

cobas[®] HEV

Pro použití k *in vitro* diagnostice



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

Obsah

Účel použití.....	4
Souhrn a výklad testu.....	4
Reagencie a materiály	7
Reagencie a kontroly cobas® HEV	7
Reagencie cobas® omni pro přípravu vzorků	10
Požadavky na uchovávání reagentů a manipulaci s nimi	11
Požadavky na manipulaci s reagenty pro systém cobas® 5800	11
Požadavky na manipulaci s reagenty pro systémy cobas® 6800/8800	12
Další materiály potřebné pro systém cobas® 5800	12
Další materiály potřebné pro systémy cobas® 6800/8800	13
Požadované přístroje a software.....	13
Bezpečnostní opatření a požadavky na manipulaci.....	14
Varování a bezpečnostní opatření.....	14
Manipulace s reagenty.....	14
Správná laboratorní praxe.....	15
Odběr, přeprava, uchovávání a poolování vzorků.....	15
Vzorky žijících dárců	15
Návod k použití.....	19
Automatické pipetování a poolování vzorků (volitelné)	19
Procesní poznámky.....	19
Provedení testu cobas® HEV v systému cobas® 5800	20
Provedení testu cobas® HEV v systémech cobas® 6800/8800	21
Výsledky	22
Kontrola kvality a platnost výsledků v systému cobas® 5800	22
Výsledky kontrol v systému cobas® 5800	22
Kontrola kvality a platnost výsledků v systémech cobas® 6800/8800	22
Značky kontrol pro použití v systémech cobas® 6800/8800	23
Vyhodnocení výsledků	23

Další informace pro interpretaci výsledků v systému cobas® 5800.....	23
Opakované testování individuálních vzorků	24
Procesní omezení	24
Ekvivalence systému/porovnání systémů	24
Neklinické hodnocení výkonnosti prováděné na systémech cobas® 6800/8800	25
Klíčové charakteristiky výkonu testu – vzorky žijících dárců	25
Mez detekce (<i>Limit of Detection</i> , LoD)	25
Reprodukovatelnost	26
Verifikace genotypů.....	27
Analytická specifita.....	28
Analytická specifita – interferenční látky	29
Korelace.....	30
Selhání celého systému.....	30
Doplňující informace	31
Hlavní parametry testu	31
Symboly	32
Technická podpora	33
Výrobce a dovozce	33
Ochranné známky a patenty	33
Autorská práva.....	33
Literatura	34
Revize dokumentu.....	37

Účel použití

Test cobas® HEV pro použití na systémech cobas® 5800/6800/8800 je kvalitativní *in vitro* amplifikační test nukleových kyselin k přímé detekci RNA viru hepatitidy E (HEV) (genotypy 1–4) v lidské plazmě.

Tento test je určen pro skrínigové testy dárců na RNA HEV ve vzorcích plazmy od jednotlivých dárců, včetně dárců plné krve a složek krve (červených krvinek, destiček a plazmy), a také od ostatních žijících dárců. Plazma od všech dárců může být otestována jako jednotlivé vzorky. U dárcovských odběrů plné krve a složek krve, mohou být vzorky plazmy testovány jednotlivě nebo může být plazma testována i v poolech složených z alikvotů jednotlivých vzorků.

Tento test není určen pro použití na vzorcích krve z pupečníku.

Tento test není určen pro použití jako pomůcka pro stanovení diagnózy infekce virem HEV.

Souhrn a výklad testu

Základní informace: skrínig krve pro virové infekce přenášené transfúzí

Virus hepatitidy E (HEV), malý neobalený RNA virus patřící do rodu *Hepevirus* (čeleď *Hepeviridae*), je lidský patogen rozšířený po celém světě.¹ Virus je ikosahedrická částice obsahující genom o velikosti 7,2 kb tvořený jednořetězcovou pozitivní RNA.² U lidí a zvířat, včetně domácích prasat, divokých prasat, srnčí zvěře a hlodavců byly identifikovány čtyři hlavní genotypy HEV představující jeden sérotyp.^{1, 3, 4}

Molekulární charakterizace různých kmenů HEV cirkulujících mezi lidmi a zvířaty vedla ke zjištění čtyř hlavních genotypů.¹ Genotyp 1, který se vyskytuje hlavně v Asii, a genotyp 2, který se vyskytuje v Africe a Mexiku, je omezen na lidi a přenáší se kontaminovanou vodou v rozvojových zemích.^{1, 5} Genotypy 3 a 4 infikují lidi, prasata a jiné druhy savců a vyvolávají sporadické případy autochtonní HEV jak v rozvojových, tak i v rozvinutých zemích.⁶ Genotyp 3 je jediný genotyp v současné době identifikovaný jako příčina autochtonních infekcí v USA⁷ a je příčinou naprosté většiny infekcí v Evropě, na Novém Zélandu a v Severní Americe.^{1, 8–12} Genotypy 3 a 4 se vyskytují v Japonsku.¹ HEV genotypy 1, 3 a 4 jsou endemické v Číně.¹ Akutní hepatitida E je běžnější než hepatitida A v Číně, Francii, Spojeném Království a Japonsku.¹

HEV se přenáší hlavně fekálně-orální cestou prostřednictvím kontaminované vody,¹ ačkoli byly hlášeny případy přenosu konzumací nedovařeného nebo syrového vepřového masa, vnitřností nebo korýšů, a také zoonotický přenos kontaktem s infikovanými prasaty a domácími nebo divoce žijícími zvířaty.^{7, 13–16} Úplný rozsah rezervoárů HEV není znám.¹

Infekce HEV je obvykle mírná nebo subklinická se spontánním zotavením a trvá 4 až 6 týdnů.^{1, 8–11, 17, 18} Příznaky jsou velmi podobné příznakům jiných forem virových hepatitid, zejména hepatitidy A, včetně únavy, žloutenky, horečky, malátnosti, nevolnosti, zvracení, anorexie a bolesti břicha.¹ Pacienti mají obvykle zvýšenou hladinu transaminázy (~1500 IU/l) a u mnohých je přítomna žloutenka.¹ Infekce HEV mohou být příležitostně závažnější a vést k fulminantnímu selhání jater, zvláště u těhotných žen, kde mortalita může dosáhnout 10 % až 25 %, kojenců a dětí do 2 let věku, jedinců se základním onemocněním jater (např. cirhózou) a osob s oslabeným imunitním systémem.^{1, 19–23} Infekce HEV způsobí každoročně na celém světě více než 3 miliony symptomatických případů, které vedou přibližně k 70 000 úmrtí ročně.²⁴ Celková mortalita je v rozmezí od 0,2 % do 4,0 %.¹ Většina úmrtí způsobených infekcí genotypem 3 (HEV3) nastává v důsledku akutního nebo subakutního selhání jater u pacientů s existujícím onemocněním jater, jako je onemocnění jater související s alkoholem.^{1, 22, 25, 26}

HEV3 způsobuje chronickou infekci, mj. u až 60 % infikovaných jedinců s oslabeným imunitním systémem, z nichž se u 10 % rozvine cirhóza.¹ Chronická infekce je definována jako přetrvávání HEV RNA v séru nebo stolici po dobu 6 měsíců a déle.¹ Většina případů se vyskytuje u příjemců transplantace celých orgánů, ačkoli byly hlášeny infekce u jedinců

s hematologickými poruchami, kteří dostávají transfuze a chemoterapii, a u několika osob s HIV.²⁷⁻³³ Chronické infekce nebyly hlášeny u HEV1 ani HEV2.¹

Infekce HEV byla také uváděna v souvislosti s neurologickými syndromy, jako je Guillainův–Barrého syndrom, Bellova obrna, akutní transversální myelitida, akutní meningoencefalitida, ataxie a encefalitida; neurologické symptomy obvykle pominou u pacientů, kteří vyloučí virus z organismu.¹ Membranoproliferativní a membránová glomerulonefritida, akutní pankreatitida, a těžká trombocytopenie byly hlášeny v průběhu akutní infekce HEV ačkoli případné patofyziologické mechanismy ani příčinná souvislost nebyly zjištěny.¹ Léčba ribavirinem se ukázala jako účinná při akutní infekci HEV3 a příjemci transplantátů s chronickou infekcí HEV jsou obvykle léčeni snížením imunosuprese (zvláště léků, které cílí na T-buňky), interferonem α a ribavirinem.¹

Důvod pro testování nukleových kyselin

HEV se může přenášet, stejně jako jiné hepatitidy, transfuzí krve nebo krevních produktů. Potransfuzní hepatitida E byla hlášena v mnoha zemích.^{1, 33-38} Hlášený výskyt seropozitivity pro HEV u dárců krve ve světě se pohybuje mezi 0,4 % a 20,6 %.³⁹⁻⁴⁷ Výskyt asymptomatických infekcí HEV ve světě je vysoký; v důsledku prevalence viru může docházet k infekci mnohých dárců a k přenosu viru na příjemce produktů z jejich krve. Nedávná studie britských dárců krve ukázala, že 11 % vzorků séra dárců bylo reaktivních na HEV IgG, což naznačuje infekci v minulosti, a 0,7 % vzorků séra dárců bylo reaktivních na IgM, což naznačuje akutní infekci.⁴⁵ Navíc 0,7 % minipoolů vzorků plazmy anglických dárců obsahovalo HEV RNA.⁴⁶ Studie čínských dárců krve dospěla k podobným výsledkům: 32,6 % vzorků séra dárců bylo reaktivních na IgG; 0,94 % vzorků séra dárců bylo reaktivních na IgM a 0,07 % vzorků vykazovalo virémii HEV.⁴⁷ Po celosvětovém průzkumu směsí plazmy pro frakcionaci bylo oznámeno, že 10 % testovaných poolů bylo pozitivních na HEV-RNA.^{47, 48}

Princip testu

Test **cobas® HEV** je kvalitativní test PCR pro detekci HEV RNA, který se provádí na systémech **cobas® 5800/6800/8800**. Test **cobas® HEV** umožňuje současnou detekci RNA HEV s vnitřní kontrolou v jediném testu jednotlivého infikovaného dárcovského odběru nebo poolované plazmy z jednotlivých dárcovských odběrů.

Principy postupu

Test **cobas® HEV** je založen na principu technologie PCR v reálném čase a plně automatizovaném systému přípravy vzorků (extrakce a purifikace nukleové kyseliny), po které následuje PCR amplifikace a systém detekce. Systém **cobas® 5800** se skládá z jediného integrovaného přístroje. Systém **cobas® 6800/8800** se skládá z modulu pro dodávání vzorků, přenosového modulu, procesního modulu a analytického modulu. Software systému **cobas® 5800** nebo **6800/8800** provádí automatické zpracování dat, při kterém přiřazuje všem testům výsledky nereaktivní, reaktivní nebo neplatné. Při použití systému **cobas® 5800** se k prohlížení výsledků a tisku zpráv doporučuje software **cobas® Synergy**, který je nutný pro odesílání výsledků do systému Laboratory Information Management System (LIMS) nebo jiného systému pro zpracování výsledků. Při použití systémů **cobas® 6800/8800** lze výsledky prohlížet přímo na obrazovce systému a vytisknout jako zprávu nebo zaslat do Laboratorního systému pro zpracování výsledků (LIMS) nebo jiného systému pro zpracování výsledků.

Vzorky lze testovat individuálně, nebo testovat pooly vzorků, které se skládají z více vzorků.

Při testování na systémech **cobas® 5800** je nutné použít software **cobas® Synergy**, i když není prováděno poolování. Pokud se provádí analýza poolovaných vzorků v preanalytickém kroku, lze použít software **cobas® Synergy** s pipetorem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD.

V případě analýzy na systémech **cobas**® 6800/8800, lze v preanalytickém kroku volitelně použít zařízení **cobas**® p 680 nebo software **cobas**® **Synergy** s pipetorem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD.

Nukleové kyseliny ze vzorku a přidané molekuly Armored RNA vnitřní kontroly (IC) (které slouží jako procesní kontrola přípravy vzorku a amplifikace/detekce) jsou zpracovány zároveň. Test navíc využívá 2 kontroly ze soupravy: pozitivní a negativní kontrolu. K uvolnění virových nukleových kyselin dochází přidáním proteinázy a lyzační reagentie ke vzorku. Uvolněné nukleové kyseliny se váží na křemičitanový povrch přidaných magnetických partikulí. Nenavázané látky a nečistoty, jako například denaturované proteiny, buněčný odpad a případné inhibitory PCR (jako například hemoglobin) jsou odstraněny během následujících kroků promývací roztoky; purifikované nukleové kyseliny jsou eluovány ze skleněných partikulí elučním puřem při zvýšené teplotě.

K selektivní amplifikaci cílových nukleových kyselin ze vzorku dárce dochází pomocí dopředných a zpětných primerů specifických pro virové sekvence vybrané z vysoce konzervovaných oblastí virové nukleové kyseliny. Teplotně stabilní enzym DNA polymeráza se používá jak pro reverzní transkripci, tak pro amplifikaci. Hlavní reagenční mix obsahuje deoxyuridintrifosfát (dUTP) namísto deoxythimidintrifosfátu (dTTP), který je zabudováván do nově syntetizované DNA (amplikonu).⁴⁹⁻⁵¹ Jakékoli kontaminující amplikony z předcházejících běhů PCR jsou eliminovány enzymem AmpErase [uracil-N-glykosyláza] přítomným v Master Mixu PCR během prvního kroku teplotního cyklu. Nově vytvořené amplikony však zničeny nejsou, protože enzym AmpErase je inaktivován po vystavení teplotám nad 55 °C.

Reagentie Master Mix **cobas**® HEV obsahuje detekční sondy specifické pro nukleové kyseliny HEV a IC. Specifické detekční sondy pro HEV a IC jsou označeny – každá jedním ze dvou jedinečných fluorescenčních barviv, která mají oznamovací funkci. Každá sonda obsahuje též druhé barvivo, které má tlumící funkci. Fluorescenční barvy jsou měřena při definovaných vlnových délkách, což umožňuje současnou detekci a rozlišování mezi amplifikovanou cílovou sekvencí HEV a IC.^{52, 53} Fluorescenční signál intaktní sondy je potlačen žhášečem. Během kroku PCR amplifikace dochází kvůli hybridizaci sond se specifickým templátem jednořetězcové DNA k štěpení sondy 5'–3' exonukleázovou aktivitou DNA polymerázy, která způsobí oddělení fluorescenční barvy a žhášeče a vznik fluorescenčního signálu. U každého PCR cyklu jsou generovány zvýšená množství rozštěpených sond a kumulativní signál fluorescenčního barviva se postupně zvyšuje. Protože jsou dvě specifická fluorescenční barvy měřena při definovaných vlnových délkách, je možná současná detekce a rozlišování mezi amplifikovanou cílovou sekvencí HEV a IC.

Reagencie a materiály

Reagencie a kontroly cobas® HEV

Všechna neotevřená reagencie a kontroly mají být uchovávány v souladu s doporučeními v Tab. 1 až Tab. 4.

Tab. 1 Test cobas® HEV

(HEV)

Uchovávat při 2–8 °C

Kazeta pro 192 testů (P/N 09040986190)

Součásti soupravy	Složky reagentů	Množství v soupravě 192 testů
Roztok proteinázy (PASE)	Tris pufr, < 0,05 % EDTA, chlorid vápenatý, octan vápenatý, 8 % (w/v) proteináza, glycerol EUH210: Na vyžádání je k dispozici bezpečnostní list. EUH208: obsahuje subtilisin z <i>Bacillus subtilis</i> . Může vyvolat alergickou reakci.	22,3 ml
Vnitřní kontrola (IC)	Tris pufr, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % konstrukt Armored RNA pro vnitřní kontrolu (neinfekční RNA enkapsulovaná v bakteriofágu MS2), < 0,002 % Poly rA RNA (syntetická), < 0,1 % azid sodný	21,2 ml
Eluční pufr (EB)	Tris pufr, 0,2 % methyl-4-hydroxybenzoát	21,2 ml
Reagencie Master Mix 1 (MMX-R1)	Octan hořečnatý, hydroxid draselný, < 0,1 % azid sodný	7,5 ml
Reagencie HEV Master Mix 2 (HEV MMX-R2)	Tricinový pufr, octan draselný, glycerin, 18 % dimethylsulfoxid, Tween 20, EDTA, < 0,06 % dATP, dGTP, dCTP, < 0,14 % dUTP, < 0,01 % forward a reverse primery HEV a vnitřní kontroly, < 0,01 % fluorescenčně značené sondy specifické pro HEV, < 0,01 % fluorescenčně značené sondy pro vnitřní kontrolu, < 0,01 % oligonukleotidový aptamer, < 0,01 % Z05D DNA polymeráza, < 0,01 % enzym AmpErase (uracil-N-glykosyláza) (mikrobiální), < 0,1 % azid sodný	9,7 ml

Tab. 2 Kontrolní souprava **cobas® HEV Control Kit (HEV (+) C)**

Uchovávat při 2–8 °C
(P/N 09040889190)

Součásti soupravy	Složky reagensů	Množství v soupravě	Bezpečnostní symboly a varování*
Pozitivní kontrola HEV (HEV (+) C)	< 0,001 % syntetické (armored) RNA HEV enkapsulované v obalovém proteinu fágu MS2, normální lidská plazma, RNA HEV nedetekovatelná metodami PCR 0,1 % konzervant ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	  VAROVÁNÍ H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci. H412: Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P261: Zamezte vdechování mlhy nebo par. P273: Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P280: Používejte ochranné rukavice. P333 + P313: Při podráždění kůže nebo vyrážce: vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P362 + P364: Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte. P501: Odstraňte obsah/obal předáním zařízení schválenému pro likvidaci odpadů. 55965-84-9 Reakční směs 5-chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-onu a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu (3:1).

* Bezpečnostní označení produktů vychází primárně z pokynů GHS EU.

** Nebezpečná látka.

Tab. 3 Souprava negativní kontroly **cobas®** NHP Negative Control Kit
(NHP-NC)

Uchovávat při 2–8 °C

(P/N 09051554190)

Součásti soupravy	Složky reagensů	Množství v soupravě	Bezpečnostní symboly a varování*
Negativní kontrola normální lidské plazmy (NHP-NC)	Normální lidská plazma, RNA HEV nedetekovatelná metodami PCR < 0,1% konzervant ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	  VAROVÁNÍ H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci. P261: Zamezte vdechování mlhy nebo par. P272: Kontaminovaný pracovní oděv neodnášejte z pracoviště. P280: Používejte ochranné rukavice. P333 + P313: Při podráždění kůže nebo vyrážce: vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. P362 + P364: Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte. P501: Odstraňte obsah/obal předáním zařízení schválenému pro likvidaci odpadů. 55965-84-9 Reakční směs 5-chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-onu a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu (3:1).

* Bezpečnostní označení produktů vychází primárně z pokynů GHS EU.

** Nebezpečná látka.

Reagencie cobas® omni pro přípravu vzorků

Tab. 4 Reagencie cobas® omni pro přípravu vzorků*

Reagencie	Složky reagentů	Množství v soupravě	Bezpečnostní symboly a varování**
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Uchovávat při 2–8 °C (P/N 06997546190)	Magnetické částice, Tris pufr, 0,1 % methyl-4-hydroxybenzoát, < 0,1 % azid sodný	480 testů	Nevztahuje se
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Uchovávat při 2–8 °C (P/N 06997511190)	Tris pufr, 0,1 % methyl-4-hydroxybenzoát, < 0,1 % azid sodný	4 × 875 ml	Nevztahuje se
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Uchovávat při 2–8 °C (P/N 06997538190)	42,56 % (w/w) guanidinthiokyanát***, 5 % (w/v) polidokanol***, 2 % (w/v) dithiothreitol, dihydrát citrátu sodného	4 × 875 ml	 NEBEZPEČÍ H302: Zdraví škodlivý při požití. H314: Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. H411: Toxický pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. EUH032: Uvolňuje vysoce toxický plyn při styku s kyselinami. EUH071: Způsobuje poleptání dýchacích cest. P273: Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P280: Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ ochranné brýle/obličejový štít/chrániče sluchu. P303 + P361 + P353: PŘI STYKU S KÚŽÍ (nebo s vlasy): veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou. P304 + P340 + P310: PŘI VDECHNUTÍ: přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře. P305 + P351 + P338 + P310: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře. P391: Uniklý produkt seberte. 593-84-0 Guanidin thiokyanát 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutan-2,3-diol
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Uchovávat při 15–30 °C (P/N 06997503190)	Dihydrát citrátu sodného, 0,1 % methyl-4-hydroxybenzoát	4,2 l	Nevztahuje se

* Testovací souprava cobas® HEV neobsahuje tyto reagenty. Viz seznam dalších požadovaných materiálů (Tab. 8 a Tab. 9).

** Bezpečnostní označení produktů vychází primárně z pokynů GHS EU.

*** Nebezpečná látka.

Požadavky na uchovávání reagensů a manipulaci s nimi

Podmínky uchovávání reagensů a manipulace s nimi uvádí Tab. 5, Tab. 6 a Tab. 7.

Pokud nejsou reagensy vloženy v systémech cobas® 5800/6800/8800, uchovávejte je při odpovídající teplotě, kterou uvádí Tab. 5.

Tab. 5 Uchovávání reagensů (když nejsou vložena v systému)

Reagensie	Teplota uchovávání
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

Požadavky na manipulaci s reagensy pro systém cobas® 5800

Reagensy vložené do systému cobas® 5800 jsou uloženy při příslušných teplotách a systém monitoruje jejich dobu použitelnosti. Systém umožní používání reagensů, pouze pokud jsou splněny podmínky, které uvádí Tab. 6. Systém automaticky znemožňuje použití exspirovaných reagensů. Tab. 6 vysvětluje uživatelům podmínky manipulace s reagensy, platné v systému cobas® 5800.

Tab. 6 Podmínky doby expirace reagensů v systému cobas® 5800

Reagensie	Doba použitelnosti soupravy	Stabilita otevřené soupravy	Počet běhů, pro který může být tato souprava použita	Stabilita na palubě (celková doba na palubě mimo chlazené úložiště)
cobas® HEV – 192	Doba zatím neuplynula	90 dnů od prvního použití	Maximálně 40 běhů	Maximálně 36 dní
cobas® HEV Control Kit	Doba zatím neuplynula	Nevztahuje se*	Nevztahuje se	Maximálně 36 dní
cobas® NHP Negative Control Kit	Doba zatím neuplynula	Nevztahuje se*	Nevztahuje se	Maximálně 36 dní
cobas® omni Lysis Reagent	Doba zatím neuplynula	30 dnů od vložení**	Nevztahuje se	Nevztahuje se
cobas® omni MGP Reagent	Doba zatím neuplynula	30 dnů od vložení**	Nevztahuje se	Nevztahuje se
cobas® omni Specimen Diluent	Doba zatím neuplynula	30 dnů od vložení**	Nevztahuje se	Nevztahuje se
cobas® omni Wash Reagent	Doba zatím neuplynula	30 dnů od vložení**	Nevztahuje se	Nevztahuje se

* Reagensie na jedno použití.

** Čas se měří od doby, kdy byla reagensie poprvé vložena do systému cobas® 5800.

Požadavky na manipulaci s reagensii pro systémy cobas® 6800/8800

Reagencie vložené do systémů cobas® 6800/8800 jsou uloženy při příslušných teplotách a systém monitoruje jejich dobu použitelnosti. Systém umožní používání reagensií, pouze pokud jsou splněny podmínky, které uvádí Tab. 7. Systém automaticky znemožňuje použití exspirovaných reagensií. Tab. 7 vysvětluje uživatelům podmínky manipulace s reagensii, platné v systémech cobas® 6800/8800.

Tab. 7 Podmínky dodržování doby použitelnosti reagensií v systémech cobas® 6800/8800

Reagencie	Doba použitelnosti soupravy	Stabilita otevřené soupravy	Počet běhů, pro který může být tato souprava použita	Stabilita na palubě (celková doba na palubě mimo chlazené úložiště)
cobas® HEV – 192	Doba zatím neuplynula	90 dnů od prvního použití	Maximálně 40 běhů	Maximálně 40 hodin
cobas® HEV Control Kit	Doba zatím neuplynula	Nevztahuje se*	Nevztahuje se	Maximálně 10 hodin
cobas® NHP Negative Control Kit	Doba zatím neuplynula	Nevztahuje se*	Nevztahuje se	Maximálně 10 hodin
cobas® omni Lysis Reagent	Doba zatím neuplynula	30 dnů od vložení**	Nevztahuje se	Nevztahuje se
cobas® omni MGP Reagent	Doba zatím neuplynula	30 dnů od vložení**	Nevztahuje se	Nevztahuje se
cobas® omni Specimen Diluent	Doba zatím neuplynula	30 dnů od vložení**	Nevztahuje se	Nevztahuje se
cobas® omni Wash Reagent	Doba zatím neuplynula	30 dnů od vložení**	Nevztahuje se	Nevztahuje se

* Reagencie na jedno použití.

** Čas se měří od doby, kdy byla reagencie poprvé vložena do systémů cobas® 6800/8800.

Další materiály potřebné pro systém cobas® 5800

Tab. 8 Materiály a spotřební materiál pro použití v systémech cobas® 5800

Materiál	P/N
cobas® omni Processing Plate 24	08413975001
cobas® omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas® omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Špičky s filtrem CORE, 1 ml	04639642001
Špičky s filtrem CORE, 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
Vak na pevný odpad nebo Vak na pevný odpad s vložkou	07435967001 nebo 08030073001

Další materiály potřebné pro systémy cobas® 6800/8800

Tab. 9 Materiály a spotřební materiál pro použití v systémech cobas® 6800/8800

Materiál	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
Vak na pevný odpad	07435967001
Nádoba na pevný odpad nebo Vak na pevný odpad s vložkou	07094361001 nebo 08030073001

Požadované přístroje a software

Na systém cobas® 5800 se nainstaluje analytický balíček cobas® HEV pro systém cobas® 5800. Se systémem bude dodán software x800 Data Manager pro systém cobas® 5800. Musí být nainstalován software cobas® Synergy.

Na přístroji (přístrojích) má být nainstalován software cobas® 6800/8800 a analytický balíček cobas® HEV. Se systémem je poskytnut server Instrument Gateway (IG). Je-li k dispozici, musí být nainstalován software cobas® Synergy.

Tab. 10 Přístroje

Systémy cobas® 6800/8800	P/N
Systém cobas® 6800 (pohyblivá platforma)	05524245001 a 06379672001
Systém cobas® 6800 (pevná platforma)	05524245001 a 06379664001
Systém cobas® 8800	05412722001
Modul pro dodávání vzorků pro systémy cobas® 6800/8800	06301037001
Elektronická licence pro software cobas® Synergy (pouze pro systém cobas® 5800)	09311246001
Možnosti pro pipetování a tvorbu poolů	P/N
Zařízení cobas® p 680	06570577001
Elektronická licence pro software cobas® Synergy (systémy cobas® 6800/8800) (volitelná)	09311238001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001
Hamilton MICROLAB® STAR/let IVD	04872649001

Další informace naleznete v Asistentu uživatele systému cobas® 5800 nebo v Asistentu uživatele systémů cobas® 6800/8800. Další informace o primárních a sekundárních vzorkových zkumavkách, které jsou kompatibilní s přístroji, najdete v Asistentu uživatele přístroje cobas® p 680 nebo v Asistentu uživatele softwaru cobas® Synergy.

Pozn.: kontaktujte místního zástupce společnosti Roche ohledně podrobných seznamů pro objednávky stojánek na vzorky, stojánek pro ucpané špičky a podnosů pro stojánky, které se vejdou do přístrojů.

Bezpečnostní opatření a požadavky na manipulaci

Varování a bezpečnostní opatření

Jak je tomu při každém testovacím postupu, je pro správnou výkonnost tohoto testu zásadním požadavkem dodržovat principy správné laboratorní praxe. Vzhledem k vysoké senzitivitě testu je třeba dbát opatrnosti, aby mezi reagensii a amplifikačními směsmi nedošlo ke kontaminaci.

- Pouze pro účely diagnostiky *in vitro*.
- Se všemi vzorky je nutno zacházet, jako by byly infekční, za použití správných laboratorních postupů, tak jak jsou popsány v publikaci Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories a v dokumentu CLSI číslo M29-A4.^{54, 55} Tento postup smí provádět pouze personál zkušený v zacházení s infekčními vzorky s použitím testu **cobas® HEV**, se systémy **cobas® 5800/6800/8800** a se zařízením **cobas® p 680** (pro systémy **cobas® 6800/8800**) nebo pipetorem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD se softwarem **cobas® Synergy**.
- Veškeré materiály pocházející z lidských zdrojů by měly být považovány za potenciálně infekční a musí se s nimi zacházet dle všeobecných bezpečnostních opatření. Pokud dojde k rozliti vzorku, ihned místo dezinfikujte čerstvě připraveným roztokem 0,6% chlornanu sodného v destilované nebo deionizované vodě nebo postupujte dle vlastních vhodných procedur laboratoře.
- Kontrolní sada pro test **cobas® HEV Control Kit** a negativní kontrolní sada pro test **cobas® NHP Negative Control Kit** obsahuje plazmu z lidské krve. Testování normální lidské plazmy metodami PCR také neprokázalo žádnou detekovatelnou RNA HEV. Nicméně žádná známá testovací metoda nepředstavuje dokonalou záruku, že se s deriváty z lidské krve nepřenesou nějaká infekční agens.
- Plnou krev nezmrazujte.
- Doporučuje se používat sterilní pipety na jedno použití a certifikované pipetovací špičky bez nukleáz. Pro zajištění optimální výkonnosti testu používejte pouze spotřební materiál, který je součástí dodávky, nebo specifikovaný požadovaný materiál.
- Pečlivě dodržujte uvedené postupy a předpisy, aby se zajistilo správné provedení testů. Jakákoliv odchylka od postupů a předpisů může negativně ovlivnit optimální výkonnost testu.
- Narušení rozhraní mezi buňkami a plazmou nebo rozptýlení materiálu po centrifugaci může vést k vyšším neplatným hodnotám.
- Pokud nebude během manipulace a zpracování vzorků patřičně kontrolována kontaminace přenosem, mohou vzniknout falešně pozitivní výsledky.
- Pokud během použití tohoto testu dojde k jakýmkoli závažným incidentům, informujte o tom místní příslušný úřad a výrobce.

Manipulace s reagensii

- Aby nedošlo u vzorků nebo kontrol ke kontaminaci přenosem, zacházejte se všemi reagensii, kontrolami a vzorky podle zásad správné laboratorní praxe.
- Před použitím vizuálně zkontrolujte každou reagenční kazetu, diluent, lyzační roztoky a promývací roztoky, zda nejeví žádné známky prosakování. Pokud známky prosakování vykazuje, nepoužívejte tento materiál k testování.
- Lyzační reagentie **cobas® omni Lysis Reagent** obsahuje potenciálně nebezpečnou látku guanidinthiokyanát. Vyhněte se kontaktu reagenčí s pokožkou, očima nebo sliznicemi. Pokud dojde ke kontaktu, okamžitě postiženou oblast omyjte velkým množstvím vody, jinak může dojít k popáleninám.

- Testovací soupravy **cobas® HEV**, reagencie **cobas® omni MGP Reagent** a diluent **cobas® omni Specimen Diluent** obsahují konzervační prostředek azid sodný. Vyhněte se kontaktu reagií s pokožkou, očima nebo sliznicemi. Pokud dojde ke kontaktu, okamžitě postiženou oblast omyjte velkým množstvím vody, jinak může dojít k popáleninám. Pokud se reagencie rozlije, zředte ji před vytřením dosucha vodou.
- Lyzační reagencie **cobas® omni Lysis Reagent**, jež obsahuje guanidinthiokyanát, se nesmí dostat do styku s roztokem chlornanu sodného (bělicím prostředkem). Tato směs vytváří vysoce toxický plyn.
- Bezpečnostní listy (SDS) zašle na vyžádání Váš místní zástupce společnosti Roche.
- Všechny materiál, který se dostal do kontaktu se vzorky a reagenciemi, zlikvidujte dle celostátních, respektive místních předpisů.

Správná laboratorní praxe

- Nepipetujte ústy.
- V pracovních laboratorních prostorách nejezte, nepijte a nekuřte.
- Při manipulaci se vzorky a reagenciemi používejte laboratorní rukavice, laboratorní pláště a ochranné brýle. Při přechodu od manipulace se vzorky k manipulaci se soupravami testu **cobas® HEV** a reagenciemi **cobas® omni** je nutno vyměnit rukavice, aby nedošlo ke kontaminaci. Zabraňte kontaminaci rukavic při manipulaci se vzorky a kontrolami.
- Po manipulaci se vzorky a reagenciemi soupravy si důkladně umyjte ruce, jakož i po svléknutí rukavic.
- Pokud dojde k rozlití kapaliny na zařízení **cobas® 5800**, řádně povrch přístroje vyčistěte a dekontaminujte podle pokynů v Asistentu uživatele zařízení **cobas® 5800**.
- Všechny pracovní plochy důkladně očistěte a vydezinfikujte čerstvě připraveným 0,6% roztokem chlornanu sodného v destilované nebo deionizované vodě. Dále povrch otřete 70 % etanolem.
- Pokud dojde k rozlití kapaliny na systémy **cobas® 6800/8800**, řádně povrch systémů vyčistěte a dekontaminujte podle pokynů v Asistentu uživatele systémů **cobas® 6800/8800**.

Odběr, přeprava, uchovávání a poolování vzorků

Pozn.: zacházejte se vzorky a kontrolami jako s potenciálně infekčním materiálem.

Všechny vzorky dárců uchovávejte při stanovených teplotách.

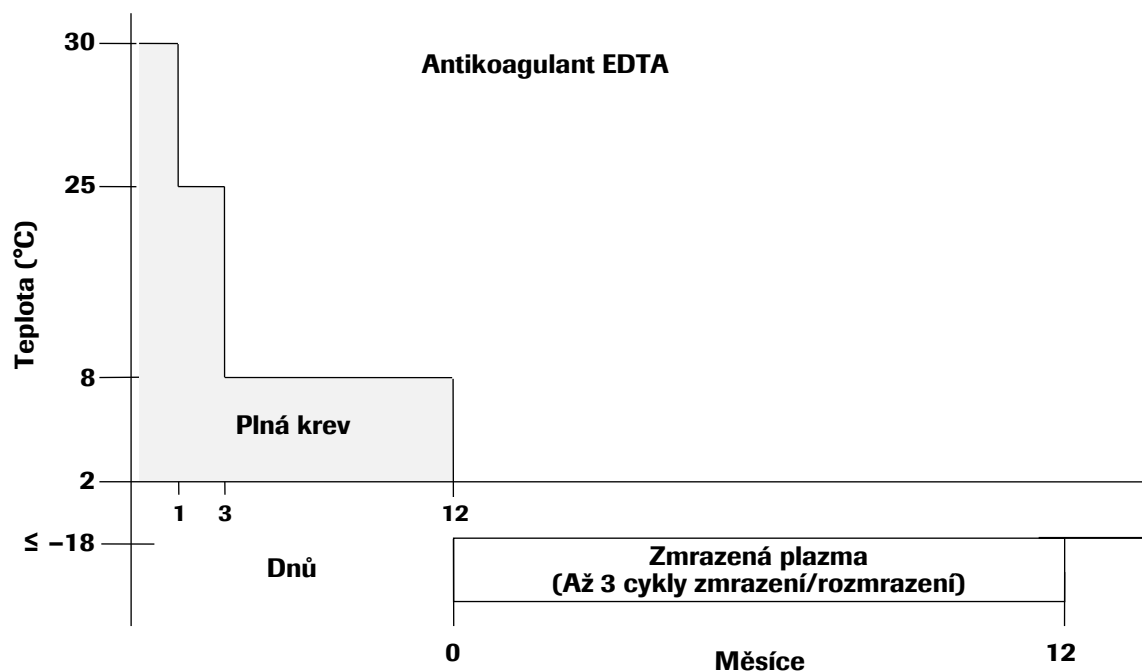
Zvýšené teploty ovlivňují stabilitu vzorků.

Vzorky žijících dárců

- Pro test **cobas® HEV** může být použita plazma s antikoagulanty EDTA, CPD, CPDA1, CP2D a 4% citrátem sodným. Postupujte dle pokynů výrobce zkumavky/vaku na odběr vzorků týkajících se manipulace a odstředování.
- Krev odebraná do zkumavek s antikoagulantem EDTA, zkumavek pro přípravu plazmy EDTA Plasma Preparation Tubes společnosti Becton-Dickinson (BD PPT™) nebo plazmových zkumavek se separačním gelem K2EDTA společnosti Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tubes může být před vkládáním, možným poolováním nebo opakovaným testováním navíc centrifugována rychlostí 600 × g po dobu 5 minut.
- Krev odebraná s antikoagulantem EDTA může být uchovávána až po dobu 12 dnů za následujících podmínek:
 - Vzorky je nutno odstředit do 72 hodin po odběru.
 - Při uchovávání vzorků při teplotě nad 8 °C lze vzorky uchovávat po dobu 72 hodin při teplotě do 25 °C a z těchto 72 hodin mohou být 24 hodin při teplotě do 30 °C.

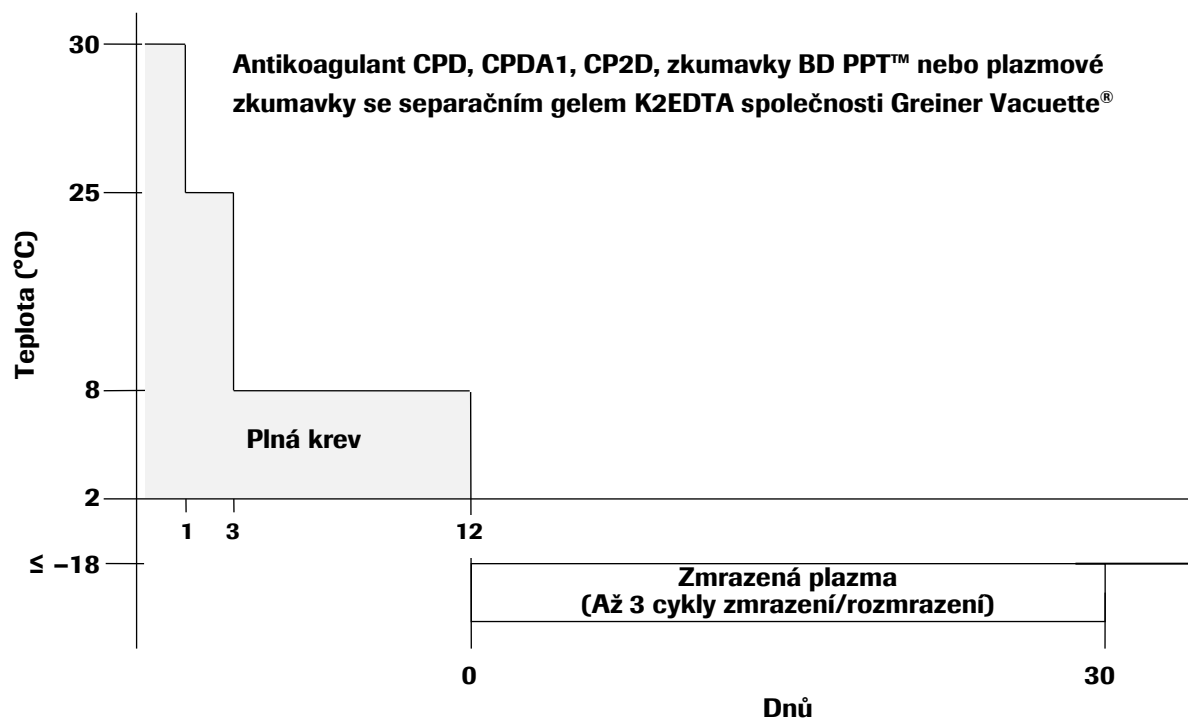
S výjimkou výše uvedeného se vzorky uchovávají při teplotě 2–8 °C. Navíc lze plazmu oddělenou od buněk uchovávat až po dobu 12 měsíců při teplotě ≤ -18 °C se třemi cykly zmrazení a rozmrazení. viz Obr. 1.

Obr. 1 Podmínky uchovávání vzorků s antikoagulantem EDTA



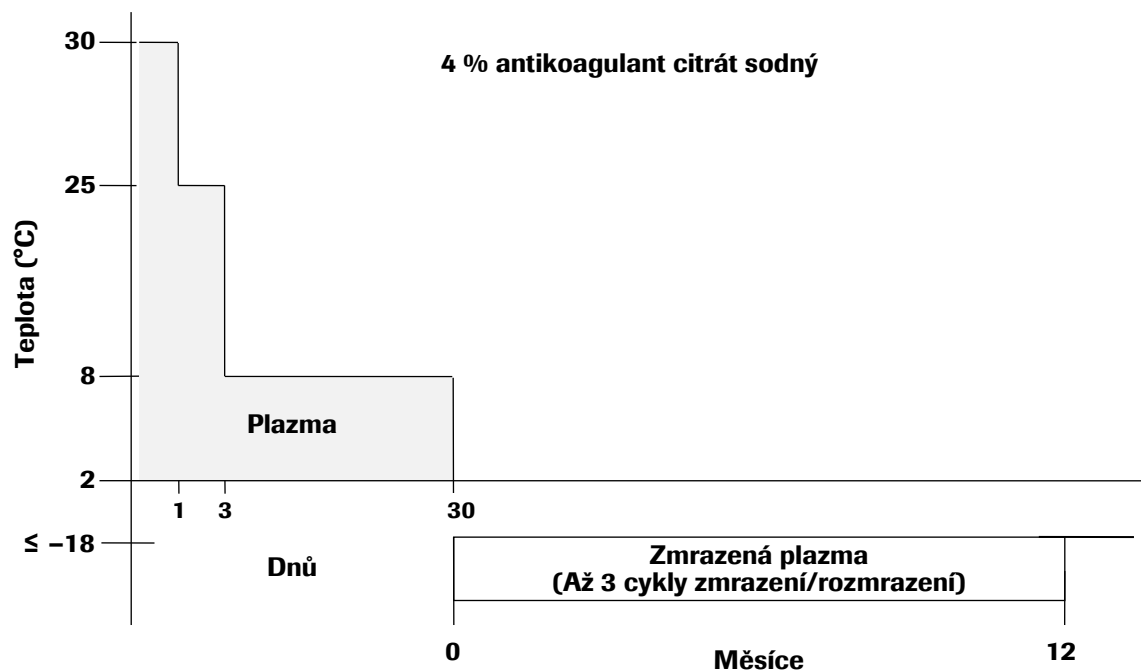
- Krev odebraná do zkumavek s antikoagulantem CPD, CPDA1, CP2D, zkumavek na přípravu plazmy s EDTA společnosti Becton-Dickinson (BD PPT™) nebo plazmových zkumavek se separačním gelem K2EDTA společnosti Greiner Vacuette® může být uchovávána až po dobu 12 dnů za následujících podmínek:
 - Vzorky je nutno odstředit do 72 hodin po odběru.
 - Při uchovávání vzorků při teplotě nad 8 °C lze vzorky uchovávat po dobu 72 hodin při teplotě do 25 °C a z těchto 72 hodin mohou být 24 hodin při teplotě do 30 °C.

S výjimkou výše uvedeného se vzorky uchovávají při 2–8 °C. Navíc lze plazmu oddělenou od buněk uchovávat až po 30 dnů při teplotě ≤ -18 °C se třemi cykly zmrazení a rozmrazení. Viz Obr. 2.

Obr. 2 Podmínky uchovávání vzorků

- Plazmu odebranou ve 4% roztoku antikoagulantu citrátu sodném lze uchovávat až do 30 dnů při 2–8 °C.
 - Při uchovávání vzorků při teplotě nad 8 °C lze vzorky uchovávat po dobu 72 hodin při teplotě do 25 °C a z těchto 72 hodin mohou být 24 hodin při teplotě do 30 °C.

S výjimkou výše uvedeného se vzorky uchovávají při teplotě 2–8 °C. Navíc lze plazmu oddělenou od buněk uchovávat až po dobu 12 měsíců při teplotě ≤ –18 °C se třemi cykly zmrazení a rozmrazení. Viz Obr. 3.

Obr. 3 Podmínky uchovávání vzorků ve 4% roztoku antikoagulantu citrátu sodném

- Pokud mají být vzorky přepravovány, musí být zabaleny a označeny dle platných státních anebo mezinárodních předpisů o přepravě vzorků a etiologických agens.

Návod k použití

Automatické pipetování a poolování vzorků (volitelné)

Přístroj **cobas®** p 680 nebo software **cobas® Synergy** s pipetorem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet lze použít jako volitelné zařízení se systémy **cobas®** 6800/8800 k automatickému pipetování a poolování alikvotů většího počtu primárních vzorků do jednoho poolovaného vzorku.

Software **cobas® Synergy** s pipetorem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD se používá jako příslušenství k systému **cobas®** 5800 k automatickému pipetování a poolování alikvotů většího počtu primárních vzorků do jednoho poolovaného vzorku.

Další informace najdete v Asistentu uživatele přístroje **cobas®** p 680 nebo Asistentu uživatele softwaru **cobas® Synergy**.

Procesní poznámky

- Nepoužívejte reagentie testu **cobas®** HEV, kontrolní soupravy **cobas®** HEV Control Kit, soupravy negativní kontroly **cobas®** NHP Negative Control Kit ani reagentie **cobas® omni** po uplynutí jejich doby použitelnosti.
- Nepoužívejte spotřební materiál opakovaně. Slouží pouze k jednorázovému použití.
- Pokyny k řádné údržbě přístrojů najdete v Asistentu uživatele k systému **cobas®** 5800.
- Pokyny k řádné údržbě přístrojů najdete v Asistentu uživatele k systémům **cobas®** 6800/8800.

Provedení testu cobas® HEV v systému cobas® 5800

Postup testu je podrobně popsán v Asistentu uživatele systému cobas® 5800. Obr. 4 níže uvádí souhrn postupu. Podrobné informace o volitelném poolování naleznete v Asistentu uživatele k softwaru cobas® Synergy.

Obr. 4 Postup testu cobas® HEV v systému cobas® 5800

1	Pipetování a poolování vzorků
2	Vložení stojánek na vzorky do systému: • Vložte stojánky na vzorky do systému • Pokud nejsou k dispozici žádné objednávky LIS, objednejte testy ručně
3	Doplňte reagenty a spotřební materiál podle pokynů systému: • Vložte reagenční kazetu (kazety) specifickou pro test • Vložte minisťojany s kontrolami • Vložte špičky pro zpracování vzorků • Vložte eluční špičky • Vložte destičky pro zpracování vzorků • Vložte destičky na tekutý odpad • Vložte destičky pro amplifikaci • Vložte kazetu MGP • Doplněte diluent • Doplněte lyzační reagent • Doplněte promývací roztoky
4	V uživatelském rozhraní spusťte běh ručním výběrem tlačítka Start. Všechny následné běhy se spustí automaticky, pokud nebudou ručně odloženy.
5	Zkontrolujte výsledky
6	Vyjměte zkumavky na vzorky Vyčistěte přístroj: • Vyprázdněte reagenční kazety • Vyprázdněte minisťojany s kontrolami • Vyprázdněte zásuvku pro amplifikační destičky • Vyprázdněte tekutý odpad • Vyprázdněte pevný odpad

Provedení testu cobas® HEV v systémech cobas® 6800/8800

Postup testu je podrobně popsán v Asistentu uživatele systémů cobas® 6800/8800; informace o volitelných postupech tvorby poolů naleznete v Asistentu uživatele pro přístroj cobas® p 680 nebo Asistentu uživatele softwaru cobas® Synergy. Obr. 5 níže uvádí souhrn postupu.

Obr. 5 Postup testu cobas® HEV na systémech cobas® 6800/8800

1	Pipetování a poolování vzorků
2	Vytvořte objednávku
3	Doplňte reagenty a spotřební materiál podle pokynů systému: • Doplňte promývací roztoky, lyzační reagenty a diluent • Doplňte destičky ke zpracování a destičky k amplifikaci • Doplňte magnetické skleněné částice • Doplňte reagenty specifické pro test • Doplňte kazety s kontrolami • Doplňte stojánky na špičky • Vyměňte stojánek na ucpané špičky za nový
4	Spusťte běh: • Vložte stojánky se vzorky • Stiskněte tlačítko Start na uživatelském rozhraní
5	Zkontrolujte a exportujte výsledky
6	Vyjměte spotřební materiál: • Vyjměte amplifikační destičky z analytického modulu • Vyjměte prázdné kontrolní kazety • Vyprázdněte pevný odpad • Vyprázdněte tekutý odpad

Výsledky

Systémy cobas® 5800 a cobas® 6800/8800 automaticky detekují RNA HEV současně ve vzorcích a kontrolách.

Kontrola kvality a platnost výsledků v systému cobas® 5800

Systém cobas® 5800 se dodává s výchozím nastavením kontrol (pozitivní a negativní) naplánovaným pro každý běh, ale kontroly lze nakonfigurovat s menší četností na základě laboratorních postupů a/nebo místních předpisů; k provedení tohoto postupu kontaktujte servisního technika Roche nebo technickou podporu Roche pro zákazníky.

- Nejméně každých 24 hodin nebo s každou novou šarží soupravy musí být zpracována jedna negativní kontrola [(-) C] a jedna pozitivní kontrola [HEV (+) C].
- Ověřte platnost kontroly v systému cobas® 5800 a/nebo ve zprávě tak, že zkontrolujete značky (flags) a související výsledky.
- Související vzorky jsou platné, pokud se u žádné z kontrol neobjeví výstražné značky.

Systém cobas® 5800 vyhláší neplatnost výsledků automaticky na základě selhání negativních nebo pozitivních kontrol.

Výsledky kontrol v systému cobas® 5800

Výsledky kontrol jsou uvedeny v softwaru cobas® 5800 v aplikaci „Controls“ (Kontroly).

- Pokud jsou všechny cíle kontroly nahlášeny jako platné, jsou ve sloupci „Control result“ (Výsledek kontroly) označeny „Valid“ (Platné). Kontroly jsou označeny „Invalid“ (Neplatné) ve sloupci „Control result“, pokud jsou všechny cíle nebo jeden cíl kontroly nahlášeny jako neplatné.
- Kontroly označené „Invalid“ zobrazují ve sloupci „Flags“ (Značky) značku. Další informace o tom, proč je kontrola nahlášena jako neplatná, včetně informací o značce, se zobrazí v detailním zobrazení.
- Pokud je pozitivní kontrola neplatná, opakujte testování pozitivních kontrol a všech souvisejících vzorků. Je-li negativní kontrola neplatná, opakujte testování všech kontrol a všech souvisejících vzorků.

Tab. 11 Značky kontrol pro negativní a pozitivní kontroly v systému cobas® 5800

Negativní kontrola	Značka	Výsledek kontroly	Interpretace
(-) C	Zobrazí se značka	Invalid	Celá dávka je označena jako neplatná, pokud je výsledek pro (-) C neplatný.
Pozitivní kontrola	Značka	Výsledek kontroly	Interpretace
HEV (+) C	Zobrazí se značka	Invalid	Celá dávka je označena jako neplatná (invalid), pokud je výsledek pro HEV (+) C neplatný.

Kontrola kvality a platnost výsledků v systémech cobas® 6800/8800

- S každou dávkou je zpracována jedna negativní [(-) C] a jedna pozitivní kontrola [HEV (+) C].
- Ověřte platnost dávky v softwaru systémů cobas® 6800/8800 a/nebo ve zprávě tak, že zkontrolujete značky (Flags) a související výsledky.
- Dávka je platná, pokud se u obou kontrol neobjeví žádné značky.

Software cobas® 6800/8800 vyhláší neplatnost výsledků automaticky na základě selhání negativních a pozitivních kontrol.

Značky kontrol pro použití v systémech cobas® 6800/8800

Tab. 12 Kontrolní značky u negativních a pozitivních kontrol

Negativní kontrola	Značka	Výsledek	Interpretace
(-) C	Q02	Invalid	Celá dávka je označena jako neplatná, pokud je výsledek pro (-) C neplatný.
Pozitivní kontrola	Značka	Výsledek	Interpretace
HEV (+) C	Q02	Invalid	Celá dávka je označena jako neplatná (invalid), pokud je výsledek pro HEV (+) C neplatný.

Pokud je dávka neplatná, opakujte testování celé dávky včetně vzorků a kontrol.

Vyhodnocení výsledků

U každé platné dávky zkontrolujte u všech individuálních vzorků přítomnost značek v software systémech **cobas® 5800/6800/8800** nebo ve zprávě. Interpretace výsledků je následující:

- Platná dávka může zahrnovat platné i neplatné výsledky vzorků dárců podle toho, zda se u jednotlivých vzorků objeví značky resp. komentáře nebo ne.
- Výsledky vzorku jsou platné jen pokud jsou platná příslušná pozitivní kontrola i negativní kontrola pro dotýcnou dávku.

U každého vzorku jsou současně měřeny dva parametry: HEV a vnitřní kontrola. Software systému připraví zprávu o konečných výsledcích testu **cobas® HEV**. Kromě celkových výsledků zobrazí software systémy **cobas® 5800/6800/8800** také individuální cílové výsledky, které je třeba interpretovat následovně:

Tab. 13 Cílové výsledky pro jednotlivé interpretace cílových výsledků

Cílové výsledky	Interpretace
HEV Non-Reactive	Nebyl detekován cílový signál pro HEV; signál IC byl detekován.
HEV Reactive	Byl detekován cílový signál pro HEV; signál IC může, ale nemusí být detekován.
Invalid	Cílový signál ani signál vnitřní kontroly nebyly detekovány.

Pokud používáte software **cobas® Synergy**, zkontrolujte výpočet konečného výsledku pomocí softwaru **cobas® Synergy**.

Další informace pro interpretaci výsledků v systému cobas® 5800

Výsledky vzorků jsou uvedeny v systému **cobas® 5800**. Doporučujeme zkontrolovat výsledky v softwaru **cobas® Synergy**.

- Vzorky související s platnou dávkou kontrol (definovanou v konfiguraci řízení systému) se ve sloupci „Control result“ (Výsledek kontroly) zobrazí jako „Valid“ (Platné). Vzorky související s chybnou dávkou kontrol jsou ve sloupci „Control result“ (Výsledek kontroly) zobrazeny jako „Invalid“ (Neplatné).
- Jsou-li související kontroly výsledku vzorku neplatné, přidá se do výsledku vzorku konkrétní značka takto:
 - Q05D: chyba ověření výsledku z důvodu neplatné pozitivní kontroly.
 - Q06D: chyba ověření výsledku z důvodu neplatné negativní kontroly.

- Hodnoty ve sloupci „Results“ (Výsledky) pro jednotlivé cílové výsledky vzorku by měly být interpretovány tak, jak je uvádí Tab. 13 výše.
 - Systém **cobas® 5800** zobrazí jednotlivé cílové výsledky. Celkový výsledek se zobrazí pouze v zobrazení výsledku softwaru **cobas® Synergy**.
 - Podrobnější informace o výsledcích vzorků a značkách naleznete v Asistenci uživatele systému **cobas® 5800**.

Opakované testování individuálních vzorků

Vzorkové zkumavky s konečným výsledkem „Invalid“ pro daný cíl vyžadují opakované testování.

Další centrifugace při rychlosti 600 × g po dobu 5 minut může pomoci redukovat opakované neplatné výsledky pro krev odebranou do zkumavek na přípravu plazmy s EDTA antikoagulantem, zkumavek EDTA Plasma Preparation Tubes společnosti Becton-Dickinson (BD PPT™) nebo plazmových zkumavek s gelem K2EDTA společnosti Greiner Vacuette®.

Procesní omezení

- Test **cobas® HEV** byl vyhodnocen pouze při použití v kombinaci s kontrolní soupravou **cobas® HEV Control Kit**, soupravou negativní kontroly **cobas® NHP Negative Control Kit**, reagensií **cobas® omni MGP Reagent**, lyzační reagensií **cobas® omni Lysis Reagent**, diluentem **cobas® omni Specimen Diluent** a promývací roztoky **cobas® omni Wash Reagent** spolu se systémy **cobas® 6800/8800**.
- Spolehlivost výsledků závisí na dodržování řádných postupů při odběru a uchovávání vzorků i při manipulaci s nimi.
- S tímto testem nepoužívejte heparinizovanou plazmu, protože je známo, že heparin působí inhibičně na PCR.
- Detekce RNA HEV závisí na tom, kolik virových částic je ve vzorku přítomno, na což má vliv odběr vzorků, skladování a manipulace s nimi, faktory pacienta (např. věk, přítomnost příznaků) a/nebo stádium infekce a velikost poolu.
- I když se vyskytují vzácně, mutace ve vysoce konzervovaných oblastech virového genomu pokryté testem **cobas® HEV** mohou ovlivnit vázání primerů anebo sond, a tak vést k selhání detekce viru.
- Vzhledem k rozdílům mezi technologiemi se doporučuje, aby uživatelé před přechodem od jedné technologie k druhé provedli ve své laboratoři studie pro stanovení rozdílů mezi těmito technologiemi. Uživatelé by měli dodržovat své vlastní zásady/postupy.

Ekvivalence systému/porovnání systémů

Ekvivalence systému **cobas® 5800** se systémy **cobas® 6800/8800** byla prokázána ve studiích ekvivalence.

Výsledky uvedené v tomto návodu k obsluze vycházejí ze stejného výkonu všech systémů.

Neklinické hodnocení výkonnosti prováděné na systémech cobas® 6800/8800

Klíčové charakteristiky výkonu testu – vzorky žijících dárců

Mez detekce (*Limit of Detection, LoD*)

Mezinárodní standard WHO

Mez detekce (LoD) testu cobas® HEV pro HEV RNA byla stanovena pomocí mezinárodního standardu WHO pro HEV (PEI kód 6329/10).

Pro mezinárodní standard WHO byly připraveny 3 nezávislé série ředění virového standardu normální lidskou EDTA plazmou negativní na virus (HEV). Každá série ředění byla testována pomocí 3 různých šarží sad testu cobas® HEV s přibližně 63 replikáty na šarži, celkem přibližně 189 replikátů na jednu koncentraci. U viru HEV byla použita 95% PROBIT analýza (Tab. 14) a 50% PROBIT analýza (Tab. 15) dat kombinovaných ze všech sérií ředění a šarží reagentů pro odhad LoD i spodní a horní meze 95% intervalu spolehlivosti. Souhrn míry reaktivity pozorované ve studiích LoD pro HEV uvádí Tab. 16.

Tab. 14 Výsledky 95% PROBIT analýzy LoD dat ve vzorcích EDTA plazmy s virovým standardem

Analyt	Jednotky měření	LoD	Dolní 95% mez spolehlivosti	Horní 95% mez spolehlivosti
HEV	IU/ml	18,6	15,9	22,6

Tab. 15 Výsledky 50% PROBIT analýzy LoD dat ve vzorcích EDTA plazmy s virovým standardem

Analyt	Jednotky měření	LoD	Dolní 95% mez spolehlivosti	Horní 95% mez spolehlivosti
HEV	IU/ml	3,9	3,4	4,3

Tab. 16 Souhrn míry reaktivity na HEV v EDTA plazmě

Koncentrace RNA HEV (IU/ml)	Počet reaktivních	Počet platných replikátů	% reaktivních	Dolní mez spolehlivosti 95 % (jednostranná)
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 %

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost testu **cobas®** HEV na systémech **cobas®** 6800/8800 byla stanovena pomocí mezinárodního standardu WHO pro HEV (PEI kód 6329/10). Tato studie sestávala z testování 3 panelů HEV při koncentracích přibližně $0,5 \times$, $1 \times$ a $2 \times$ LoD testu **cobas®** HEV. Testovány byly následující složky variability:

- variabilita mezi jednotlivými dny po dobu 3 dnů
- variabilita mezi jednotlivými šaržemi s použitím 3 různých šarží reagensů testu **cobas®** HEV
- variabilita mezi jednotlivými přístroji s použitím 3 různých systémů **cobas®** 8800

U každého ze 3 panelů bylo testováno přibližně 21 replikátů s celkovým počtem 63 replikátů na každou šarží reagensů. Veškeré informace o reprodukovatelnosti byly vyhodnoceny výpočtem procentního podílu reaktivních výsledků testů pro každou hladinu koncentrace a pro všechny složky variability.

Meze dvoustranných 95% intervalů spolehlivosti pro každou míru reaktivity byly vypočteny pro každou ze tří hladin HEV testovaných po 3 dny u 3 šarží reagensů a 3 systémů **cobas®** 8800. Test **cobas®** HEV je reprodukovatelný při použití po dobu většího počtu dnů s větším počtem šarží reagensů a větším počtem přístrojů. Souhrn výsledků variability mezi šaržemi činidel uvádí Tab. 17.

Tab. 17 Souhrn reprodukovatelnosti testu **cobas®** HEV mezi šaržemi reagensů

Analyt	Koncentrace	Šarže reagensie	% reaktivních (počet reaktivních/počet platných replikátů)	Dolní mez 95% intervalu spolehlivosti	Horní mez 95% intervalu spolehlivosti
HEV	$2 \times$ LoD	1	100,0 % (61/61)	94,1 %	100,0 %
HEV	$2 \times$ LoD	2	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
HEV	$2 \times$ LoD	3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
HEV	$1 \times$ LoD	1	88,9 % (56/63)	78,4 %	95,4 %
HEV	$1 \times$ LoD	2	96,8 % (60/62)	88,8 %	99,6 %
HEV	$1 \times$ LoD	3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
HEV	$0,5 \times$ LoD	1	82,5 % (52/63)	70,9 %	90,9 %
HEV	$0,5 \times$ LoD	2	95,2 % (60/63)	86,7 %	99,0 %
HEV	$0,5 \times$ LoD	3	84,1 % (53/63)	72,7 %	92,1 %

Verifikace genotypů

Výkonnost testu **cobas® HEV** při detekci 4 genotypů HEV byla zjištěna testováním celkem 16 jedinečných klinických vzorků a 7 izolátů z kultur HEV se známými genotypy. Všechny vzorky byly kvantifikovány pomocí standardu odvozeného od WHO standardu pro HEV. Všech 16 klinických vzorků bylo testováno po zředění normální lidskou EDTA plazmou negativní na virus (HEV), na hodnotu $5 \times \text{LoD}$ testu **cobas® HEV** test a 10 vzorků bylo testováno také v původní (neředěné) koncentraci. Všech 7 izolátů kultur bylo testováno po zředění normální lidskou EDTA plazmou negativní na virus (HEV) na koncentraci $5 \times \text{LoD}$ testu **cobas® HEV**. Detekce u všech klinických vzorků a izolátů kultur byla $5 \times \text{LoD}$ anebo v okolí této hodnoty (Tab.).

Tab. 18 Klinické vzorky a izoláty kultur HEV

Genotyp	Klinické vzorky	Klinické vzorky	Izoláty kultur
	% reaktivních (počet reaktivních/počet testovaných vzorků) neředěné	% reaktivních (počet reaktivních/počet testovaných vzorků) zředěné na $5 \times \text{LoD}$	% reaktivních (počet reaktivních/počet testovaných vzorků) zředěné na $5 \times \text{LoD}$
1	Netestován*	Netestován*	100,0 % (3/3)
2	Netestován*	Netestován*	100,0 % (1/1)
3	100,0 % (10/10)	100,0 % (10/10)	Netestován*
4	Netestován*	100,0 % (6/6)	100,0 % (3/3)

* Nedostatečný objem pro testování v neředěném/zředěném stavu.

Analytická specifita

Analytická specifita testu **cobas®** HEV byla vyhodnocena pro zkříženou reaktivitu u 28 mikroorganismů při koncentraci 10^6 částic, kopií nebo PFU/ml, včetně 21 virových izolátů, 6 bakteriálních kmenů a 1 kvasinkového izolátu (Tab. 19).

Mikroorganismy byly přidány do normální lidské EDTA plazmy negativní na virus a testovány bez HEV a s HEV přidáním v koncentraci přibližně $3 \times \text{LoD}$ testu **cobas®** HEV. U testovaných mikroorganismů nedocházelo ke zkřížené reakci s testem **cobas®** HEV ani k jeho narušování.

Tab. 19 Mikroorganismy testované na analytickou specifitu

Viry	Flavivirus	Baktérie	Kvasinky
Adenovirus 5	Virus Západního Nilu	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovirus	Virus horečky Dengue typ 1	<i>Propionibacterium acnes</i>	-
Virus Epstein-Barrové	Virus Usutu	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Virus <i>Herpes simplex</i> typu 1	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Virus <i>Herpes simplex</i> typu 2	-	<i>Streptococcus viridans</i>	-
Virus hepatitidy A	-	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-
Virus hepatitidy B Virus hepatitidy C	-	-	-
Virus hepatitidy G Virus selhání lidské imunity (HIV-1 skupiny M) Virus selhání lidské imunity (HIV-2)	-	-	-
Lidský T-buněčný lymfotropní virus typ I	-	-	-
Lidský T-buněčný lymfotropní virus typ II	-	-	-
Lidský herpes virus 6	-	-	-
Virus chřipky A	-	-	-
Parvovirus B19	-	-	-
Virus Chikungunya	-	-	-
Varicella zoster virus	-	-	-

Vzorky plazmy z každého stavu onemocnění (Tab. 20) byly testovány bez HEV a s HEV přidáním v koncentraci přibližně $3 \times \text{LoD}$ testu **cobas®** HEV. U těchto stavů onemocnění nedocházelo ke křížové reakci s testem **cobas®** HEV ani k jeho narušování.

Tab. 20 Vzorky onemocnění testované na analytickou specifitu

Onemocnění	Onemocnění	Onemocnění
Adenovirus typ 5	Virus hepatitidy B	Lidský T-buněčný lymfotropní virus typ I
Cytomegalovirus	Virus hepatitidy C	Lidský T-buněčný lymfotropní virus typ II
Virus horečky Dengue	Virus <i>Herpes simplex</i> typu 1	Parvovirus B19
Virus Epstein-Barrové	Virus <i>Herpes simplex</i> typu 2	Virus Západního Nilu
Virus hepatitidy A	Virus selhání lidské imunity (HIV-1)	-

Analytická specifická – interferenční látky

Endogenní interferující látky

Vzorky plazmy s abnormálně vysokými hladinami triglyceridů (až do 33,2 g/l), hemoglobinu (až do 4,7 g/l), nekonjugovaného bilirubinu (až do 0,28 g/l), albuminu (až do 60 g/l) nebo lidské DNA (až do 0,004 g/l) byly testovány bez HEV a s HEV přidaným v koncentraci přibližně $3 \times \text{LoD}$ testu **cobas® HEV**. Vzorky obsahující tyto endogenní látky nenarušovaly senzitivitu ani specifitu testu **cobas® HEV**.

Exogenní interferující látky

Normální vzorky negativní lidské EDTA plazmy negativní na virus (HEV) obsahující abnormálně vysoké koncentrace léků (Tab. 21) byly testovány bez HEV a s HEV přidaným v koncentraci přibližně $3 \times \text{LoD}$ testu **cobas® HEV**. Tyto exogenní látky nenarušovaly senzitivitu ani specifitu testu **cobas® HEV**.

Tab. 21 Klinické vzorky testované s léky

Název testovaného léku	Koncentrace
Paracetamol	1324 µmol/l
Kyselina acetylsalicylová	3620 µmol/l
Kyselina askorbová	342 µmol/l
Atorvastatin	600 µg Eq/l
Fluoxetin	11,2 µmol/l
Ibuprofen	2425 µmol/l
Loratadin	0,78 µmol/l
Nadolol	3,88 µmol/l
Naproxen	2170 µmol/l
Paroxetin	3,04 µmol/l
Fenylefrin hydrochlorid	491 µmol/l
Sertralin	1,96 µmol/l

Korelace

Vyhodnocení výkonnosti testu cobas® HEV ve srovnání s testem Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0

Výkonnost testu cobas® HEV a testu Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0 (Altona Diagnostics) byla porovnávána pomocí 100 individuálních HEV NAT-pozitivních vzorků plazmy. 100 pozitivních vzorků bylo testováno neředěných a 67 pozitivních vzorků bylo testováno zředěných 1 : 6. Navíc bylo oběma metodami testováno 100 neředěných vzorků plazmy negativních na HEV.

Séronegativní vzorky vykázaly 100% specifitu a poskytly 100 nereaktivních výsledků ze 100 vzorků u obou metod.

Výsledky obou metod u pozitivních vzorků souhlasily na základě McNemarova testu, což prokázalo, že výkonnost testu cobas® HEV a testu Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0 je ekvivalentní (Tab. 22).

Tab. 22 Korelace mezi pozitivními vzorky (neředěnými)

Metody	Metody	Výsledky HEV	Výsledky HEV
Test Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0	cobas® HEV	Neředěný	Zředěný 1:6
Nereaktivní	Nereaktivní	0	3
Reaktivní	Nereaktivní	0	3
Nereaktivní	Reaktivní	1	9
Reaktivní	Reaktivní	99	52
Celkem	Celkem	100	67
p hodnota McNemarova testu, (dvoustranný interval, $\alpha = 0,05$)	p hodnota McNemarova testu, (dvoustranný interval, $\alpha = 0,05$)	1,00	0,09

Selhání celého systému

Míra selhání celého systému testu cobas® HEV byla zjištěna testováním 100 replikátů EDTA plazmy s přidaným virem HEV. Tyto vzorky byly testovány při cílové koncentraci přibližně $3 \times \text{LoD}$ a byly analyzovány v poolu 1 (bez ředění). Studie byla provedena pomocí systému cobas® 8800 s přístrojem cobas® p 680 (pipetování a poolování).

Z výsledků této studie vyplynulo, že všechny replikáty byly reaktivní pro každý cílový virus HEV, což znamená výslednou míru selhání celého systému ve výši 0 %. Dvoustranný 95% přesný interval spolehlivosti byl 0 % pro dolní mez a 3,62 % pro horní mez [0 %: 3,62 %].

Doplňující informace

Hlavní parametry testu

Typ vzorku	Plazma
Požadované množství vzorku	1000 µl*
Zpracované množství vzorku	850 µl

* Zkumavky používané k testování mohou mít jiné mrtvé objemy a vyžadovat větší nebo menší minimální objem. Další informace získáte od místního zástupce servisních služeb společnosti Roche.

Symbols

V označování diagnostických produktů společnosti Roche PCR se používají následující symboly.

Tab. 23 Symboly použité při označování diagnostických produktů PCR společnosti Roche

Age/DOB Věk nebo datum narození	 Prostředek není pro testování u lůžka pacienta	QS IU/PCR Kopie IU na reakci PCR, použijte mezinárodní jednotky (UI) QS na reakci PCR při výpočtu výsledků.
 Pomocný software	 Prostředek není určen pro samotestování	SN Sériové číslo
Assigned Range [copies/mL] Přiřazené rozmezí (kopie/mL)	 Distributor (Pozn.: pod symbolem může být uvedena příslušná země/oblast.)	Site Pracoviště
Assigned Range [IU/mL] Přiřazené rozmezí (IU/mL)	 Nepoužívat opakovaně	Procedure Standard Standardní postup
EC REP Zplnomocněný zástupce pro evropské společenství	 Žena	STERILE EO Sterilizováno ethylenoxidem
BARCODE Datový list s čárovými kódy	 Pouze pro vyhodnocení výkonnosti IVD	 Uchovávejte v temnu
LOT Číslo šarže	GTIN Globální číslo obchodní položky	 Omezení teploty
 Biologická rizika	 Dovozce	 Definiční soubor testu
REF Katalogové číslo	IVD Zdravotnický prostředek pro <i>in vitro</i> diagnostiku	 Neklopit
 Značka shody CE. Tento prostředek odpovídá příslušným požadavkům pro značku shody CE pro diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>	LLR Dolní mez přiřazeného rozmezí	Procedure UltraSensitive Ultracitlivý postup
Collect Date Datum odběru	 Muž	UDI Jedinečná identifikace prostředku
 Čtěte návod k použití	 Výrobce	ULR Horní mez přiřazeného rozmezí
 Obsah vystačí pro $<n>$ testů	CONTROL - Negativní kontrola	Urine Fill Line Hladina pro naplnění močí
CONTENT Obsah soupravy	 Nesterilní	Rx Only Pouze pro USA: podle federálního zákona smí být tento prostředek prodáván pouze lékařem nebo na jeho objednávku.
CONTROL Kontrola	 Jméno pacienta	 Datum expirace
 Datum výroby	 Číslo pacienta	
 Prostředek pro testování u lůžka pacienta	 Zde odloupnout	
 Prostředek pro samotestování	CONTROL + Pozitivní kontrola	
	QS copies / PCR Kopie QS na reakci PCR, použijte kopie QS na reakci PCR při výpočtu výsledků.	

Technická podpora

Pro technickou podporu (asistenci) kontaktujte místní zastoupení:

https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Výrobce a dovozce

Tab. 24 Výrobce a dovozce



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

Vyrobeno v USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Ochranné známky a patenty

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

Autorská práva

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Literatura

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.

Revize dokumentu

Informace o revizi dokumentu	
Doc Rev. 2.0 09/2023	Přidání zařízení cobas® 5800 v celém rozsahu. Aktualizována část Principy postupu. Přidána část Požadavky na manipulaci s reagensiemi pro systém cobas® 5800. Přidána část Další materiály potřebné pro systém cobas® 5800. Aktualizována část Požadované přístroje a software. Aktualizována část Bezpečnostní opatření a požadavky na manipulaci. Aktualizována část Návod k použití. Aktualizována část Výsledky a přidána část Ekvivalence systému/porovnání systémů. Bylo aktualizováno označení značkou cobas®. Máte-li jakékoli dotazy, kontaktujte zástupce společnosti Roche.
Doc Rev. 3.0 08/2024	Bylo aktualizováno označení značkou cobas®. V tabulce 6 ke stabilitě na palubě byla opravena hodnota z 10 hodin na 36 dnů u souprav cobas® HEV Control Kit a cobas® NHP Negative Control Kit. Aktualizovaná stránka s harmonizovanými symboly. Máte-li jakékoli dotazy, kontaktujte zástupce společnosti Roche.

Shrnutí zprávy o bezpečnosti a výkonnosti najdete na této webové adrese: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>