-ów).
- Dokładnie oczyścić i odkażyć wszystkie laboratoryjne powierzchnie robocze świeżo przygotowanym roztworem 0,6% podchlorynu sodu w wodzie dejonizowanej lub destylowanej. Następnie przetrzeć powierzchnię 70% etanolem.
- Jeśli dojdzie do rozlania płynu na powierzchni aparatów **cobas® 6800/8800**, należy postępować zgodnie z instrukcjami zamieszczonymi w asystencie użytkownika systemów **cobas® 6800/8800** w celu prawidłowego wyczyszczenia i odkażenia powierzchni aparatu(-ów).

Pobieranie, transport, przechowywanie i pulowanie próbek

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

Wszystkie próbki dawców należy przechowywać w określonych temperaturach.

Podwyższona temperatura wpływa na stabilność próbek.

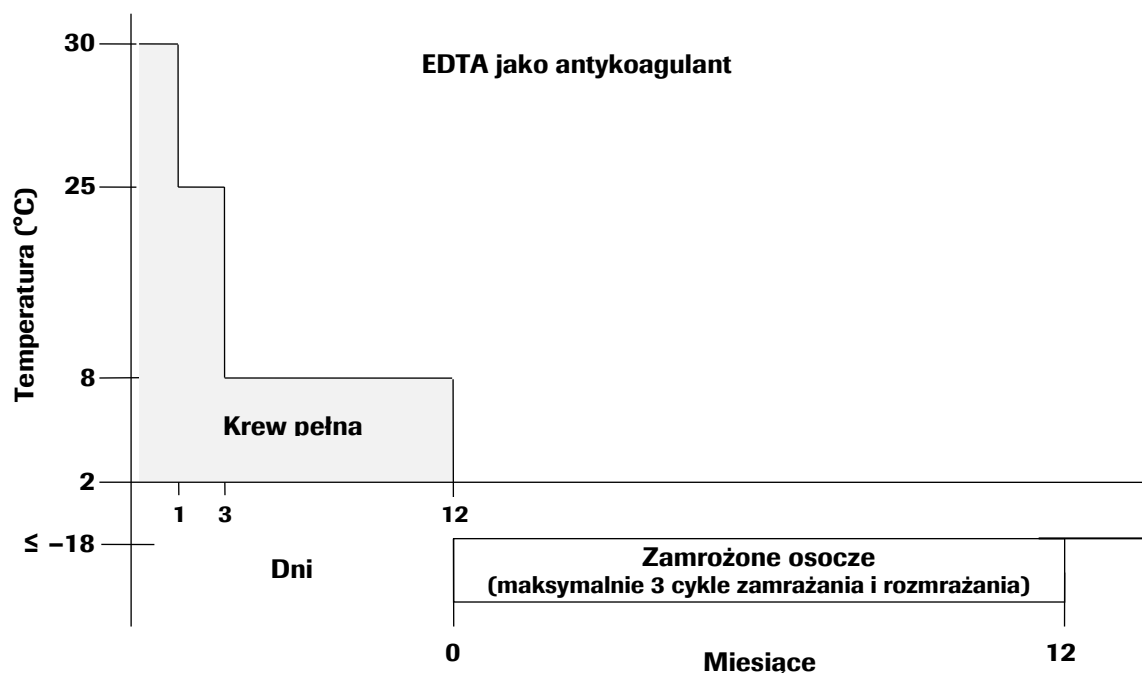
Próbki pochodzące od żywych dawców

- Z testem **cobas® HEV** można używać próbek osocza pobranych do próbek z antykoagulantem EDTA, CPD, CPDA1, CP2D i 4% cytrynianem sodu. Należy postępować zgodnie z instrukcjami producenta próbki/worka do pobierania próbek podczas ich używania i wirowania.
- Krew pobrana na EDTA, w próbkach Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) lub Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tubes może być poddana dodatkowemu wirowaniu przy 600 × g przez 5 minut przed załadowaniem, opcjonalnym pulowaniem lub ponownym badaniem.

- Próbkę krwi pobraną do probówek zawierających EDTA jako antykoagulant można przechowywać przez maksymalnie 12 dni w temperaturze w następujących warunkach:
 - Próbkę należy odwirować w ciągu 72 godzin po pobraniu.
 - W przypadku przechowywania w temperaturze powyżej 8°C próbkę można przechowywać przez 72 godziny w temperaturze nieprzekraczającej 25°C i przez 24 godziny w okresie 72 godzin w temperaturze nieprzekraczającej 30°C.

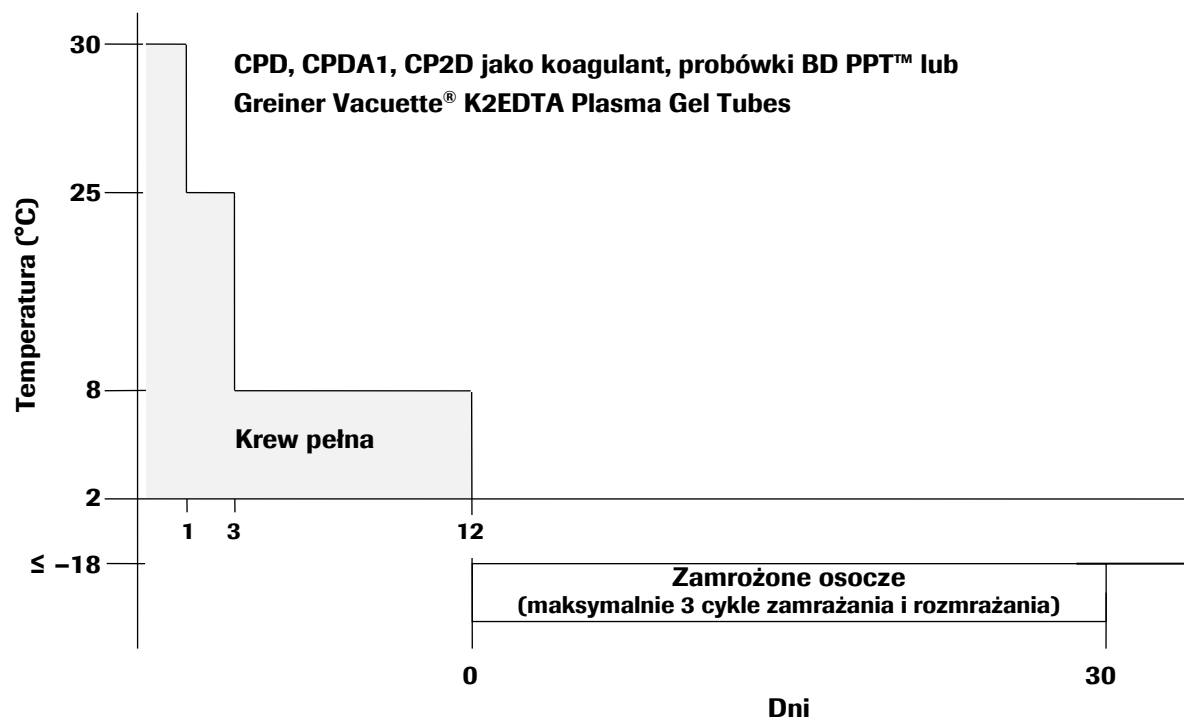
W innych niż opisane sytuacjach próbkę przechowuje się w temperaturze 2–8°C. Dodatkowo osocze oddzielone od elementów morfotycznych można przechowywać przez maksymalnie 12 miesięcy w temperaturze $\leq -18^{\circ}\text{C}$ z trzema cyklami zamrażania/rozmarzania. Patrz Rys. 1.

Rys. 1 Warunki przechowywania próbek w antykoagulancie EDTA



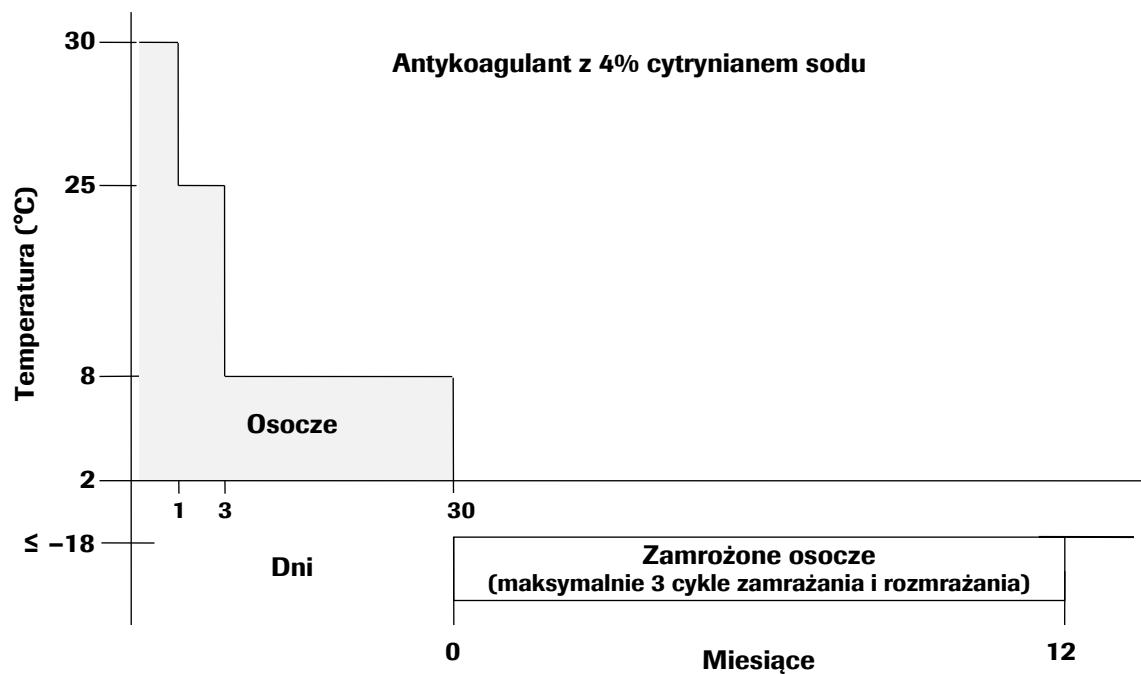
- Krew pobraną na CPD, CPDA1, CP2D jako antykoagulant, do probówek EDTA Plasma Preparation Tubes firmy Becton-Dickinson (BD PPT™) lub Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tubes można przechowywać przez maksymalnie 12 dni w następujących warunkach:
 - Próbkę należy odwirować w ciągu 72 godzin po pobraniu.
 - W przypadku przechowywania w temperaturze powyżej 8°C próbkę można przechowywać przez 72 godziny w temperaturze nieprzekraczającej 25°C i przez 24 godziny w okresie 72 godzin w temperaturze nieprzekraczającej 30°C.

W innych niż opisane sytuacjach próbkę przechowuje się w temperaturze 2–8°C. Dodatkowo osocze oddzielone od elementów morfotycznych można przechowywać przez maksymalnie 30 dni w temperaturze $\leq -18^{\circ}\text{C}$ z trzema cyklami zamrażania/rozmarzania. Patrz Rys. 2.

Rys. 2 Warunki przechowywania próbek

- Osocze pobrane na antykoagulant z 4% cytrynianem sodu można przechowywać przez maksymalnie 30 dni w temperaturze 2–8°C.
 - W przypadku przechowywania w temperaturze powyżej 8°C próbki można przechowywać przez 72 godziny w temperaturze nieprzekraczającej 25°C i przez 24 godziny w okresie 72 godzin w temperaturze nieprzekraczającej 30°C.

W innych niż opisane sytuacjach próbki przechowuje się w temperaturze 2–8°C. Dodatkowo osocze oddzielone od elementów morfotycznych można przechowywać przez maksymalnie 12 miesięcy w temperaturze $\leq -18^{\circ}\text{C}$ z trzema cyklami zamrażania/rozmarzania. Patrz Rys. 3.

Rys. 3 Warunki przechowywania próbki w antykoagulancie z 4% cytrynianem sodu

- Jeśli próbki mają być przesyłane, należy je opakować i oznaczyć zgodnie z odpowiednimi krajowymi i/lub międzynarodowymi przepisami dotyczącymi transportu próbek i czynników zakaźnych.

Instrukcja obsługi

Automatyczne pipetowanie i pulowanie próbek (opcjonalne)

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

Oprogramowanie **cobas® Synergy** z urządzeniem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD należy stosować jako akcesorium do systemu **cobas®** 5800 do automatycznego pipetowania i pulowania porcji wielu próbek pierwotnych w celu uzyskania próbki spulowanej.

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

Uwagi dotyczące wykonania testu

- Nie należy używać odczynników testu **cobas®** HEV, **cobas®** HEV Control Kit, **cobas®** NHP Negative Control Kit i odczynników **cobas® omni** po upływie ich daty ważności.
- Nie wykorzystywać ponownie materiałów zużywalnych. Są one przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku.
- Informacje na temat właściwej konserwacji aparatów, patrz asystent użytkownika systemu **cobas®** 5800.
- Informacje na temat właściwej konserwacji aparatów, patrz asystent użytkownika systemów **cobas®** 6800/8800.

Wykonanie testu cobas® HEV w systemie cobas® 5800

Procedurę wykonywania testu opisano szczegółowo w Asystencie użytkownika systemu cobas® 5800. Na Rys. 4 podsumowano tę procedurę. Szczegółowe informacje na temat opcjonalnych procedur dotyczących pulowania, patrz asystent użytkownika oprogramowania cobas® Synergy.

Rys. 4 Procedura testu cobas® HEV w systemie cobas® 5800

1	Pipetowanie i pulowanie
2	Ładowanie statywów z próbkami do systemu: • Załaduj statywy z próbkami do systemu • Zleć testy ręcznie, jeśli brak zleceń z systemu LIS
3	Po poproszeniu przez system uzupełnij odczynniki i materiały zużywalne przez system: • Załaduj swoistą dla testu kasetę (kasety) na odczynniki • Załaduj mini statywy z kontrolami • Załaduj końcówki do przetwarzania • Załaduj końcówki do elucji • Załaduj płytki do przetwarzania • Załaduj płytki na odpady płynne • Załaduj płytki amplifikacyjne • Załaduj kasetę MGP • Uzupełnij rozcieńczalnik próbki • Uzupełnij odczynnik lizujący • Uzupełnij odczynnik płuczący
4	Rozpocznij przebieg przez ręczne wybranie przycisku Start w interfejsie. Wszystkie kolejne przebiegi rozpoczną się automatycznie, o ile nie zostaną ręcznie odłożone.
5	Przeanalizowanie wyników.
6	Wyjmij próbówki próbkowe. Oczyść aparat: • Opróżnij kasety na odczynniki • Opróżnij mini statywy z kontrolami • Opróżnij szufladę na płytki amplifikacyjne • Usuń odpady płynne • Usuń odpady stałe

Wykonanie testu cobas® HEV w systemach cobas® 6800/8800

Procedura testu jest szczegółowo opisana w asystencie użytkownika systemów cobas® 6800/8800. Szczegóły opcjonalnych procedur pulowania, patrz asystent użytkownika aparatu cobas® p 680 lub asystent użytkownika oprogramowania cobas® Synergy. Na Rys. 5 podsumowano tę procedurę.

Rys. 5 Procedura testu cobas® HEV w systemach cobas® 6800/8800

1	Pipetowanie i pulowanie
2	Utworzenie zlecenia
3	Po poproszeniu przez system uzupełnij odczynniki i materiały zużywalne przez system: • Uzupełnij odczynnik płuczący, odczynnik do lizy oraz rozcieńczalnik • Uzupełnij płytki do przetwarzania oraz płytki amplifikacyjne • Uzupełnij szklane cząstki magnetyczne • Uzupełnij odczynniki specyficzne dla testu • Uzupełnij kasety z kontrolami • Uzupełnij statywy na końcówki • Wymień statyw na niedrożne końcówki
4	Rozpoczęcie przebiegu: • Umieść statyw z próbkami • Wybierz przycisk rozpoczęcia w interfejsie
5	Sprawdź i wyeksportuj wyniki
6	Wyładowanie materiałów zużywalnych: • Wyjmij płytki do amplifikacji z modułu analitycznego • Wyjmij puste kasety z kontrolami • Usuń odpady stałe • Usuń odpady płynne

Wyniki

System **cobas**® 5800 i systemy **cobas**® 6800/8800 automatycznie wykrywają RNA HEV jednocześnie dla próbek i kontroli.

Kontrola jakości i ważność wyników w systemie **cobas**® 5800

System **cobas**® 5800 zostanie dostarczony z domyślnymi ustawieniami oznaczania zestawu kontroli (dodatnich i ujemnych) z każdym przebiegiem, ale można go skonfigurować do rzadszego wykonywania kontroli, w zależności od procedur laboratorium i/lub miejscowych przepisów. W tym celu należy skontaktować się z pomocą techniczną firmy Roche lub zmianę może wykonać pracownik serwisu firmy Roche.

- Z każdą nową serią zestawu lub co 24 godziny przetwarzana jest jedna kontrola ujemna [(-) C] i jedna kontrola dodatnia [HEV (+) C].
- W celu zagwarantowania ważności kontroli należy sprawdzić w systemie **cobas**® 5800 i/lub w raporcie obecność flag oraz powiązane z nimi wyniki.
- Powiązane próbki są ważne, jeśli nie ma oflagowań dla wszystkich kontroli.

Wyniki są unieważniane automatycznie przez system **cobas**® 5800 na podstawie uzyskania niepomysłnych wyników kontroli ujemnej lub kontroli dodatniej.

Wyniki kontroli w systemie **cobas**® 5800

Wyniki kontroli przedstawia aplikacja „Controls” oprogramowania **cobas**® 5800.

- Kontrole oznaczone są „Valid” (Ważne) w kolumnie „Control result” (Wynik kontroli), jeśli wszystkie sekwencje docelowe kontroli zostały zgłoszone jako ważne. Kontrole oznaczone są „Invalid” (Nieważne) w kolumnie „Control result”, jeśli jedna lub wszystkie sekwencje docelowe kontroli zostały zgłoszone jako nieważne.
- Kontrole oznaczone jako „Invalid” w kolumnie „Flags” (Flagi) oznaczone są flagą. Więcej informacji na temat powodu zgłoszenia kontroli jako nieważnej, włącznie z informacją o fladze, dostępnych będzie w widoku szczegółowym.
- Jeśli kontrola dodatnia jest nieważna, należy powtórzyć oznaczenie kontroli dodatnich i wszystkich powiązanych z nimi próbek. Jeśli nieważna jest kontrola ujemna, należy powtórzyć oznaczenie wszystkich kontroli i powiązanych z nimi próbek.

Tabela 11 Oflagowania kontroli ujemnych i dodatnich w systemie **cobas**® 5800

Kontrola ujemna	Oflagowanie	Wynik kontroli	Interpretacja
(-) C	Wyświetlana jest flaga	Invalid	Cała partia zostanie unieważniona, jeśli wynik dla kontroli (-) C będzie nieważny.
Kontrola dodatnia	Oflagowanie	Wynik kontroli	Interpretacja
HEV (+) C	Wyświetlana jest flaga	Invalid	Cała partia zostanie unieważniona, jeśli wynik dla kontroli HEV (+) C będzie nieważny.

Kontrola jakości i ważność wyników w systemach cobas® 6800/8800

- W każdej partii przetwarzana jest jedna kontrola ujemna [(-) C] i jedna kontrola dodatnia [HEV (+) C].
- W celu zagwarantowania ważności partii należy sprawdzić w oprogramowaniu cobas® 6800/8800 i/lub w raporcie obecność flag oraz powiązane z nimi wyniki.
- Partia jest ważna, jeśli nie ma oflagowań dla obu kontroli.

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

Oflagowanie kontroli w systemach cobas® 6800/8800

Tabela 12 Oflagowania kontroli ujemnej i kontroli dodatnich

Kontrola ujemna	Oflagowanie	Wynik	Interpretacja
(-) C	Q02	Invalid	Cała partia zostanie unieważniona, jeśli wynik dla kontroli (-) C będzie nieważny.
Kontrola dodatnia	Oflagowanie	Wynik	Interpretacja
HEV (+) C	Q02	Invalid	Cała partia zostanie unieważniona, jeśli wynik dla kontroli HEV (+) C będzie nieważny.

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

Interpretacja wyników

W przypadku ważnej partii należy sprawdzić w oprogramowaniu systemów cobas® 5800/6800/8800 i/lub raportach poszczególne próbki pod kątem obecności flag. Wyniki należy interpretować w następujący sposób:

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

Dla każdej próbki mierzy się jednocześnie dwa parametry: HEV i kontrolę wewnętrzną. Ostateczne wyniki testu cobas® HEV dla próbek są przedstawiane przez oprogramowanie. Oprócz wyników ogólnych w systemach cobas® 5800/6800/8800 zostaną wyświetlone wyniki poszczególnych materiałów docelowych, które należy interpretować w następujący sposób:

Tabela 13 Interpretacja wyników dla poszczególnych targetów

Wyniki targetu	Interpretacja
HEV Non-Reactive	Nie wykryto sygnału materiału docelowego dla wirusa HEV przy obecności sygnału kontroli wewnętrznej.
HEV Reactive	Wykryto sygnał materiału docelowego dla wirusa HEV przy obecności lub braku sygnału kontroli wewnętrznej.
Invalid	Nie wykryto sygnału targetu ani kontroli wewnętrznej.

W przypadku korzystania z oprogramowania cobas® Synergy z wynikiem końcowym obliczenia należy zapoznać się przez oprogramowanie cobas® Synergy.

Dodatkowe informacje dotyczące interpretacji wyników w systemie cobas® 5800

Wyniki próbek wyświetlane są w systemie **cobas® 5800**. Zaleca się przegląd wyników w oprogramowaniu **cobas® Synergy**.

- Próbkę powiązaną z ważną partią kontroli (zgodnie z definicją w konfiguracji systemu) wyświetlane są jako „Valid” (Ważne) w kolumnie „Control result” (Wynik kontroli). Próbkę powiązaną z błędną partią kontroli wyświetlane są jako „Invalid” (Nieważne) w kolumnie „Control result”.
- Jeśli powiązane kontrole wyniku próbki są nieważne, do wyniku próbki zostanie dodana określona flaga:
 - Q05D: niepowodzenie weryfikacji wyniku z powodu nieważnej kontroli dodatniej
 - Q06D: niepowodzenie weryfikacji wyniku z powodu nieważnej kontroli ujemnej
- Wartości w kolumnie „Results” (Wyniki) dla poszczególnych wyników docelowych próbek powinny być interpretowane zgodnie z tym, co przedstawia Tabela 13 powyżej.
 - System **cobas® 5800** wyświetli wyniki poszczególnych materiałów docelowych. Wynik ogólny zostanie wyświetlony tylko w widoku wyniku oprogramowania **cobas® Synergy**.
 - Więcej szczegółowych informacji dotyczących wyników próbek i flag, patrz Asystent użytkownika systemu **cobas® 5800**.

Powtarzanie testu dla poszczególnych próbek

Probówki z ostatecznym wynikiem nieważnym dla wartości docelowej wymagają powtórnego badania.

W przypadku próbek krwi pobranych na EDTA jako antykoagulant, do probówek Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) lub Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tubes w zmniejszeniu częstości uzyskiwania powtarzających się nieważnych wyników może pomóc dodatkowe odwirowanie przy 600 × g przez 5 minut.

Ograniczenia metody

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

Równoważność/porównanie systemu

Równoważność systemów **cobas® 5800** i **cobas® 6800/8800** wykazano przez badanie równoważności.

Wyniki przedstawione w niniejszej instrukcji obsługi oparte są na równoważnym działaniu wszystkich systemów.

Ocena skuteczności w badaniach nieklinicznych przeprowadzona w systemach cobas® 6800/8800

Najważniejsze parametry działania testu – próbki od dawców żyjących

Granica wykrywalności (LoD)

Międzynarodowy standard WHO

Granica wykrywalności (LoD) testu cobas® HEV dla RNA wirusa HEV została określona przy użyciu międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa HEV (kod PEI 6329/10).

W przypadku międzynarodowego wzorca WHO, przygotowano 3 niezależne serie rozcieńczeń wzorca wirusa z prawidłowym, ujemnym pod względem wirusa (HEV) ludzkim osoczem EDTA. Wszystkie serie rozcieńczeń badano przy użyciu 3 różnych serii zestawu testowego cobas® HEV z około 63 powtórzeniami na serię, co dało w sumie około 189 powtórzeń na stężenie. W przypadku wirusa HEV przeprowadzono analizę 95% PROBIT (Tabela 14) i 50% PROBIT (Tabela 15) z wykorzystaniem połączonych danych z serii rozcieńczeń i serii odczynników w celu oszacowania wartości LoD wraz z dolną i górną granicą 95% przedziałów ufności. Częstość wyników reaktywnych obserwowanych w badaniach LoD dla wirusa HEV podsumowuje Tabela 16.

Tabela 14 Wyniki analizy 95% PROBIT z wykorzystaniem danych LoD uzyskanych podczas oznaczeń wzorców wirusowych w osoczu pobranym na EDTA

Oznaczany składnik	Jednostki miary	LoD	Dolna granica 95% przedziału ufności	Górna granica 95% przedziału ufności
HEV	IU/ml	18,6	15,9	22,6

Tabela 15 Wyniki analizy 50% PROBIT z wykorzystaniem danych LoD uzyskanych podczas oznaczeń wzorców wirusowych w osoczu pobranym na EDTA

Oznaczany składnik	Jednostki miary	LoD	Dolna granica 95% przedziału ufności	Górna granica 95% przedziału ufności
HEV	IU/ml	3,9	3,4	4,3

Tabela 16 Zestawienie częstości wyników reaktywnych dla wirusa HEV w osoczu pobranym na EDTA

Stężenie RNA HEV (IU/ml)	Liczba reaktywnych próbek	Liczba ważnych powtórzeń testu	% wyników reaktywnych	Dolny zakres 95% przedziału ufności (jednostronny)
40	187	187	100,0%	98,4%
20	179	188	95,2%	91,8%
10	165	189	87,3%	82,6%
6	113	187	60,4%	54,2%
2	52	189	27,5%	22,2%

Odtwarzalność

Odtwarzalność testu **cobas® HEV** używanego w systemach **cobas® 6800/8800** określono z wykorzystaniem międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa HEV (kod PEI 6329/10). Badanie to obejmowało 3 panele wirusa HEV przy stężeniach wynoszących około $0,5 \times$, $1 \times$ oraz $2 \times$ wartości LoD testu **cobas® HEV**. W badaniu oceniono następujące elementy zmienności:

- zmienność pomiędzy dniami w okresie 3 dni;
- zmienność pomiędzy seriami przy wykorzystaniu 3 różnych serii odczynników testu **cobas® HEV**;
- zmienność pomiędzy aparatami przy wykorzystaniu 3 różnych systemów **cobas® 8800**.

Wykonano około 21 powtórzeń z użyciem każdego z 3 paneli, co dało łącznie 63 powtórzenia dla każdej serii odczynnika. Wszystkie ważne wyniki dotyczące powtarzalności oceniono, obliczając odsetek wyników reaktywnych testu dla każdego poziomu stężenia w odniesieniu do wszystkich elementów zmienności.

Dla każdej częstości reaktywnych wyników w ramach trzech poziomów wirusa HEV przebadanych w ciągu 3 dni z użyciem 3 serii odczynników i 3 systemów **cobas® 8800** obliczono granice dwustronnych 95% przedziałów ufności. Wyniki testu **cobas® HEV** są powtarzalne w okresie kilku dni, z użyciem kilku serii odczynników oraz kilku aparatów. Tabela 17 zawiera zestawienie wyników dla zmienności pomiędzy seriami odczynników.

Tabela 17 Podsumowanie powtarzalności testu **cobas® HEV** pomiędzy seriami odczynników

Oznaczany składnik	Stężenie	Seria odczynnika	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/ ważne powtórzenia)	Dolna granica 95% przedziału ufności	Górna granica 95% przedziału ufności
HEV	$2 \times \text{LoD}$	1	100,0% (61/61)	94,1%	100,0%
HEV	$2 \times \text{LoD}$	2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
HEV	$2 \times \text{LoD}$	3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
HEV	$1 \times \text{LoD}$	1	88,9% (56/63)	78,4%	95,4%
HEV	$1 \times \text{LoD}$	2	96,8% (60/62)	88,8%	99,6%
HEV	$1 \times \text{LoD}$	3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
HEV	$0,5 \times \text{LoD}$	1	82,5% (52/63)	70,9%	90,9%
HEV	$0,5 \times \text{LoD}$	2	95,2% (60/63)	86,7%	99,0%
HEV	$0,5 \times \text{LoD}$	3	84,1% (53/63)	72,7%	92,1%

Weryfikacja genotypu

Wiarygodność testu **cobas® HEV** w wykrywaniu 4 genotypów wirusa HEV określano badając łącznie 16 unikatowych próbek klinicznych oraz 7 izolatów z hodowli wirusa HEV o znanych genotypach. Wszystkie próbki zostały oznaczone ilościowo względem wzorca WHO wirusa HEV. Wszystkie 16 próbek klinicznych oznaczono po rozcieńczeniu z użyciem prawidłowego osocza ludzkiego niezawierającego wirusów (HEV) i pobranego na EDTA do stężenia na poziomie 5-krotności wartości LoD dla testu **cobas® HEV**. 10 próbek z tej grupy przebadano również bez rozcieńczenia. Wszystkie 7 izolatów z hodowli przebadano po rozcieńczeniu z użyciem prawidłowego osocza ludzkiego niezawierającego wirusa (HEV) i pobranego na EDTA do stężenia na poziomie 5-krotności wartości LoD testu **cobas® HEV**. Wszystkie próbki kliniczne i izolaty z hodowli wykryto bez rozcieńczenia i/lub w stężeniu wynoszącym 5-krotność wartości LoD (Tabela).

Tabela 18 Próbki kliniczne i izolaty HEV z hodowli

Genotyp	Próbki kliniczne	Próbki kliniczne	Izolaty z hodowli
	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/ przebadane próbki) nierozcieńczone	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/ przebadane próbki) rozcieńczone do stężenia 5 × LoD	Odsetek wyników reaktywnych (wyniki reaktywne/ przebadane próbki) rozcieńczone do stężenia 5 × LoD
1	Nie przebadano*	Nie przebadano*	100,0% (3/3)
2	Nie przebadano*	Nie przebadano*	100,0% (1/1)
3	100,0% (10/10)	100,0% (10/10)	Nie przebadano*
4	Nie przebadano*	100,0% (6/6)	100,0% (3/3)

* Niewystarczająca ilość do oznaczenia bez rozcieńczenia/z rozcieńczeniem.

Swoistość analityczna

Swoistość analityczną testu **cobas® HEV** oceniono pod kątem reaktywności krzyżowej z 28 drobnoustrojami w ilości 10^6 cząstek, kopii lub PFU/ml, które obejmowały 21 izolatów wirusowych, 6 szczepów bakteryjnych i 1 izolat drożdży (Tabela 19). Drobnoustroje dodawano do prawidłowego, ujemnego pod względem wirusa, ludzkiego osocza EDTA i badano bez dodatku wirusa oraz z wirusem HEV dodanym do uzyskania stężenia wynoszącego 3-krotność wartości LoD testu **cobas® HEV**. Badane drobnoustroje nie wykazują reaktywności krzyżowej ani nie zakłócają działania testu **cobas® HEV**.

Tabela 19 Drobnoustroje badane pod kątem swoistości analitycznej

Wirusy	Flawiwirusy	Bakterie	Drożdżaki
Adenowirus 5	Wirus gorączki Zachodniego Nilu	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Wirus cytomegalii	Wirus gorączki Denga typu 1	<i>Propionibacterium acnes</i>	-
Wirus Epsteina-Barra	Wirus Usutu	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Wirus opryszczki pospolitej typu 1	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Wirus opryszczki pospolitej typu 2	-	<i>Streptococcus viridans</i>	-
Wirus zapalenia wątroby typu A	-	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-
Wirus zapalenia wątroby typu B Wirus zapalenia wątroby typu C	-	-	-
Wirus zapalenia wątroby typu G Ludzki wirus upośledzenia odporności (HIV-1 grupa M) Ludzki wirus upośledzenia odporności (HIV-2)	-	-	-
Ludzki wirus T-limfotropowy typu I	-	-	-
Ludzki wirus T-limfotropowy typu II	-	-	-
Ludzki wirus opryszczki 6	-	-	-
Wirus grypy typu A	-	-	-
Parwovirus B19	-	-	-
Wirus Chikungunya	-	-	-
Wirus ospy wietrznej	-	-	-

Próbki osocza w przypadku każdego ze stanów chorobowych (Tabela 20) bez dodanego wirusa HEV oraz z dodanym wirusem HEV do stężenia wynoszącego około 3-krotność wartości LoD testu **cobas® HEV**. Badane stany chorobowe nie wykazują reaktywności krzyżowej ani nie zakłócają działania testu **cobas® HEV**.

Tabela 20 Próbki dla poszczególnych stanów chorobowych przebadane pod kątem swoistości analitycznej

Stan chorobowy	Stan chorobowy	Stan chorobowy
Adenowirus typu 5	Wirus zapalenia wątroby typu B	Ludzki wirus T-limfotropowy typu I
Wirus cytomegalii	Wirus zapalenia wątroby typu C	Ludzki wirus T-limfotropowy typu II
Wirus gorączki Denga	Wirus opryszczki pospolitej typu 1	Parwovirus B19
Wirus Epsteina-Barra	Wirus opryszczki pospolitej typu 2	Wirus gorączki Zachodniego Nilu
Wirus zapalenia wątroby typu A	Ludzki wirus upośledzenia odporności (HIV-1)	-

Swoistość analityczna – substancje interferujące

Endogenne substancje wpływające na wynik testu

Przeprowadzono oznaczenia próbek osocza z nieprawidłowo wysokimi stężeniami trójglicerydów (do 33,2 g/l), hemoglobiny (do 4,7 g/l), bilirubiny niezwiązanej (do 0,28 g/l), albuminy (do 60 g/l) oraz ludzkiego DNA (do 0,004 g/l) bez dodatku i po dodaniu wirusa HEV do uzyskania stężenia wynoszącego około 3-krotność wartości LoD testu **cobas® HEV**. Próbkę zawierającą wyżej wymienione substancje endogenne nie wpłynęły na czułość ani swoistość testu **cobas® HEV**.

Egzogenne substancje wpływające na wynik testu

Próbki prawidłowego, ujemnego pod względem wirusa (HEV) ludzkiego osocza EDTA zawierającego nieprawidłowo wysokie stężenia leków (Tabela 21) zbadano z dodanym wirusem HEV i bez dodanego wirusa HEV do stężenia $3 \times \text{LoD}$ testu **cobas® HEV**. Wyżej wymienione substancje egzogenne nie wpłynęły na czułość ani swoistość testu **cobas® HEV**.

Tabela 21 Próbkę kliniczne badane z dodatkiem leków

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

Korelacja

Ocena działania testu cobas® HEV w porównaniu z testem Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0

Działanie testów cobas® HEV i Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0 (Altona Diagnostics) porównano przy użyciu 100 różnych próbek osocza dodatniego pod względem HEV NAT. 100 próbek dodatnich badano bez rozcieńczenia i 67 próbek dodatnich rozcieńczono w stosunku 1:6. Dodatkowo z użyciem obu metod oznaczono 100 nierozcieńczonych próbek osocza ujemnych pod względem wirusa HEV.

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

W przypadku próbek dodatnich, obie metody były zgodne na podstawie testu McNemars wskazując, że działanie testów cobas® HEV oraz Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0 jest równoważne (Tabela 22).

Tabela 22 Korelacja w przypadku próbek dodatnich (nierozcieńczonych)

Metody	Metody	Wyniki HEV	Wyniki HEV
Test Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0	cobas® HEV	Nierozcieńczane	Rozcieńczony 1:6
Niereaktywne	Niereaktywne	0	3
Reaktywne	Niereaktywne	0	3
Niereaktywne	Reaktywne	1	9
Reaktywne	Reaktywne	99	52
Ogółem	Ogółem	100	67
Wartość p w teście McNemara (dwustronny, $\alpha = 0,05$)	Wartość p w teście McNemara (dwustronny, $\alpha = 0,05$)	1,00	0,09

Błąd całego systemu

Częstotliwość błędu całego systemu dla testu cobas® HEV określono badając 100 powtórzeń osocza EDTA z dodanym wirusem HEV. Probki oznaczono przy stężeniach docelowych wynoszących w przybliżeniu trzykrotność wartości LoD, a oznaczenia wykonywano w pulach po 1 (nierozcieńczonych). Badanie zostało przeprowadzone z wykorzystaniem systemu cobas® 8800 wraz z aparatem cobas® p 680 (pipetowanie i pulowanie).

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

Dodatkowe informacje

Najważniejsze cechy testu

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

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

Oznaczenia

Na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR stosuje się następujące oznaczenia.

Tabela 23 Oznaczenia stosowane na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR

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

Pomoc techniczna

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

Wytwórca i importer

Tabela 24 Wytwórca i importer



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

Wyprodukowano w Stanach Zjednoczonych



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Znaki towarowe i patenty

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

Prawo autorskie

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Piśmiennictwo

1. Kamar N, Bendall R, Legrand-Abravanel F, et al. Hepatitis E. *Lancet*. 2012;379:2477-88.
2. Ahmad I, Holla RP, Jameel S. Molecular virology of hepatitis E virus. *Virus Res*. 2011;161:47-58.
3. Meng XJ, Purcell RH, Halbur PG, et al. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:9860-5.
4. Yugo DM, Meng XJ. Hepatitis E virus: foodborne, waterborne and zoonotic transmission. *Int J Environ Res Public Health*. 2013;10:4507-33.
5. Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, et al. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. *Intervirology*. 1983;20:23-31.
6. Dalton HR, Bendall R, Ijaz S, Banks M. Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *Lancet Infect Dis*. 2008;8:698-709.
7. Meng XJ. Hepatitis E as a zoonotic disease in the United States. Oral presentation at: National Institutes of Health Research Workshop: Hepatitis E in the United States; 7-8 March 2012; Bethesda, Maryland.
8. Mansuy JM, Peron JM, Abravanel F, et al. Hepatitis E in the south west of France in individuals who have never visited an endemic area. *J Med Virol*. 2004;74:419-24.
9. Dalton HR, Stableforth W, Thuraiajah P, et al. Autochthonous hepatitis E in Southwest England: natural history, complications and seasonal variation, and hepatitis E virus IgG seroprevalence in blood donors, the elderly and patients with chronic liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2008;20:784-90.
10. Wichmann O, Schimanski S, Koch J, et al. Phylogenetic and case-control study on hepatitis E virus infection in Germany. *J Infect Dis*. 2008;198:1732-41.
11. Dalton HR, Fellows HJ, Gane EJ, et al. Hepatitis E in New Zealand. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007;22:1236-40.
12. Tsang TH, Denison EK, Williams HV, et al. Acute hepatitis E infection acquired in California. *Clin Infect Dis*. 2000;30:618-9.
13. Teo CG. Much meat, much malady: changing perceptions of the epidemiology of hepatitis E. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16:24-32.
14. Colson P, Borentain P, Queyriaux B, et al. Pig liver sausage as a source of hepatitis E virus transmission to humans. *J Infect Dis*. 2010;202:825-34.
15. Matsuda H, Okada K, Takahashi K, Mishiro S. Severe hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from a wild boar. *J Infect Dis*. 2003;188:944.
16. Tei S, Kitajima N, Takahashi K, Mishiro S. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet*. 2003;362:371-3.
17. Gotanda Y, Iwata A, Ohnuma H, et al. Ongoing subclinical infection of hepatitis E virus among blood donors with an elevated alanine aminotransferase level in Japan. *J Med Virol*. 2007;79:734-42.
18. Mitsui T, Tsukamoto Y, Suzuki S, et al. Serological and molecular studies on subclinical hepatitis E virus infection using periodic serum samples obtained from healthy individuals. *J Med Virol*. 2005;76:526-33.
19. Nelson KE, Kmush B, Labrique AB. The epidemiology of hepatitis E virus infections in developed countries and among immunocompromised patients. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2011;9:1133-48.

20. Navaneethan U, Al Mohajer M, Shata MT. Hepatitis E and pregnancy: understanding the pathogenesis. *Liver Int.* 2008;28:1190-9.
21. Jilani N, Das BC, Husain SA, et al. Hepatitis E virus infection and fulminant hepatic failure during pregnancy. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007;22:676-82.
22. Peron JM, Bureau C, Poirson H, et al. Fulminant liver failure from acute autochthonous hepatitis E in France: description of seven patients with acute hepatitis E and encephalopathy. *J Viral Hepat.* 2007;14:298-303.
23. Ramachandran J, Eapen CE, Kang G, et al. Hepatitis E superinfection produces severe decompensation in patients with chronic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2004;19:134-8.
24. Rein DB, Stevens GA, Theaker J, Wittenborn JS, Wiersma ST. The global burden of hepatitis E virus genotypes 1 and 2 in 2005. *Hepatology.* 2012;55:988-97.
25. Dalton HR, Bendall RP, Rashid M, et al. Host risk factors and autochthonous hepatitis E infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2011;23:1200-5.
26. Dalton HR, Hazeldine S, Banks M, Ijaz S, Bendall R. Locally acquired hepatitis E in chronic liver disease. *Lancet.* 2007;369:1260.
27. Kamar N, Selves J, Mansuy JM, et al. Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *N Engl J Med.* 2008;358:811-7.
28. Gerolami R, Moal V, Colson P. Chronic hepatitis E with cirrhosis in a kidney-transplant recipient. *N Engl J Med.* 2008;358:859-60.
29. Haagsma EB, van den Berg AP, Porte RJ, et al. Chronic hepatitis E virus infection in liver transplant recipients. *Liver Transpl.* 2008;14:547-53.
30. Kamar N, Garrouste C, Haagsma EB, et al. Factors associated with chronic hepatitis in patients with hepatitis E virus infection who have received solid organ transplants. *Gastroenterology.* 2011;140:1481-9.
31. Colson P, Kaba M, Moreau J, Brouqui P. Hepatitis E in an HIV-infected patient. *J Clin Virol.* 2009;45:269-71.
32. Peron JM, Mansuy JM, Recher C, et al. Prolonged hepatitis E in an immunocompromised patient. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006;21:1223-4.
33. Tamura A, Shimizu YK, Tanaka T, et al. Persistent infection of hepatitis E virus transmitted by blood transfusion in a patient with T-cell lymphoma. *Hepatol Res.* 2007;37:113-20.
34. Matsubayashi K, Nagaoka Y, Sakata H, et al. Transfusion-transmitted hepatitis E caused by apparently indigenous hepatitis E virus strain in Hokkaido, Japan. *Transfusion.* 2004;44:934-40.
35. Mitsui T, Tsukamoto Y, Yamazaki C, et al. Prevalence of hepatitis E virus infection among hemodialysis patients in Japan: evidence for infection with a genotype 3 HEV by blood transfusion. *J Med Virol.* 2004;74:563-72.
36. Boxall E, Herborn A, Kochethu G, et al. Transfusion-transmitted hepatitis E in a 'nonhyperendemic' country. *Transfus Med.* 2006;16:79-83.
37. Colson P, Coze C, Gallian P, et al. Transfusion-associated hepatitis E, France. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:648-9.
38. Khuroo MS, Kamili S, Yattoo GN. Hepatitis E virus infection may be transmitted through blood transfusions in an endemic area. *J Gastroenterol Hepatol.* 2004;19:778-84.
39. Zaaijer HL, Kok M, Lelie PN, et al. Hepatitis E in the Netherlands: imported and endemic. *Lancet.* 1993;341:826.

40. Christensen PB, Engle RE, Hjort C, et al. Time trend of the prevalence of hepatitis E antibodies among farmers and blood donors: a potential zoonosis in Denmark. *Clin Infect Dis*. 2008;47:1026-31.
41. Boutrouille A, Bakkali-Kassimi L, Cruciere C, Pavio N. Prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in French blood donors. *J Clin Microbiol*. 2007;45:2009-10.
42. Kaufmann A, Kenfak-Foguena A, Andre C, et al. Hepatitis E virus seroprevalence among blood donors in southwest Switzerland. *PLoS One*. 2011;6:e21150.
43. Vollmer T, Diekmann J, Johne R, et al. Novel approach for detection of hepatitis E virus infection in German blood donors. *J Clin Microbiol*. 2012;50:2708-13.
44. Takeda H, Matsubayashi K, Sakata H, et al. A nationwide survey for prevalence of hepatitis E virus antibody in qualified blood donors in Japan. *Vox Sang*. 2010;99:307-13.
45. Beale MA, Tettmar K, Szypulska R, Tedder RS, Ijaz S. Is there evidence of recent hepatitis E virus infection in English and North Welsh blood donors? *Vox Sang*. 2011;100:340-2.
46. Ijaz S, Szypulska R, Tettmar KI, Kitchen A, Tedder RS. Detection of hepatitis E virus RNA in plasma mini-pools from blood donors in England. *Vox Sang*. 2012;102:272.
47. Guo QS, Yan Q, Xiong JH, et al. Prevalence of hepatitis E virus in Chinese blood donors. *J Clin Microbiol*. 2010;48:317-8.
48. Baylis SA, Hanschmann KM, Blumel J, Nubling CM, HEV Collaborative Study Group. Standardization of hepatitis E virus (HEV) nucleic acid amplification technique-based assays: an initial study to evaluate a panel of HEV strains and investigate laboratory performance. *J Clin Microbiol*. 2011;49:1234-9.
49. 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.
50. 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.
51. 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.
52. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7.
53. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
54. 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.
55. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*. 4th ed. M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2014.

Wersja dokumentu

Informacje dotyczące wersji dokumentu	
Doc Rev. 2.0 09/2023	Dodanie aparatu cobas® 5800 w całym tekście. Zaktualizowano rozdział Zasady procedury. Dodano rozdział Wymagania dotyczące użytkowania systemu cobas® 5800. Dodano rozdział Materiały dodatkowe wymagane dla systemu cobas® 5800. Zaktualizowano rozdział Wymagane urządzenia i oprogramowanie. Zaktualizowano rozdział Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania. Zaktualizowano rozdział Instrukcja obsługi. Zaktualizowano rozdział Wyniki i dodano rozdział Równoważność/porównanie systemu. Zaktualizowano zapis marki cobas®. W razie jakichkolwiek pytań prosimy o kontakt z lokalnym przedstawicielem Roche.
Doc Rev. 3.0 08/2024	Zaktualizowano zapis marki cobas®. W tabeli 6 skorygowano stabilność na pokładzie aparatu z 10 godzin na 36 dni w przypadku zestawów cobas® HEV Control Kit oraz cobas® NHP Negative Control Kit. Zaktualizowano stronę z ujednoliconymi symbolami. W razie jakichkolwiek pytań prosimy o kontakt z lokalnym przedstawicielem Roche.

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