

cobas[®] WNV

Для диагностики *in vitro*

cobas[®] WNV – 192	P/N: 09171142190
cobas[®] WNV – 480	P/N: 09040927190
cobas[®] WNV Control Kit	P/N: 09040935190
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

Содержание

Назначение	4
Описание теста	4
Реагенты и материалы	8
Реагенты и контроли теста cobas® WNV	8
Реагенты cobas omni для пробоподготовки	11
Хранение реагентов и правила работы с ними	12
Необходимые дополнительные материалы	13
Необходимое оборудование и программное обеспечение	13
Меры предосторожности и правила работы	14
Меры предосторожности	14
Обращение с реагентами	15
Надлежащая лабораторная практика	15
Сбор, транспортировка, хранение и пулирование образцов	16
Образцы крови от живых доноров	16
Образцы крови от трупных доноров	18
Инструкция по работе с набором	19
Автоматизированное раскапывание и пулирование образцов (опционально)	19
Рекомендации по процедуре	19
Выполнение теста cobas® WNV	19
Результаты	20
Контроль качества и валидности результатов	20
Интерпретация результатов	20
Повторное тестирование индивидуальных образцов	21
Ограничения процедуры	21

Доклинические испытания теста	22
Основные характеристики набора — образцы от живых доноров.....	22
Предел обнаружения (LoD).....	22
Воспроизводимость	24
Инклюзивность	25
Аналитическая специфичность	26
Аналитическая специфичность: интерферирующие вещества	27
Корреляция	28
Системные ошибки	28
Основные характеристики набора — образцы от трупных доноров	29
Чувствительность	29
Специфичность	29
Воспроизводимость	30
Клинические испытания теста	31
Клиническая чувствительность: тестирование заведомо положительных по вирусу Западного Нила образцов	31
Клиническая специфичность	31
Результаты тестирования пулов	31
Результаты тестирования индивидуальных образцов.....	32
Воспроизводимость	33
Дополнительная информация	34
Основные характеристики теста	34
Условные обозначения	35
Техническая поддержка.....	36
Производитель и импортёр	36
Товарные знаки и патенты.....	36
Авторское право	36
Литература	37
Редакция документа	39

Назначение

Тест cobas® WNV для систем cobas® 6800 и cobas® 8800 является качественным тестом, применяемым *in vitro* для прямого обнаружения РНК вируса Западного Нила (ВЗН) в образцах человеческой плазмы.

Данный тест предназначен для скрининга на РНК ВЗН образцов человеческой плазмы, полученных от индивидуальных доноров, включая доноров цельной крови, доноров компонентов крови, а также других живых доноров. Данный тест также предназначен для скрининга доноров органов и тканей, чье сердце еще бьется на момент взятия образцов, а также для тестирования трупных доноров (чье сердце не бьется).

Данный тест не предназначен для тестирования образцов пуповинной крови.

Скрининг образцов плазмы от всех доноров можно проводить на индивидуальных образцах. Для донаций цельной крови и компонентов крови образцы плазмы можно тестировать индивидуально или в пулах, составленных из аликвот индивидуальных образцов. Для донаций от трупных (чье сердце не бьется) доноров органов и тканей образцы могут тестироваться только индивидуально.

Данный тест не предназначен для помощи при диагностике ВЗН-инфекции.

Описание теста

Введение: скрининг крови на гемотрансмиссивные инфекции

Вирус Западного Нила (ВЗН) представляет собой одноцепочечный переносимый членистоногими (арбовирус) РНК-вирус с положительной полярностью, который принадлежит к семейству *Flaviviridae*, роду *Flavivirus* и серокомплексу вируса японского энцефалита.^{1,2} Серокомплекс японского энцефалита также включает вирус японского энцефалита, вирус энцефалита Сент-Луис, вирус энцефалита долины Муррей и вирус Кунджин (в настоящее время известный как вариант ВЗН).³⁻⁵ Филогенетические исследования выявили 2 основные генетические линии ВЗН: линию 1 и линию 2. Штаммы из генетической линии 1 обнаружены в Африке, Индии, Австралии и Западном полушарии, они являются возбудителями недавних эпидемий в Европе, Средиземноморском бассейне и странах Южной и Северной Америки. Штаммы из генетической линии 2 были зарегистрированы в странах Африки к югу от Сахары⁶ и относительно недавно — в Южной Европе.^{7,8}

Как и другие арбовирусы, ВЗН циркулирует в энзоотическом цикле между кровососущими комарами и восприимчивыми позвоночными хозяевами (птицами).⁹ Птицы выступают естественными резервуарными позвоночными хозяевами, а комары рода *Culex* — основными энзоотическими переносчиками ВЗН, в то время как люди и млекопитающие (например, лошади) являются случайными и, как правило, тупиковыми хозяевами, поскольку у них редко развивается вирусемия такого титра, который достаточен для эффективного заражения членистоногих переносчиков.^{2,9,10}

Из-за того, что ВЗН способен инфицировать многочисленные виды комаров и птиц, он широко распространен в Африке, на Ближнем Востоке, в Южной Европе, западной части России, юго-западной части Азии и Австралии (подтип ВЗН Кунджин).¹ До середины 1990-х годов в Израиле и Африке изредка сообщалось о вспышках среди людей, в основном эти вспышки протекали в виде легких лихорадочных состояний.¹ С середины 1990-х годов новые штаммы вируса, вероятно, африканского происхождения, привели к увеличению числа случаев инфицирования в некоторых частях России, Южной и Восточной Европы, при этом крупные вспышки более высокой клинической тяжести произошли в Румынии, России, Израиле и Греции.^{1,8,11} ВЗН в настоящее время циркулирует во многих странах Западного полушария, но только в Соединенных Штатах и Канаде наблюдается значительная заболеваемость среди людей.^{1,12}

В США ВЗН впервые появился в 1999 году в Нью-Йорке и в последующие годы быстро распространился по всей территории страны.¹³ В настоящее время ВЗН является эндемичным во всех 48 смежных штатах США, а также во всех провинциях Канады.¹ ВЗН вызвал 3 крупнейшие вспышки арбовирусного нейроинвазивного заболевания (энцефалит, менингит или острый вялый паралич) из когда-либо зарегистрированных в Соединенных Штатах, при этом ежегодно в 2002, 2003 и 2012 годах регистрировалось около 3000 случаев нейроинвазивного заболевания.¹ Высокая активность вируса приходится на теплые месяцы года.¹ У 94 % пациентов, инфицированных ВЗН, симптомы проявляются в летние месяцы.¹

По оценкам, более 4 миллионов человек в США было инфицировано ВЗН в период с 1999 по 2012 год,¹ всего было зарегистрировано 16 196 пациентов с нейроинвазивным течением ВЗН, включая 1549 связанных с ним смертей.¹

Обоснование тестирования нуклеиновых кислот (NAT)

Возможность передачи ВЗН при переливании крови и трансплантации органов впервые была доказана во время расследования эпидемии в США в 2002 году.^{14,15} ВЗН может передаваться через переливание эритроцитов, тромбоцитов, свежзамороженной плазмы и через трансплантаты сердца, почек, печени и легких, хотя большинство случаев инфицирования людей ВЗН вызывают укусы комаров.^{1,2,14,16} Также ВЗН потенциально может передаваться при трансплантации гемопоэтических клеток-предшественников. Сообщалось о случаях трансплацентарной и перинатальной передачи ВЗН.¹ Передача через грудное молоко, при прохождении почечного диализа и связанная с профессиональным воздействием (например, на работников лабораторий [чрескожное или конъюнктивальное воздействие], работников птицефабрик) являются альтернативными редкими путями передачи ВЗН.^{1,12} Инфекция обычно приводит к формированию пожизненного иммунитета.⁹

Трансфузионно-трансмиссивный путь передачи ВЗН возможен во время острой фазы инфекции, когда инфицированные люди вирусемичны, клинически здоровы, но еще не сероконвертированы.¹⁷ Поскольку только у небольшого числа инфицированных доноров развивается заболевание с клиническими проявлениями, опрос доноров крови на предмет недавно перенесенных болезней, позволяющих предположить наличие инфекции ВЗН, неэффективен для выявления инфицированных/серопозитивных доноров.^{18,19} Данные, полученные при скрининге доноров крови, демонстрируют, что переливание крови с чрезвычайно низким титром ВЗН от недавно инфицированных доноров, у которых еще не выработались антитела к ВЗН, является эффективным путем передачи инфекции ВЗН.^{9,20} Донорство с очень низкой вирусной нагрузкой было связано с трансфузионной передачей ВЗН,²¹ что представляет особую опасность для пациентов с ослабленным иммунитетом, которые являются реципиентами в большинстве случаев переливаний крови.²²

Для обеспечения безопасности переливаний в 2003 году было проведено общенациональное тестирование (методом NAT) на РНК ВЗН.⁹ В течение первых 2 лет NAT-скрининга донорской крови на ВЗН в США было выявлено 1039 позитивных доноров при тестировании 27,2 миллиона донаций (0,4 на 10 000 донаций), однако в некоторых районах во время эпидемии этот показатель достигал 1 на 150 доноров.¹⁸ NAT-скрининг донорской крови в США и Канаде позволил почти полностью устранить риск инфицирования вирусом Западного Нила при переливании крови.¹ В период с 2003 по 2013 год было предотвращено примерно 3000 случаев инфицирования ВЗН.²³

Среди лиц, инфицированных ВЗН, примерно 80 % случаев протекают бессимптомно, у 20–25 % развивается лихорадка Западного Нила,^{1,24} и у 1 из 150–250 развивается нейроинвазивная болезнь.^{1,25} Лихорадка Западного Нила проявляется внезапными головными болями, недомоганием, повышенной температурой (обычно субфебрильной), миалгией, ознобом, рвотой и другими желудочно-кишечными симптомами, сыпью, утомляемостью и болью в глазах, которые могут длиться от нескольких дней до нескольких недель или даже

месяцев.^{1, 24} Нейроинвазивная болезнь Западного Нила может проявляться менингитом, энцефалитом, менингоэнцефалитом или острым вялым параличом, что может привести к необратимым неврологическим нарушениям, коме и смерти.^{1, 26–31} Инфекция ВЗН также ассоциирована с миокардитом, панкреатитом, фульминантным гепатитом, рабдомиолизом, многоочаговым хориоидитом, витритом и вегетативной нестабильностью.¹

Последствия нейроинвазивного заболевания могут сохраняться от нескольких месяцев до нескольких лет после выздоровления от острой инфекции. Больным энцефалитом Западного Нила часто требуется помощь в повседневных делах после выписки из лечебного учреждения.^{1, 31, 32} Нейропсихиатрические симптомы, включая депрессию и тревогу, а также нейрокогнитивный дефицит могут сохраняться от нескольких месяцев до года и дольше.^{1, 20, 33} Около 10 % людей, у которых развивается нейроинвазивная болезнь Западного Нила, умирают в результате заболевания, а пожилой возраст выступает наиболее важным фактором риска.² Риск летального исхода составляет 17 % для пациентов в возрасте 70 лет и старше по сравнению с риском 0,8 % для пациентов моложе 40 лет.^{1, 33} Другие факторы риска смерти включают энцефалит с выраженной мышечной слабостью, нарушение сознания, диабет, сердечно-сосудистые заболевания, инфекцию, вызванную вирусом гепатита С, и иммуносупрессию.^{1, 12, 33}

Принципы теста

Тест **cobas® WNV** является качественным тестом, выполняемым в системе **cobas® 6800** или **cobas® 8800**. Тест **cobas® WNV** позволяет одновременно выявлять РНК ВЗН и осуществлять внутренний контроль в одной постановке в инфицированной индивидуальной донации или пуле образцов плазмы из индивидуальных донаций.

Процедуры, лежащие в основе теста

Тест **cobas® WNV** основан на методе ПЦР в реальном времени с полностью автоматизированной пробоподготовкой (выделением и очисткой нуклеиновых кислот) с последующей ПЦР-амплификацией и детекцией. Системы **cobas® 6800/8800** состоят из модуля подачи образцов, модуля переноса, модуля обработки и аналитического модуля. Автоматизированное управление данными осуществляется в программе **cobas® 6800/8800**, которая определяет результаты всех тестов как нереактивные, реактивные или невалидные. Результаты можно просматривать непосредственно на экране системы, распечатать в виде отчета либо отправить в лабораторную информационную систему (ЛИС) или другую систему управления результатами.

Образцы можно тестировать индивидуально или в пулах, состоящих из нескольких образцов. Прибор **cobas p 680** или прибор **Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD** с программным обеспечением **cobas® Synergy** могут применяться на преаналитическом этапе, если необходимо выполнить пулирование образцов.

Нуклеиновые кислоты образца и вносимых в образец защищенной РНК (Armored RNA) внутреннего контроля (IC) (используемого для контроля процесса пробоподготовки и амплификации/детекции) выделяются одновременно. Также в тесте используются два контроля: положительный и отрицательный. Вирусные нуклеиновые кислоты освобождаются в результате внесения в образец протеазы и лизирующего реагента. Освободившаяся нуклеиновая кислота связывается с кремниевой поверхностью внесенных в образец магнитных стеклочастиц. Несвязавшиеся вещества и примеси, например денатурировавшие белки, клеточный дебрис, потенциальные ингибиторы ПЦР (такие как гемоглобин), удаляются на последующих этапах отмывки, и очищенная нуклеиновая кислота элюируется со стеклочастиц буфером для элюции при повышенных температурах.

Избирательная амплификация нуклеиновых кислот-мишеней из донорского образца достигается благодаря использованию прямого и обратного праймеров, специфичных к вирусу, подобранных к высококонсервативным участкам вирусной нуклеиновой кислоты. Термостабильный фермент ДНК-полимераза используется для обратной транскрипции и амплификации. В состав мастермикса вместо трифосфата дезокситимидина (dTTP) входит трифосфат дезоксиуридина (dUTP), который встраивается во вновь синтезируемую цепь ДНК (ампликон).^{34–36} Любые контаминирующие ампликоны из предыдущих постановок ПЦР разрушаются ферментом AmpErase [урацил-N-гликозилаза], входящим в состав ПЦР-смеси, при нагревании на первом этапе термоциклирования. Однако вновь синтезируемые ампликоны не разрушаются, поскольку фермент AmpErase инактивируется при нагревании выше 55 °C.

Мастермикс теста cobas® WNV содержит зонды для детекции, специфичные к последовательностям ВЗН и ВК. Каждый зонд, специфичный для ВЗН и ВК, мечен одним из двух флуоресцентных красителей, действующих как репортерный краситель. Каждый зонд также несет второй краситель, который является гасителем. Сигналы от двух репортерных красителей измеряются при специфичной для каждого красителя длине волны, что обеспечивает одновременную детекцию и дифференциацию амплифицированной мишени ВЗН и ИС.^{37, 38} При несвязывании с последовательностью-мишенью флуоресцентный сигнал интактного зонда подавляется гасителем. Во время этапа амплификации ПЦР зонды гибридизуются со специфичными одноцепочечными молекулами ДНК и разрушаются вследствие 5'-3' нуклеазной активности ДНК-полимеразы. Это приводит к разделению репортерного и гасящего красителей и, как следствие, генерированию флуоресцентного сигнала. На каждом цикле ПЦР увеличивается количество разрушенных зондов и происходит кумулятивный рост сигнала от репортерного красителя. Поскольку сигналы от двух специфичных репортерных красителей измеряются при разных длинах волн, происходит одновременная детекция и дифференциация амплифицированных мишеней ВЗН и ВК.

Реагенты и материалы

Реагенты и контроли теста cobas® WNV

Все неоткрытые реагенты и контроли должны храниться как рекомендовано в Табл. 1 до Табл. 4.

Табл. 1 Тест cobas® WNV

cobas® WNV			
Хранить при 2–8 °C			
Кассета на 192 тестов (P/N 09171142190)			
Кассета на 480 тестов (P/N 09040927190)			
Компоненты набора	Состав реагента	Количество в наборе	
		192 тестов	480 тестов
Раствор протеазы (PASE)	Трис буфер, < 0,05 % ЭДТА, хлорид кальция, ацетат кальция, 8 % (м/о) протеаза EUN210: Паспорт безопасности предоставляется по запросу. EUN208: Содержит субтилизин, полученный из бактерий <i>Bacillus subtilis</i> . Может вызывать аллергическую реакцию.	22,3 мл	38 мл
Внутренний контроль (IC)	Трис буфер, < 0,05 % ЭДТА, < 0,001 % защищенная РНК (Armored RNA) внутреннего контроля (неинфекционная РНК, заключенная в бактериофаг MS2), < 0,002 % поли гА РНК (синтетическая), < 0,1 % азид натрия	21,2 мл	38 мл
Буфер для элюции (EB)	Трис буфер, 0,2 % метил-4-гидроксibenзоат	21,2 мл	38 мл
Мастермикс реагент 1 (MMX-R1)	Ацетат марганца, гидроксид калия, < 0,1 % азид натрия	7,5 мл	14,5 мл
WNV мастермикс реагент 2 (WNV MMX-R2)	Трициновый буфер, ацетат калия, глицерин, 18 % диметилсульфоксид, Tween 20, ЭДТА, < 0,06 % dATP, dGTP, dCTP, < 0,14 % dUTP, < 0,01 % прямые и обратные праймеры для ВЗН и внутреннего контроля, < 0,01 % меченые флуоресцентным красителем зонды для ВЗН, < 0,01 % меченый флуоресцентным красителем зонд для внутреннего контроля, < 0,01 % олигонуклеотидный аптамер, < 0,01 % Z05D ДНК-полимераза, < 0,01 % фермент AmpErase (урацил-N-гликозилаза) (бактериальный), < 0,1 % азид натрия	9,7 мл	17,5 мл

Табл. 2 Набор контролей cobas® WNV Control Kit

cobas® WNV Control Kit			
Хранить при 2–8 °C (P/N 09040935190)			
Компоненты набора	Состав реагента	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения *
Положительный контроль WNV (WNV (+) C)	< 0,001 % синтетическая (защищенная) РНК ВЗН в оболочечном белке бактериофага MS2, нормальная человеческая плазма, негативная по РНК ВЗН при тестировании методом ПЦР 0,1 % консервант ProClin® 300 **	16 мл (16 × 1 мл)	  ВНИМАНИЕ H317: При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию. H412: Вредно для водной флоры и фауны с долгосрочными последствиями. P261: Избегать вдыхания тумана или паров. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Использовать защитные перчатки. P333 + P313: При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться за медицинской помощью. P362 + P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед использованием. P501: Утилизировать содержимое/контейнер в специализированном центре. 55965-84-9 Реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-2Н-изотиазол-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).

* Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

** Опасное для здоровья вещество.

Табл. 3 Набор отрицательных контролей cobas® NHP Negative Control Kit**cobas® NHP Negative Control Kit**

Хранить при 2–8 °C

(P/N 09051554190)

Компоненты набора	Состав реагента	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения *
Нормальная плазма человека — отрицательный контроль (NHP-NC)	Нормальная человеческая плазма, негативная по РНК ВЗН при тестировании методом ПЦР < 0,1 % консервант ProClin® 300 **	16 мл (16 × 1 мл)	  ВНИМАНИЕ H317: При контакте с кожей может вызывать аллергическую реакцию. P261: Избегать вдыхания тумана или паров. P272: Не выносить загрязненную одежду с рабочего места. P280: Использовать защитные перчатки. P333 + P313: При раздражении кожи или появлении сыпи: обратиться за медицинской помощью. P362 + P364: Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед использованием. P501: Утилизировать содержимое/контейнер в специализированном центре. 55965-84-9 Реакционная масса: 5-хлоро-2-метил-2Н-изотиазол-3-он и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он (3:1).

* Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

** Опасное для здоровья вещество.

Реагенты cobas omni для пробоподготовки

Табл. 4 Реагенты cobas omni для пробоподготовки *

Реагенты	Состав реагента	Количество в наборе	Маркировка безопасности и предупреждения **
Реагент cobas omni MGP Reagent (MGP) Хранить при 2–8 °C (P/N 06997546190)	Магнитные стеклочастицы, трис буфер, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат, < 0,1 % азид натрия	480 тестов	Неприменимо
Дилуэнт для образцов cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Хранить при 2–8 °C (P/N 06997511190)	Трис буфер, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат, < 0,1 % азид натрия	4 × 875 мл	Неприменимо
Лизирующий реагент cobas omni Lysis Reagent (LYS) Хранить при 2–8 °C (P/N 06997538190)	42,56 % (м/м) гуанидин тиоцианат ***, 5 % (м/о) полидоканол ***, 2 % (м/о) дитиотреитол, дигидрат цитрата натрия	4 × 875 мл	 ОПАСНО H302: Вредно при проглатывании. H314: Вызывает серьезные ожоги кожи и повреждения глаз. H411: Токсично для водных организмов с долгосрочными последствиями. EUN032: При контакте с кислотой выделяет особо токсичный газ. EUN071: Коррозионное воздействие на дыхательные пути. P273: Избегать попадания в окружающую среду. P280: Использовать перчатки, спецодежду и средства для защиты глаз/лица/органов слуха. P303 + P361 + P353: ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ (или волосы): немедленно снять всю загрязненную одежду. Промыть кожу водой. P304 + P340 + P310: ПРИ ВДЫХАНИИ: вынести пострадавшего на свежий воздух и обеспечить ему полный покой в удобном для дыхания положении. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту. P305 + P351 + P338 + P310: ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА: осторожно промыть глаза водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы пользуетесь ими и если это легко сделать. Продолжить промывание глаз. Немедленно обратиться в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или к врачу-специалисту. P391: Ликвидировать просыпания/проливы/утечки. 593-84-0 Гуанидин тиоцианат 9002-92-0 Полидоканол 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-димеркаптобутан-2,3-диол
Промывочный реагент cobas omni Wash Reagent (WASH) Хранить при 15–30 °C (P/N 06997503190)	Дигидрат цитрата натрия, 0,1 % метил-4-гидроксibenзоат	4,2 л	Неприменимо

* Данные реагенты не входят в набор cobas® WNV. См. перечень необходимых дополнительных материалов (Табл. 7).

** Маркировка безопасности продукта соответствует рекомендациям EU GHS.

*** Опасное для здоровья вещество.

Хранение реагентов и правила работы с ними

Условия хранения реагентов и работы с ними приведены в Табл. 5 и Табл. 6.

Когда реагенты не загружены в системы **cobas® 6800/8800**, они должны храниться при температурах, указанных в Табл. 5.

Табл. 5 Хранение реагентов (когда реагенты не загружены в систему)

Реагент	Температура хранения
cobas® WNV – 192	2–8 °C
cobas® WNV – 480	2–8 °C
cobas® WNV 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

Когда реагенты загружены в системы **cobas® 6800/8800**, они хранятся при необходимых температурах и их сроки годности отслеживаются системой. Система допускает использование реагентов, только если они соответствуют всем условиям, приведенным в Табл. 6. Система автоматически блокирует использование реагентов с истекшим сроком годности. Табл. 6 содержит сведения об условиях использования реагентов в соответствии с требованиями систем **cobas® 6800/8800**.

Табл. 6 Требования систем **cobas® 6800/8800** к срокам хранения реагентов

Реагент	Срок годности набора	Стабильность открытого набора	Число постановок, для которых может использоваться набор	Стабильность после загрузки (общее время в системе, вне холодильника)
cobas® WNV – 192	Не истек	90 дней после первого использования	Максимум 40 постановок	Максимум 40 часов
cobas® WNV – 480	Не истек	30 дней после первого использования	Максимум 20 постановок	Максимум 20 часов
cobas® WNV Control Kit	Не истек	Неприменимо	Неприменимо	Максимум 10 часов
cobas® NHP Negative Control Kit	Не истек	Неприменимо	Неприменимо	Максимум 10 часов
cobas omni Lysis Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni MGP Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni Specimen Diluent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо
cobas omni Wash Reagent	Не истек	30 дней после загрузки *	Неприменимо	Неприменимо

* Время определяется после первой загрузки реагента в системы **cobas® 6800/8800**.

Необходимые дополнительные материалы

Табл. 7 Реагенты и расходные материалы для работы с системами **cobas® 6800/8800**

Материал	P/N
Планшет для обработки образцов cobas omni	05534917001
Амплификационный планшет cobas omni	05534941001
Наконечники cobas omni	05534925001
Контейнер для жидких отходов cobas omni	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Пакет для твердых отходов	07435967001
Контейнер для твердых отходов или Пакет для твердых отходов с вставкой	07094361001 или 08030073001

Необходимое оборудование и программное обеспечение

Программа **cobas® 6800/8800** и аналитический пакет **cobas® WNV** должны быть установлены на прибор(ы). Сервер Instrument Gateway (IG) поставляется вместе с системой. По необходимости должно быть установлено ПО **cobas® Synergy**.

Табл. 8 Приборы

Системы cobas® 6800/8800	P/N
Система cobas® 6800 (опция — подвижная)	05524245001 и 06379672001
Система cobas® 6800 (фиксированная)	05524245001 и 06379664001
Система cobas® 8800	05412722001
Модуль подачи образцов	06301037001
Для автоматизированного раскапывания и пулирования	P/N
Прибор cobas p 680	06570577001
Электронная лицензия на программное обеспечение cobas® Synergy (только для систем cobas® 6800/8800) (опционально)	07788339001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001
Прибор Hamilton MICROLAB® STARlet IVD	04872649001

Дополнительные сведения о первичных и вторичных пробирках для образцов, подходящих приборам, приведены в поддержке пользователя систем **cobas® 6800/8800** и прибора **cobas p 680** или в поддержке пользователя программного обеспечения **cobas® Synergy**.

Примечание. Обратитесь в ваше региональное представительство Roche за подробным списком штативов для образцов, штативов для засоренных наконечников и лотков для штативов, подходящих приборам.

Меры предосторожности и правила работы

Меры предосторожности

Как и при выполнении любых тестов, соблюдение правил надлежащей лабораторной практики является условием качественного выполнения данного теста. Вследствие высокой аналитической чувствительности теста необходимо тщательно оберегать от контаминации реагенты и амплификационные смеси.

- Только для диагностики *in vitro*.
- Все образцы нужно рассматривать как потенциально инфекционные и соблюдать при работе с ними правила биологической безопасности, приведенные в документах Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories и CLSI Document M29-A4.^{39, 40} Данную процедуру может выполнять только персонал, обладающий навыками работы с инфекционными материалами и тестом **cobas® WNV**, системами **cobas® 6800/8800** и (дополнительно) прибором **cobas p 680** или прибором **Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD** с программным обеспечением **cobas® Synergy**.
- Все материалы человеческого происхождения должны рассматриваться как потенциально инфекционные, работать с ними нужно с соблюдением стандартных мер предосторожности. При разливе материалов немедленно проведите дезинфекцию свежеприготовленным 0,6%-м раствором гипохлорита натрия в дистиллированной или деионизованной воде или следуйте стандартным инструкциям, принятым в вашей лаборатории.
- Набор контролей **cobas® WNV Control Kit** и набор отрицательных контролей **cobas® NHP Negative Control Kit** содержат плазму, полученную из крови человека. Тестирование нормальной человеческой плазмы методом ПЦР подтвердило отсутствие РНК ВЗН. Ни один из известных методов не может обеспечить полную гарантию отсутствия инфекционных агентов в продуктах крови человека.
- Не замораживайте цельную кровь.
- Рекомендуется использовать стерильные одноразовые дозаторы и свободные от нуклеаз наконечники. Для оптимального выполнения теста используйте только входящие в состав системы или рекомендованные для нее производителем расходные материалы.
- Внимательно следуйте рекомендациям и инструкциям для корректного проведения теста. Любое отклонение от инструкции может повлиять на результаты теста.
- Нарушение границы раздела клеток и плазмы или диффузия материала после центрифугирования могут привести к более высокому уровню невалидных результатов.
- Ложноположительные результаты могут быть получены при отсутствии адекватного контроля перекрестных контаминаций образцов на этапах пробоподготовки.
- О любых серьезных инцидентах, имевших место при работе с данным тестом, сообщайте в местный уполномоченный орган.

Обращение с реагентами

- Работайте со всеми реагентами, контролями и образцами в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики для предотвращения перекрестной контаминации образцов и контролей.
- Перед началом работы осмотрите все кассеты реагентов, дилуэнт, лизирующий реагент и промывочный реагент и убедитесь в отсутствии протекания. При наличии протекания не используйте данный материал для постановки теста.
- Лизирующий реагент **cobas omni** Lysis Reagent содержит гуанидин тиоцианат — потенциально опасное вещество. Не допускайте попадания реагента на кожу, в глаза, на слизистые оболочки. В случае попадания немедленно смойте большим количеством воды; в противном случае может возникнуть ожог.
- Реагенты наборов **cobas® WNV**, реагент **cobas omni** MGP Reagent и дилуэнт для образцов **cobas omni** Specimen Diluent содержат в качестве консерванта азид натрия. Не допускайте попадания реагента на кожу, в глаза, на слизистые оболочки. В случае попадания немедленно смойте большим количеством воды; в противном случае может возникнуть ожог. При проливе этих реагентов промойте их водой и затем вытрите.
- Не допускайте контакта лизирующего реагента **cobas omni** Lysis Reagent, содержащего гуанидин тиоцианат, с раствором гипохлорита натрия (хлорки). Данная смесь может выделять высокотоксичный газ.
- Паспорта безопасности материалов (SDS) доступны по запросу в вашем региональном представительстве компании Roche.
- Утилизируйте все материалы, контактировавшие с образцами и реагентами, в соответствии с государственными, федеральными и региональными правилами.

Надлежащая лабораторная практика

- Не пипетируйте ртом.
- Не ешьте, не пейте и не курите в рабочих лабораторных помещениях.
- Работайте со всеми реагентами и образцами в средствах для защиты глаз, лабораторном халате и одноразовых перчатках. Для предотвращения контаминации меняйте перчатки после работы с образцами, прежде чем начать работу с реагентами наборов **cobas® WNV** и **cobas omni**. Не допускайте контаминации перчаток при работе с образцами и контролями.
- Тщательно мойте руки после работы с образцами и компонентами набора и после снятия перчаток.
- Тщательно очищайте и дезинфицируйте все рабочие поверхности в лаборатории свежеприготовленным 0,6%-м раствором гипохлорита натрия в дистиллированной или деионизованной воде, затем протирайте их 70%-м этанолом.
- При разлитии реагентов или образцов в приборе **cobas® 6800/8800** проведите очистку и дезинфекцию поверхности приборов в соответствии с инструкциями в руководстве пользователя систем **cobas® 6800/8800**.

Сбор, транспортировка, хранение и пулирование образцов

Примечание. Работайте со всеми образцами и контролями как с потенциально инфекционными материалами.

Храните все донорские образцы при указанной температуре.

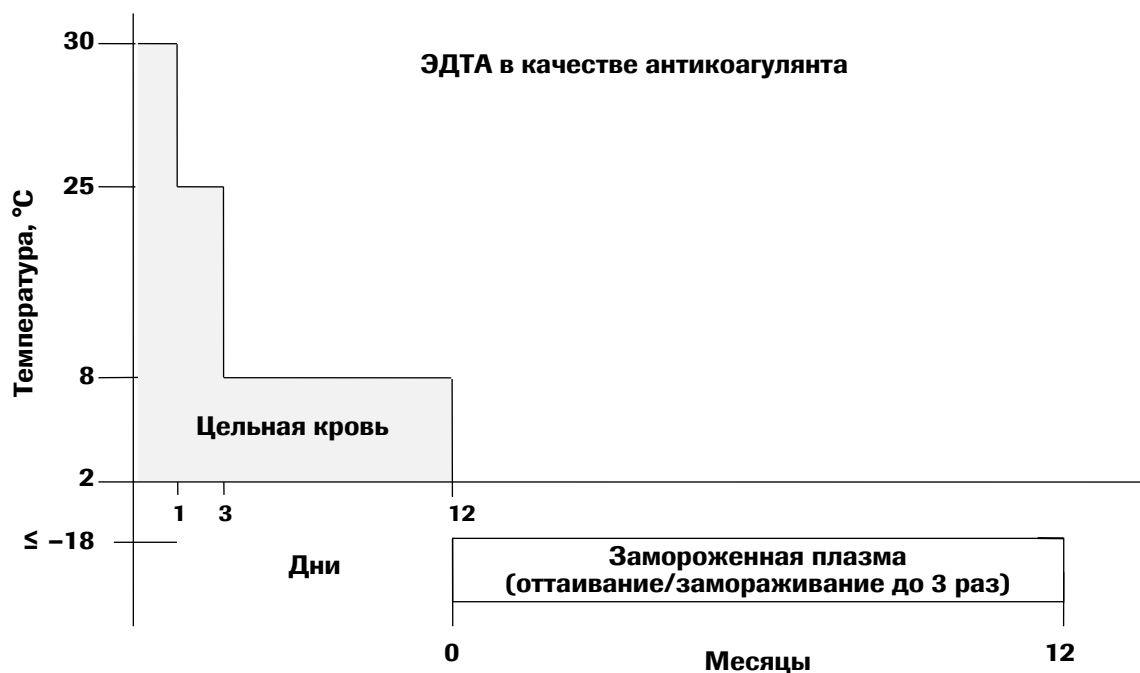
Стабильность образцов снижается при повышенных температурах.

Образцы крови от живых доноров

- Для работы с тестом **cobas® WNV** можно использовать плазму, собранную с ЭДТА, CPD, CPDA1 или CP2D в качестве антикоагулянта. Следуйте инструкциям производителя пробирок/мешков для сбора образцов по работе с образцами и их центрифугированию.
- Кровь, собранную с ЭДТА в качестве антикоагулянта, в пробирках для отделения плазмы Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) или пробирках с K2 ЭДТА и гелем для получения плазмы Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tubes можно подвергнуть дополнительному центрифугированию при $600 \times g$ в течение 5 минут перед загрузкой, дополнительным пулированием или повторным тестированием.
- Кровь, собранная в пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта, может храниться до 12 дней при следующих условиях:
 - образцы должны быть центрифугированы в течение 72 часов после забора крови;
 - при хранении при температуре выше 8°C образцы могут храниться в пределах 72 часов при температуре до 25°C (в течение 72 часов) и при температуре до 30°C (в течение 24 часов).

Помимо описанных выше условий, образцы хранят при температуре $2-8^{\circ}\text{C}$. Кроме того, плазма, отделенная от клеток, может храниться до 12 месяцев при температуре $\leq -18^{\circ}\text{C}$ с тремя допустимыми циклами заморозки/оттаивания. См. Рис. 1.

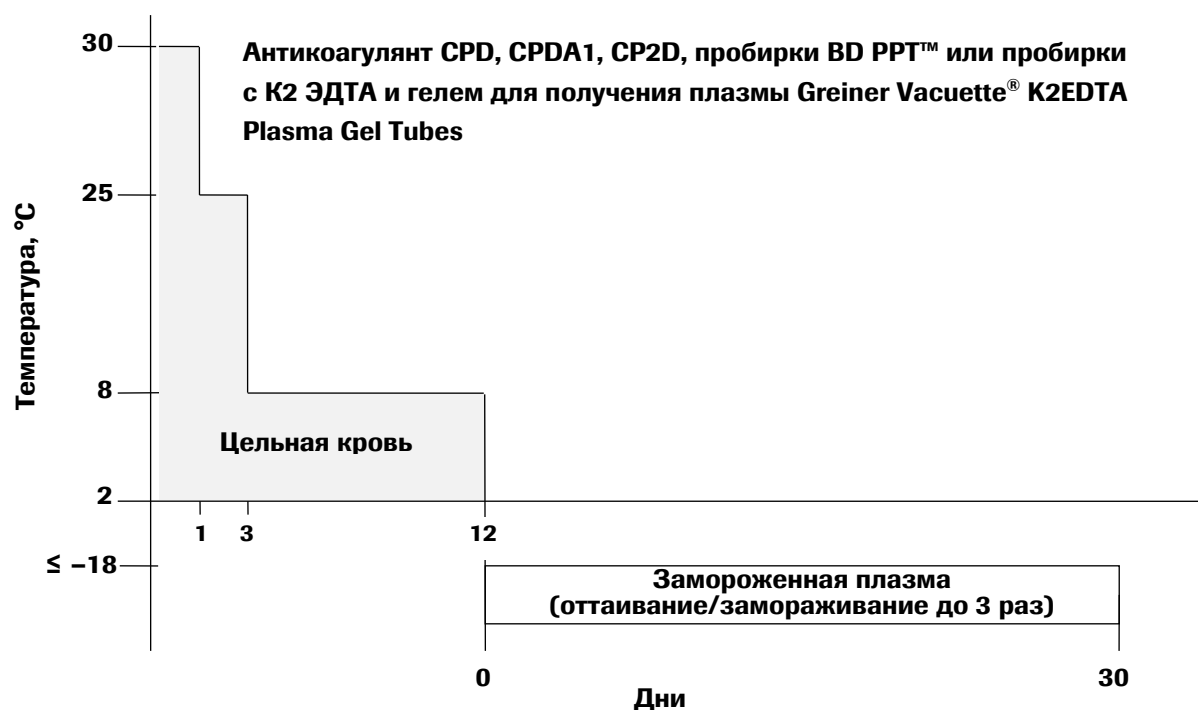
Рис. 1 Условия хранения образцов с антикоагулянтом ЭДТА



- Кровь, собранная с CPD, CPDA1 или CP2D в качестве антикоагулянта, а также кровь в пробирках для отделения плазмы Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) или пробирках с K2 ЭДТА и гелем для получения плазмы Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tubes может храниться до 12 дней при следующих условиях:
 - образцы должны быть центрифугированы в течение 72 часов после забора крови;
 - при хранении при температуре выше 8 °C образцы могут храниться в пределах 72 часов при температуре до 25 °C (в течение 72 часов) и при температуре до 30 °C (в течение 24 часов).

Помимо описанных выше условий, образцы хранят при температуре 2–8 °C. Кроме того, плазма, отделенная от клеток, может храниться до 30 дней при температуре ≤ -18 °C с тремя допустимыми циклами заморозки/оттаивания. См. Рис. 2.

Рис. 2 Условия хранения образцов от живых доноров

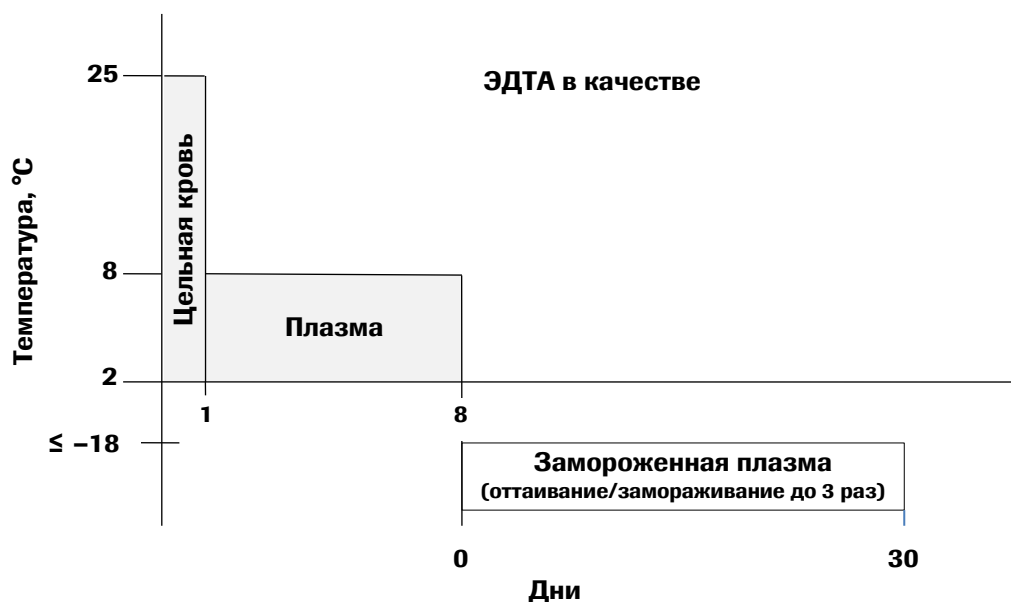


Образцы крови от трупных доноров

- Для работы с тестом cobas® WNV могут использоваться образцы крови от трупных доноров, собранные в пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта и (или) в пробирки для сыворотки с активатором сгустка. Следуйте инструкциям производителя пробирок/мешков для сбора образцов по работе с образцами и их центрифугированию.
- Кровь от трупных доноров, собранная в пробирки с ЭДТА в качестве антикоагулянта, может храниться до 8 дней при температуре 2–8 °С при следующих условиях:
 - образцы должны быть центрифугированы, а плазма должна быть отделена от клеток в течение 24 часов после взятия образца;
 - в условиях хранения при температуре выше 8 °С образцы могут храниться в пределах 24 часов при температуре до 25 °С.

Помимо описанных выше условий, плазма с ЭДТА от трупных доноров, отделенная от клеток, может храниться до 30 дней при температуре ≤ -18 °С с тремя допустимыми циклами оттаивания/замораживания. См. Рис. 3.

Рис. 3 Условия хранения образцов от трупных доноров



- Образцы крови от трупных доноров, собранные в пробирки для сыворотки с активатором сгустка, могут храниться до 4 дней при температуре 2–8 °С при следующих условиях:
 - образцы должны быть центрифугированы, а сыворотка должна быть отделена от клеток в течение 24 часов после взятия образца;
 - при хранении при температуре выше 8 °С образцы могут храниться в пределах 24 часов при температуре до 25 °С (в течение 4 часов).

Помимо описанных выше условий, сыворотка, отделенная от клеток, может храниться до 14 дней при температуре ≤ -18 °С с тремя допустимыми циклами оттаивания/замораживания.

- Если необходимо транспортировать образцы от живых и (или) трупных доноров, образцы должны быть упакованы и маркированы в соответствии с правилами транспортировки образцов и инфекционных агентов, действующими в вашей стране, и (или) международными правилами.

Инструкция по работе с набором

Автоматизированное откапывание и пулирование образцов (опционально)

Прибор **cobas p 680** или **Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet** с программным обеспечением **cobas® Synergy** можно использовать как дополнительные к системам **cobas® 6800/8800** приборы для автоматизированного пипетирования и пулирования аликвот нескольких первичных образцов в один пулированный образец.

Более подробные сведения приведены в поддержке пользователя прибора **cobas p 680** и в поддержке пользователя ПО **cobas® Synergy**.

Рекомендации по процедуре

- Не используйте реагенты набора **cobas® WNV**, набор контролей **cobas® WNV Control Kit**, набор отрицательных контролей **cobas® NHP Negative Control Kit** и реагенты **cobas omni** после истечения их сроков годности.
- Не используйте повторно расходные материалы. Они предназначены только для однократного применения.
- Инструкции по эксплуатации и обслуживанию приборов приведены в руководстве пользователя систем **cobas® 6800/8800**.

Выполнение теста cobas® WNV

Подробное описание процедуры теста приведено в поддержке пользователя систем **cobas® 6800/8800**. Подробное описание дополнительных процедур пулирования см. в поддержке пользователя прибора **cobas p 680** или в поддержке пользователя программного обеспечения **cobas® Synergy**, соответственно.

Рис. 4 ниже отражает схему постановки теста.

Рис. 4 Процедура теста **cobas® WNV**

1	Пипетирование и пулирование
2	Создание задания
3	Пополнение реагентов и расходных материалов по запросу системы: • Повторно загрузить промывочный реагент, лизирующий реагент и дилюент • Повторно загрузить планшеты для обработки и амплификации • Повторно загрузить магнитные стеклочастицы • Повторно загрузить тест-специфичные реагенты • Повторно загрузить кассеты с контролями • Повторно загрузить штативы с наконечниками • Заменить штатив для засоренных наконечников
4	Запуск постановки теста: • Загрузить штативы с образцами • Выбрать кнопку «Старт» на интерфейсе
5	Просмотр и экспорт результатов
6	Выгрузка расходных материалов • Удалить амплификационные планшеты из аналитического модуля • Выгрузить пустые кассеты для контролей • Удалить твердые отходы • Удалить жидкие отходы

Результаты

Системы **cobas®** 6800/8800 автоматически выявляют РНК ВЗН в образцах и контролях.

Контроль качества и валидности результатов

- Один отрицательный контроль [(-) C] и один положительный контроль [WNV (+) C] присутствуют в каждой постановке.
- В программе **cobas®** 6800/8800 или отчете проверьте наличие флагов и соответствующих им результатов для проверки валидности постановки.
- Постановка валидна, если ни для одного из контролей нет сигнальных сообщений.

Невалидность результатов определяется программой **cobas®** 6800/8800 автоматически на основании невалидных результатов для отрицательного и положительных контролей.

Сигнальные сообщения для контролей

Табл. 9 Флаги отрицательного и положительных контролей

Отрицательный контроль	Флаг	Результат	Интерпретация
(-) C	Q02	Invalid	Вся постановка признается невалидной, если невалиден результат для (-) C.
Положительный контроль	Флаг	Результат	Интерпретация
WNV (+) C	Q02	Invalid	Вся постановка признается невалидной, если невалиден результат для WNV (+) C.

Если постановка невалидна, необходимо повторить всю процедуру постановки теста, включая образцы и контроли.

Интерпретация результатов

Для валидной постановки проверьте наличие флагов для каждого образца в программе **cobas®** 6800/8800 или отчете. Интерпретация результатов должна быть следующей:

- валидная постановка может содержать как валидные, так и невалидные результаты для индивидуальных донорских образцов в зависимости от сигнальных сообщений, соответствующих образцам;
- результаты образцов валидны только в том случае, если соответствующие положительные и отрицательный контроли данной постановки валидны.

Для каждого образца одновременно измеряются два параметра: ВЗН и внутренний контроль. Конечные результаты теста **cobas®** WNV для каждого образца выдаются программой. Помимо общего результата, программа **cobas®** 6800/8800 выдает результаты по отдельным мишеням, которые необходимо интерпретировать указанным ниже образом.

Табл. 10 Интерпретация результатов по отдельным мишеням

Результат мишени	Интерпретация
WNV Non-Reactive	Сигнал мишени ВЗН отсутствует, сигнал ВК обнаружен.
WNV Reactive	Сигнал мишени ВЗН обнаружен, сигнал ВК может быть или отсутствовать.
Invalid	Сигнал мишени и внутреннего контроля не обнаружен.

При использовании программного обеспечения **cobas® Synergy** просматривать расчеты окончательного результата следует в программном обеспечении **cobas® Synergy**.

Повторное тестирование индивидуальных образцов

Для пробирок с образцами, в которых получен конечный результат Invalid для мишени, требуется повторное тестирование.

Дополнительное центрифугирование при $600 \times g$ в течение 5 минут может способствовать сокращению количества повторных невалидных результатов для образцов крови, собранных с ЭДТА в качестве анти-коагулянта, в пробирках для отделения плазмы Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) или пробирках с K2 ЭДТА и гелем для получения плазмы Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tubes.

Ограничения процедуры

- Тест **cobas® WNV** валидирован только для работы с набором контролей **cobas® WNV Control Kit**, набором отрицательных контролей **cobas® NHP Negative Control Kit**, реагентом **cobas omni MGP Reagent**, лизирующим реагентом **cobas omni Lysis Reagent**, дилуентом для образцов **cobas omni Specimen Diluent** и промывочным реагентом **cobas omni Wash Reagent** в системах **cobas® 6800/8800**.
- Надежность результатов теста зависит от адекватности сбора, хранения и обработки образцов.
- Не используйте для данного теста гепаринизированную плазму, так как гепарин может ингибировать ПЦР.
- Детекция РНК ВЗН зависит от количества вирусных частиц, содержащихся в образце, методов сбора, хранения и анализа образцов, факторов пациента (например, возраст, наличие симптомов) и/или стадии инфекции, а также объема пула.
- Редкие мутации в высококонсервативных участках вирусных геномов, являющихся мишенями теста **cobas® WNV**, могут препятствовать посадке праймеров и/или зондов и приводить к неспособности обнаружить наличие вируса.
- Вследствие естественных различий между технологиями пользователю рекомендуется, прежде чем заменить одну технологию на другую, провести корреляционные испытания для двух методов, чтобы оценить возможные различия между технологиями. Пользователи должны следовать политике и процедурам, принятым в их учреждении.

Доклинические испытания теста

Основные характеристики набора — образцы от живых доноров

Предел обнаружения (LoD)

Вторичный стандарт Roche / изолят вируса

Пределы обнаружения (LoD) теста cobas® WNV для РНК ВЗН генетических линий 1 и 2 определяли с использованием следующего стандарта:

- вторичный стандарт Roche для ВЗН линии 1, откалиброванный по эталонному стандарту ВЗН Министерства здравоохранения Канады (подразделение инфекционных заболеваний, Служба крови Канады, 1800 Alta Vista, Ottawa, Ontario, K1G 4J5);
- изолят ВЗН линии 2 ISS0513, предоставленный Национальным центром иммунобиологических исследований и оценки Istituto Superiore di Sanità (ISS), Рим, Италия.⁴¹

Для вторичного стандарта Roche были подготовлены три независимых серии разведений ВЗН линии 1 в нормальной вирус-негативной (по ВЗН) человеческой плазме с ЭДТА. Каждую серию разведений тестировали с тремя разными лотами набора реагентов cobas® WNV в 21 повторе для лота, всего 189 повторов для каждой концентрации.

Для изолята ВЗН линии 2 панели были подготовлены путем разведения исходного материала в нормальной вирус-негативной (по ВЗН) человеческой плазме с ЭДТА. Каждую серию разведений тестировали с тремя разными лотами набора реагентов cobas® WNV в восьми повторах для лота, всего 72 повтора для каждой концентрации.

LoD для ВЗН линий 1 и 2 определяли методом 95 % PROBIT (Табл. 11) и 50 % (Табл. 12) PROBIT анализа данных, объединенных для серий разведений и лотов реагентов, а также определяли нижний и верхний пределы 95 %-го доверительного интервала. Показатели частоты реактивности при определении LoD для линий 1 и 2 приведены в Табл. 13 и Табл. 14 соответственно.

Табл. 11 Результаты 95 % PROBIT анализа LoD для данных, полученных с вирусным стандартом в плазме с ЭДТА

Аналит	Единицы измерения	LoD	Нижний предел доверительного интервала 95 %	Верхний предел доверительного интервала 95 %
ВЗН линии 1	копии/мл	12,9	10,8	16,3
ВЗН линии 2	копии/мл	6,2	4,8	8,9

Табл. 12 Результаты 50 % PROBIT анализа LoD для данных, полученных с вирусным стандартом в плазме с ЭДТА

Аналит	Единицы измерения	LoD	Нижний предел доверительного интервала 95 %	Верхний предел доверительного интервала 95 %
ВЗН линии 1	копии/мл	2,1	1,9	2,4
ВЗН линии 2	копии/мл	1,1	0,8	1,3

Фактор пересчета относительно 1-го Международного стандарта ВОЗ для РНК вируса Западного Нила (ВЗН), код NIBSC 18/206, составляет 0,47 МЕ/копии. Фактор пересчета был установлен с помощью вторичного стандарта Roche и может применяться к линии 1 и линии 2.

Табл. 13 Частота реактивности по ВЗН линии 1 в плазме с ЭДТА

Концентрация РНК ВЗН (копий/мл)	Число реактивных результатов	Число валидных повторов	% реактивных результатов	Нижний предел доверительного интервала 95 % (одностороннего)
18,0	187	188	99,5 %	97,5 %
9,0	173	188	92,0 %	88,0 %
4,5	139	188	73,9 %	68,1 %
2,7	93	189	49,2 %	43,0 %
0,9	53	189	28,0 %	22,7 %

Табл. 14 Частота реактивности по ВЗН линии 2 в плазме с ЭДТА

Концентрация РНК ВЗН (копий/мл)	Число реактивных результатов	Число валидных повторов	% реактивных результатов	Нижний предел доверительного интервала 95 % (одностороннего)
22,8	72	72	100,0 %	95,9 %
15,2	72	72	100,0 %	95,9 %
7,6	69	72	95,8 %	89,6 %
3,8	64	72	88,9 %	80,8 %
2,3	53	72	73,6 %	63,7 %
0,8	30	72	41,7 %	31,8 %

Воспроизводимость

Воспроизводимость теста **cobas® WNV** в системах **cobas® 6800/8800** определяли с помощью вторичного стандарта Roche для ВЗН линии 1. Это исследование состояло из тестирования трех панелей ВЗН в концентрациях приблизительно 18, 9 и 4,5 копий/мл. Тестирование выполняли при следующих переменных факторах:

- вариабельность между днями на протяжении 3 дней;
- вариабельность между лотами для 3 разных лотов набора реагентов теста **cobas® WNV**;
- вариабельность между приборами для 3 разных систем **cobas® 8800**.

21 повтор был протестирован для каждой из 3 панелей, всего 189 повтора для каждого лота набора реагентов. Воспроизводимость для всех валидных данных оценивали методом расчета процента реактивных результатов теста для каждой концентрации для всех переменных факторов.

Пределы двустороннего 95%-го доверительного интервала рассчитывали для каждой частоты обнаружения каждой из трех концентраций ВЗН, тестируемых на протяжении 3 дней с 3 лотами набора реагентов на 3 системах **cobas® 8800**. Было продемонстрировано, что результаты теста **cobas® WNV** воспроизводимы в течение нескольких дней с несколькими лотами набора реагентов на нескольких приборах. Результаты вариабельности между лотами набора реагентов приведены в Табл. 15.

Табл. 15 Воспроизводимость между лотами набора реагентов **cobas® WNV**

Аналит	Концентрация (копий/мл)	Лот набора реагентов	% реактивных (реактивные/валидные повторы)	Нижний предел доверительного интервала 95 %	Верхний предел доверительного интервала 95 %
ВЗН	18,0	1	98,4 % (62/63)	91,5 %	100,0 %
		2	100 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	100 % (63/63)	94,2 %	100,0 %
	9,0	1	92,1 % (58/63)	82,4 %	97,4 %
		2	98,4 % (62/63)	91,5 %	100,0 %
		3	85,5 % (53/62)	74,2 %	93,1 %
	4,5	1	64,5 % (40/62)	51,3 %	76,3 %
		2	77,8 % (49/63)	65,5 %	87,3 %
		3	79,3 % (50/63)	67,3 %	88,5 %

Инклюзивность

Эффективность теста cobas® WNV для выявления флавивирусных вариантов ВЗН определяли путем тестирования уникальных культивированных изолятов для каждого варианта. В общей сложности 10 отдельных положительных культивированных изолятов ВЗН линии 1 были протестированы после разведения в нормальной вирус-негативной (по ВЗН) человеческой плазме с ЭДТА в концентрации примерно 36 копий/мл. Вирус был обнаружен во всех 10 культивированных образцах (Табл. 16).

Для вирусов связанного рода флавивирусов было протестировано в общей сложности 2 положительных культивированных изолята вируса японского энцефалита (ЯЭ) в 4 повторах после разведения в нормальной вирус-негативной (по ВЗН) человеческой плазме с ЭДТА. В общей сложности по одному положительному культивированному изоляту вируса энцефалита Сент-Луиса (SLEV), вируса энцефалита долины Муррей (MVEV) и вируса Кунджин (KUNV) было протестировано с использованием четырех повторов для каждого изолята, после того как были приготовлены логарифмические разведения в нормальной вирус-негативной (по ВЗН) цитратной плазме. Были обнаружены все культивированные изоляты (Табл. 17).

Табл. 16 Культивированные изоляты ВЗН линии 1

Флавивирусные варианты	Концентрация (копий/мл)	% реактивных (реактивные/тестируемые образцы)
ВЗН 1	36	100,0 % (10/10)

Табл. 17 Культивированные изоляты вирусов связанного рода флавивирусов

Разведение образца	% реактивных (реактивные/валидные тестируемые повторы)			
	ЯЭ	SLEV	MVEV	KUNV
1:1,00E+02	100 % (8/8)	100 % (4/4)	100 % (4/4)	100 % (4/4)
1:1,00E+03	100 % (8/8)	100 % (4/4)	100 % (4/4)	100 % (4/4)
1:1,00E+04	100 % (8/8)	100 % (4/4)	100 % (4/4)	100 % (4/4)
1:1,00E+05	100 % (8/8)	100 % (4/4)	100 % (4/4)	100 % (4/4)
1:1,00E+06	100 % (8/8)	100 % (4/4)	100 % (4/4)	100 % (4/4)
1:1,00E+07	100 % (8/8)	100 % (4/4)	100 % (4/4)	100 % (4/4)

Культивированный изолят вируса Усути также тестировали в 3 повторах после разведения в нормальной вирус-негативной (по ВЗН) человеческой плазме с ЭДТА до концентрации 1,0E+06 копий/мл. Вирус был обнаружен во всех трех повторах.

Аналитическая специфичность

Аналитическую специфичность теста **cobas® WNV** определяли методом оценки перекрестной реактивности при тестировании 27 микроорганизмов в концентрации 10^6 частиц, копий или БОЕ/мл, включая 19 вирусных изолятов, 6 бактериальных штаммов и 1 изолят дрожжей (Табл. 18). Микроорганизмы вводили в нормальную вирус-негативную (по ВЗН) человеческую плазму с ЭДТА и тестировали в отсутствие и в присутствии ВЗН, внесенного в концентрации примерно $3 \times \text{LoD}$ теста **cobas® WNV**. Тестировавшиеся микроорганизмы не вызывали перекрестную реактивность и не оказывали интерферирующего влияния при проведении теста **cobas® WNV**.

Табл. 18 Микроорганизмы, тестировавшиеся для определения аналитической специфичности

Вирусы	Флавивирус	Бактерии	Дрожжи
Аденовирус типа 5	Вирус Денге типа 1	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Цитомегаловирус		<i>Propionibacterium acnes</i>	
Вирус Эпштейна – Барр		<i>Staphylococcus aureus</i>	
Вирус простого герпеса типа 1		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
Вирус простого герпеса типа 2		<i>Streptococcus viridans</i>	
Вирус гепатита А		<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
Вирус гепатита В			
Вирус гепатита С			
Вирус гепатита Е			
Вирус гепатита G			
Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-1 группы M)			
Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-2)			
Т-клеточный лимфотропный вирус человека, тип I			
Т-клеточный лимфотропный вирус человека, тип II			
Вирус герпеса человека 6 В			
Вирус гриппа А			
Вирус чикунгунья			
Вирус варицелла зостер			

Образцы плазмы, полученные от пациентов с клинически подтвержденными заболеваниями (Табл. 19), тестировали в отсутствие или в присутствии ВЗН, внесенного в концентрации примерно $3 \times \text{LoD}$ теста **cobas® WNV**. Данные заболевания не вызывали перекрестную реактивность и не оказывали интерферирующего влияния при проведении теста **cobas® WNV**.

Табл. 19 Образцы от пациентов с клинически подтвержденным заболеванием, тестировавшиеся для определения аналитической специфичности

Заболевание		
Аденовирус типа 5	Вирус гепатита А	Т-клеточный лимфотропный вирус человека, тип II
Цитомегаловирус	Вирус гепатита В	Вирус простого герпеса типа 1
Вирус Денге	Вирус гепатита С	Вирус простого герпеса типа 2
Вирус Эпштейна – Барр	Т-клеточный лимфотропный вирус человека, тип I	Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ-1)

Аналитическая специфичность: интерферирующие вещества

Эндогенные интерферирующие вещества

Образцы плазмы с аномально повышенными уровнями триглицеридов (до 35,3 г/л), гемоглобина (до 4,7 г/л), непрямого билирубина (до 0,21 г/л), альбумина (до 61,3 г/л) и ДНК человека (до 0,004 г/л) тестировали в отсутствие и в присутствии ВЗН, внесенного в концентрации примерно $3 \times \text{LoD}$ теста cobas® WNV. Образцы, содержащие данные эндогенные вещества, не оказывали интерферирующего влияния при определении чувствительности или специфичности теста cobas® WNV.

Экзогенные интерферирующие вещества

Образцы нормальной вирус-негативной (по ВЗН) человеческой плазмы с ЭДТА, содержащие лекарственные препараты в повышенных концентрациях (Табл. 20), тестировали в отсутствие и в присутствии ВЗН, внесенного в концентрации $3 \times \text{LoD}$ теста cobas® WNV. Данные экзогенные вещества не оказывали интерферирующего влияния при определении чувствительности или специфичности теста cobas® WNV.

Табл. 20 Клинические образцы, тестируемые с лекарственными препаратами

Название исследуемого лекарственного препарата	Концентрация
Ацетаминофен	1324 мкмоль/л
Ацетилсалициловая кислота	3620 мкмоль/л
Аскорбиновая кислота	342 мкмоль/л
Аторвастатин	600 мкг-экв./л
Флуоксетин	11,2 мкмоль/л
Ибупрофен	2425 мкмоль/л
Лоратадин	0,78 мкмоль/л
Надолол	3,88 мкмоль/л
Напроксен	2170 мкмоль/л
Пароксетин	3,04 мкмоль/л
Фенилэфрин HCL	491 мкмоль/л
Сертралин	1,96 мкмоль/л

Корреляция

Сравнительные испытания теста cobas® WNV и теста cobas® TaqScreen WNV

Сравнительные испытания теста cobas® WNV и теста cobas® TaqScreen WNV проводили с использованием 100 индивидуальных NAT-положительных образцов плазмы с ЭДТА, которые были протестированы неразведенными и в разведении 1:6. Помимо этого, с использованием обоих тестов проанализировали 100 отрицательных по ВЗН образцов плазмы с ЭДТА.

При тестировании отрицательных по ВЗН образцов специфичность составила 100 % — с помощью обоих тестов были получены 100 нереактивных результатов для 100 образцов.

При тестировании положительных образцов оба теста продемонстрировали согласованность результатов, подтвержденную тестом Мак-Немара. Таким образом, была показана эквивалентность тестов cobas® WNV и cobas® TaqScreen WNV Test (Табл. 21).

Табл. 21 Корреляция при тестировании положительных образцов

Методы		Результаты для ВЗН	
cobas® TaqScreen WNV Test	cobas® WNV	Неразведенные	В разведении 1:6
Нереактивный	Нереактивный	0	0
Реактивный	Нереактивный	0	1 *
Нереактивный	Реактивный	0	1 *
Реактивный	Реактивный	100	98
Всего		100	100
Тест Мак-Немара, значение р (двусторонний, $\alpha = 0,05$)		1,0	1,0

* Один и тот же образец, протестированный в неразведенном виде (< 100 копий/мл по данным, полученным Национальным институтом генетики с использованием теста на РНК ВЗН SuperQuant), оказался реактивным в обоих тестах.

Системные ошибки

Частоту системной ошибки для теста cobas® WNV определяли при тестировании в 100 повторях образцов плазмы с ЭДТА, в которую вносили ВЗН. Данные образцы тестировали при концентрации мишени, равной примерно $3 \times \text{LoD}$ в пулах по одному образцу (неразведенными). Тестирование проводили в системе cobas® 8800 с прибором cobas p 680 (раскапывание и пулирование).

Полученные результаты показали, что все повторы дали положительный результат по ВЗН, при этом частота системной ошибки составила 0 %. Нижняя граница двустороннего 95 %-го доверительного интервала была равна 0 %, верхняя — 3,62 % [0 %: 3,62 %].

Основные характеристики набора — образцы от трупных доноров

Чувствительность

Клиническая чувствительность теста **cobas® WNV** для РНК ВЗН оценивалась при исследовании 60 индивидуальных вирус-негативных образцов от трупных доноров, из которых 35 индивидуальных образцов были классифицированы как умеренно гемолизированные (от соломенного до розового цвета), а 25 индивидуальных образцов были классифицированы как сильно гемолизированные (от красного до коричневого цвета). Кроме того, исследовано всего 60 индивидуальных вирус-негативных образцов от живых доноров. Все образцы от трупных и живых доноров разделялись равномерно на три лота реагентов, 5 вводимых методом добавок групп клинических образцов (для ВЗН) по 12 образцов в группе. В каждый образец от трупного и живого донора вносили уникальные клинические образцы (ВЗН) в концентрации примерно $5 \times \text{LoD}$ от соответствующих образцов. Каждый образец от трупных доноров разводили 1:5,6 с помощью дилуента для образцов **cobas omni Specimen Diluent** в приборе и исследовали с помощью процедуры тестирования образцов от трупных доноров.

Во всех образцах от трупных и живых доноров частота реактивности составляла 100 % (доверительный интервал 95 %: 94,0–100 %). Клиническая чувствительность, наблюдаемая для образцов от трупных доноров, была эквивалентна чувствительности, наблюдаемой для образцов от живых доноров, как подтверждено точным критерием Фишера и показано в Табл. 22.

Табл. 22 Частота реактивности в образцах от трупных и живых доноров в плазме с ЭДТА

Аналит	Образцы от трупных доноров	Образцы от живых доноров
	% реактивных (количество реактивных/ количество исследованных образцов)	% реактивных (количество реактивных/ количество исследованных образцов)
ВЗН	100 % (60/60)	100 % (60/60)
Точный критерий Фишера, значение p ($\alpha = 0,05$)	Достоверных различий в частоте реактивности нет ($p = 1,000$)	

Специфичность

Специфичность теста **cobas® WNV** в плазме с ЭДТА и образцах сыворотки крови от трупных доноров оценивалась и сравнивалась со специфичностью в образцах от живых доноров путем исследования 64 индивидуальных образцов плазмы с ЭДТА от трупных доноров, из которых 40 индивидуальных образцов были классифицированы как умеренно гемолизированные (от соломенного до розового цвета), а 24 индивидуальных образца были классифицированы как сильно гемолизированные (от красного до коричневого цвета); 62 индивидуального образца сыворотки крови от трупных доноров, из которых 42 индивидуальных образца были классифицированы как умеренно гемолизированные, а 20 индивидуальных образцов были классифицированы как сильно гемолизированные, 60 индивидуальных серонегативных образцов плазмы от живых доноров и 60 индивидуальных образцов сыворотки крови от живых доноров. Исследование проводилось с тремя независимыми лотами реагентов **cobas® WNV**. Каждый образец от трупных доноров разводили 1:5,6 с помощью дилуента для образцов **cobas omni Specimen Diluent** в приборе и исследовали с помощью процедуры тестирования образцов от трупных доноров. Все образцы плазмы с ЭДТА и сыворотки от трупных и живых доноров были нереактивными, что говорит о 100 % специфичности. Специфичность, наблюдаемая в образцах от трупных доноров, была эквивалентна специфичности, наблюдаемой в образцах от живых доноров, как подтверждено точным критерием Фишера ($\alpha = 0,05$) и показано в Табл. 23.

Табл. 23 Частота реактивности в образцах от трупных и живых доноров в плазме с ЭДТА и сыворотке крови

Матрикс	Тип образцов	Число нерактивных	Число валидных образцов	% нерактивных	Двусторонний доверительный интервал 95 %
Плазма с ЭДТА	Трупный донор	64	64	100 %	94,4–100 %
	Живой донор	60	60	100 %	94,0–100 %
Сыворотка крови	Трупный донор	62	62	100 %	94,2–100 %
	Живой донор	60	60	100 %	94,0–100 %
Общие результаты при применении точного критерия Фишера ($\alpha = 0,05$)		Специфичность для образцов от трупных и живых доноров эквивалентна: точный критерий Фишера, $p = 1,000$			

Воспроизводимость

Воспроизводимость теста **cobas® WNV** в системах **cobas® 6800/8800** определялась с помощью 20 образцов плазмы с ЭДТА от трупных доноров (умеренно или сильно гемолизированных), в которые вносили вторичный стандарт Roche для РНК ВЗН до концентрации примерно $5 \times \text{LoD}$ теста **cobas® WNV**. Результаты сравнивали с воспроизводимостью, полученной при использовании 20 образцов плазмы с ЭДТА от живых доноров, в которые вносили вторичный стандарт Roche до концентрации примерно $5 \times \text{LoD}$ теста **cobas® WNV**.

Тестирование выполняли при следующих переменных факторах:

- вариабельность между днями на протяжении 6 дней;
- вариабельность между лотами для 3 разных лотов набора реагентов теста **cobas® WNV**;

Один повтор тестировался с каждым из трех лотов реагентов в течение шести дней для 18 повторов образцов от трупных и живых доноров. Каждый образец от трупных доноров разводили 1:5,6 с помощью дилуента для образцов **cobas omni Specimen Diluent** в приборе и исследовали с помощью процедуры тестирования образцов от трупных доноров. Все валидные данные по воспроизводимости оценивались путем сравнения частоты реактивности образцов от живых доноров и образцов от трупных доноров (двусторонний доверительный интервал 95 %) среди всех переменных факторов. Значение p точного критерия Фишера рассчитывалось для исследования статистической значимости различия между процентами реактивности, наблюдаемыми в образцах от трупных и живых доноров. Значимых различий не наблюдалось.

Тест **cobas® WNV** воспроизводим в течение нескольких дней с несколькими лотами реагентов для образцов от трупных и живых доноров. Результаты вариабельности между лотами набора реагентов приведены в Табл. 24.

Табл. 24 Воспроизводимость теста **cobas® WNV** для реагентов от лота к лоту для образцов от трупных и живых доноров

Аналит	Лот набора реагентов	Тип образцов	% реактивных (реактивные/ валидные повторы)	Нижний предел доверительного интервала 95 %	Верхний предел доверительного интервала 95 %	Значимое различие при применении точного критерия Фишера ($\alpha = 0,05$)
ВЗН	1	Трупный	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	Значение $p = 1,0000$
		Живой донор	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	2	Трупный	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	Значение $p = 1,0000$
		Живой донор	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	
	3	Трупный	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	Значение $p = 1,0000$
		Живой донор	100,0 % (120/120)	97,0 %	100,0 %	

Клинические испытания теста

Клиническая чувствительность: тестирование заведомо положительных по вирусу Западного Нила образцов

Клиническая чувствительность теста **cobas® WNV** оценивалась с использованием 530 индивидуальных клинических образцов, которые были заведомо определены как положительные по результатам теста NAT. Исследование проводилось в четырех испытательных лабораториях, в каждой из которых тестировалось примерно 135 образцов, как неразведенных, так и в разведении 1:6, с использованием трех разных лотов набора реагентов **cobas® WNV**. Семнадцать из 530 индивидуальных клинических образцов были исключены из статистического анализа согласно протоколу, поскольку они не соответствовали критериям включения по вирусной нагрузке ВЗН. Таким образом, в анализ было включено 513 образцов; однако для двух неразведенных образцов не был получен валидный результат, поэтому в анализ было включено только 511 результатов неразведенных образцов. Все 513 разведенных образцов показали валидные результаты.

Чувствительность теста **cobas® WNV** при использовании неразведенных образцов в этом исследовании составила 100 % (95%-ый доверительный интервал: 99,3–100 %), а для разведенных (в разведении 1:6) — 98,8 % (95%-ый доверительный интервал: 97,5–99,5 %) (Табл. 25). Шесть нереактивных разведенных образцов были получены из неразведенных образцов с низкими титрами вируса.

Табл. 25 Клиническая чувствительность для заведомо положительных по вирусу Западного Нила образцов

	Число тестируемых образцов	Число реактивных образцов	Число нереактивных образцов	Чувствитель- ность (%)	Чувствительность (95%-ый доверительный интервал)	
					Нижний предел	Верхний предел
Неразведенные	511 *	511	0	100	99,3	100
1:6	513	507	6	98,8 %	97,5	99,5

* Для двух неразведенных образцов не были получены достоверные результаты.

Клиническая специфичность

Клиническую специфичность теста **cobas® WNV** оценивали путем тестирования случайно выбранных донаций крови в четырех независимых лабораториях. Были протестированы индивидуальные образцы и образцы в пулах по шесть штук. В исследовании использовались три разных лота набора реагентов **cobas® WNV**. Показатель клинической специфичности теста **cobas® WNV** рассчитывали как процент (95%-ый двусторонний доверительный интервал) доноров с отрицательным статусом по ВЗН, у которых были получены нереактивные результаты с помощью теста **cobas® WNV**. Было использовано 63 243 пригодных для тестирования донаций при тестировании пулов и 10 823 пригодных для тестирования индивидуальных донаций.

Результаты тестирования пулов

Табл. 26 демонстрирует расчет клинической специфичности теста **cobas® WNV** для 63 243 пригодных для тестирования доноров при тестировании пулов. Клиническая специфичность теста **cobas® WNV** по результатам тестирования пулов в этом исследовании составила 100,000 % (63 243/63 243; 95%-ый доверительный интервал: 99,994–100,000 %).

Табл. 26 Клиническая специфичность теста **cobas® WNV** при тестировании пулов

Результат cobas® WNV	Статус донации по ВЗН *		Всего
	Положительный	Отрицательный	
Реактивный по ВЗН	0	0	0
Нереактивный по ВЗН	0	63 243	63 243
Всего	0	63 243	63 243
Клиническая специфичность (95 %-ый доверительный интервал)	-	100,000 % (99,994 %, 100,000 %)	-

* Статус донора по ВЗН назначался алгоритмически на основе картины реактивности теста по индексу донаций и на основе последующего тестирования донаций (при наличии).

Специфичность теста **cobas® WNV** для пула по индексу донаций составила 100,000 % (10 573/10 573; 95%-ый доверительный интервал: 99,964–100,000 %). Ни один из 10 573 пулов из шести образцов не оказался реактивным по результатам теста **cobas® WNV**. Частота невалидных результатов для пулированных образцов по итогам внутреннего контроля или из-за нарушения работы оборудования составила 1,6 %.

Результаты тестирования индивидуальных образцов

Табл. 27 демонстрирует расчет клинической специфичности теста **cobas® WNV** для 10 823 пригодных для тестирования доноров при индивидуальном тестировании. Клиническая специфичность теста **cobas® WNV** по результатам тестирования индивидуальных донаций в этом исследовании составила 100,000 % (10 823/10 823; 95%-ый доверительный интервал: 99,965–100,000 %). Частота невалидных результатов для индивидуальных образцов по итогам внутреннего контроля, из-за нарушения работы оборудования, отклонений от протокола или иных инцидентов составила 0,3 %.

Табл. 27 Клиническая специфичность теста **cobas® WNV** при тестировании индивидуальных образцов

Результат cobas® WNV	Статус донации по ВЗН *		Всего
	Положительный	Отрицательный	
Реактивный по ВЗН	0	0	0
Нереактивный по ВЗН	0	10 823	10 823
Всего	0	10 823	10 823
Клиническая специфичность (95 %-ый доверительный интервал)		100,000 % (99,965 %, 100,000 %)	

* Статус донора по ВЗН назначался алгоритмически на основе картины реактивности теста по индексу донаций и на основе последующего тестирования донаций (при наличии).

Воспроизводимость

Воспроизводимость теста **cobas® WNV** для использования в системах **cobas® 6800/8800** была установлена путем тестирования панели из восьми образцов, состоящей из двух отрицательных образцов плазмы и двух положительных по ВЗН образцов в трех различных концентрациях (приблизительно 0,5 ×, 1,0 × и 3,0 × LoD теста **cobas® WNV**).

Операторы в каждой из трех лабораторий проводили тестирование с использованием системы **cobas® 8800** в течение пяти дней с каждым из трех лотов набора реагентов **cobas® WNV**, выполняя по две валидные постановки панелей за день (каждая постановка = одна панель + два контроля), чтобы провести до 180 тестирований на каждый тип вируса, содержащийся в образцах в панели, при каждой из трех концентраций.

Все валидные постановки и результаты тестирований были проанализированы путем расчета процентной доли реактивных результатов теста для каждого образца панели (Табл. 28). Данное исследование показало, что результаты теста **cobas® WNV** для систем **cobas® 6800/8800** воспроизводимы в отношении всех оцениваемых переменных (лот, лаборатория/прибор, день, постановка и результаты внутри постановки) при обнаружении ВЗН.

Табл. 28 Результаты тестов, обобщенные по категориям: лаборатория, лот, день и постановка (положительные образцы панели)

Вирусная мишень	Концентрация вирусной нагрузки	Лаборатория		Лот		День		Постановка	
		ИД	% положительных результатов	ИД	% положительных результатов	ИД	% положительных результатов	ИД	% положительных результатов
ВЗН	0,5 × LoD	1	86,7 % (52/60)	1	85,0 % (51/60)	1	94,4 % (34/36)	1	81,1 % (73/90)
		2	90,0 % (54/60)	2	91,7 % (55/60)	2	72,2 % (26/36)	2	91,1 % (82/90)
		3	81,7 % (49/60)	3	81,7 % (49/60)	3	88,9 % (32/36)	-	-
		-	-	-	-	4	86,1 % (31/36)	-	-
		-	-	-	-	5	88,9 % (32/36)	-	-
	1,0 × LoD	1	95,0 % (57/60)	1	96,7 % (58/60)	1	86,1 % (31/36)	1	93,3 % (83/89)
		2	100,0 % (59/59)	2	88,3 % (53/60)	2	94,4 % (34/36)	2	92,2 % (83/90)
		3	83,3 % (50/60)	3	93,2 % (55/59)	3	94,3 % (33/35)	-	-
		-	-	-	-	4	94,4 % (34/36)	-	-
		-	-	-	-	5	94,4 % (34/36)	-	-
	3,0 × LoD	1	98,3 % (59/60)	1	98,3 % (59/60)	1	100,0 % (36/36)	1	98,9 % (89/90)
		2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (60/60)	2	100,0 % (36/36)	2	100,0 % (90/90)
		3	100,0 % (60/60)	3	100,0 % (60/60)	3	97,2 % (35/36)	-	-
		-	-	-	-	4	100,0 % (36/36)	-	-
		-	-	-	-	5	100,0 % (36/36)	-	-

Дополнительная информация

Основные характеристики теста

Тип образцов	Плазма и сыворотка
Минимальный необходимый объем образца от живого донора	1000 мкл*
Обрабатываемый объем образца от живого донора	850 мкл
Минимальный необходимый объем образца от трупного донора	300 мкл*
Обрабатываемый объем образца от трупного донора	150 мкл

* У пробирок, используемых для тестирования, может быть иной мертвый объем, и требуемый минимальный объем может быть больше или меньше. Обратитесь к местному представителю сервисной службы Roche за дополнительной информацией.

Условные обозначения

Приведенные ниже символы применяются для маркировки продукции для ПЦР-диагностики компании Roche.

Табл. 29 Символы, применяемые для маркировки продукции для ПЦР-диагностики компании Roche

Age/DOB	Возраст или дата рождения		Устройство не для исследования по месту лечения	QS IU/PCR	МЕ КС на ПЦР-реакцию; при подсчете результатов значения представляйте в виде Международных единиц (МЕ) КС на ПЦР-реакцию.
	Вспомогательное программное обеспечение		Устройство не предназначено для самостоятельного тестирования	SN	Серийный номер
Assigned Range [copies/mL]	Заданный диапазон (копий/мл)		Дистрибьютер (Примечание. Соответствующая страна/регион могут быть указаны под символом.)	Site	Лаборатория
Assigned Range [IU/mL]	Заданный диапазон (МЕ/мл)		Не использовать повторно	Procedure Standard	Стандартная процедура
EC REP	Авторизованный представитель в Европейском сообществе		Женский	STERILE EO	Стерилизовано этиленоксидом
BARCODE	Список штрихкодов		Только для испытаний IVD		Хранить в темноте
LOT	Номер лота	GTIN	Глобальный номер товара		Температурный диапазон
	Биологическая опасность		Импортер		Файл с описанием теста
REF	Номер по каталогу	IVD	Медицинское устройство для диагностики <i>in vitro</i>		Этой стороной вверх
CE	СЕ маркировка соответствия требованиям ЕС — это изделие соответствует применимым требованиям для выдачи сертификата в ЕС на медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>	LLR	Нижний предел заданного диапазона	Procedure UltraSensitive	Сверхчувствительная процедура
Collect Date	Дата сбора		Мужской	UDI	Уникальный идентификатор устройства
	Обратитесь к инструкции		Производитель	ULR	Верхний предел заданного диапазона
	Рассчитано на <n> тестов	CONTROL -	Отрицательный контроль	Urine Fill Line	Линия заполнения мочой
CONTENT	Состав набора		Нестерильно	Rx Only	Только для США. Федеральное законодательство ограничивает право продажи данного устройства терапевтом или по его рецепту.
CONTROL	Контроль		Ф. И. О. пациента		Использовать до
	Дата производства		Номер пациента		
	Устройство для исследования по месту лечения		Оторвите здесь		
	Устройство для самостоятельного тестирования	CONTROL +	Положительный контроль		
		QS copies / PCR	Копии количественного стандарта (КС) на ПЦР-реакцию; при подсчете результатов значения представляйте в виде копий КС на ПЦР-реакцию.		

Техническая поддержка

Для получения технической поддержки (помощи) обратитесь в местный филиал в вашем регионе:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Производитель и импортёр

Табл. 30 Производитель и импортёр



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

Сделано в США



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Товарные знаки и патенты

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

Авторское право

© Roche Molecular Systems, Inc., 2023.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Литература

1. Petersen LR, Brault AC, Nasci RS. West Nile virus: review of the literature. *JAMA*. 2013;310:308-315.
2. Gray TJ, Webb CE. A review of the epidemiological and clinical aspects of West Nile virus. *Intl J Gen Med*. 2014;7:193-203.
3. Kuno G, Chang GJ, Tsuchiya KR, Karabatsos N, Cropp CB. Phylogeny of the genus Flavivirus. *J Virol*. 1998;72:73-83.
4. Burke DS, Monath TP. Flavirviruses. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, et al. editors, *Fields' Virology*, vol. 1. 4th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2001:pp. 1043-1126.
5. Mackenzie JS, Gubler DJ, Petersen LR. Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile, and dengue viruses. *Nat Med*. 2004;10 Suppl 12:S98-S109.
6. Beasley DW, Davis CT, Whiteman M, Granwehr B, Kinney RM, Barrett AD. Molecular determinants of virulence of West Nile virus in North America. *Arch Virol Suppl*. 2004;18:35-41.
7. Papa A, Xanthopoulou K, Gewehr S, Mourelatos S. Detection of West Nile virus lineage 2 in mosquitoes during a human outbreak in Greece. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17:1176-1180.
8. Sambri V, Capobianchi M, Charrel R, et al. West Nile virus in Europe: emergence, epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19:699-704.
9. Petersen LR, Busch MP. Transfusion-transmitted arboviruses. *Vox Sang*. 2010;98:495-503.
10. Artsob H, Gubler DJ, Enria DA, et al. West Nile Virus in the New World: trends in the spread and proliferation of West Nile Virus in the Western Hemisphere. *Zoonoses Public Health*. 2009;56:357-369.
11. May FJ, Davis CT, Tesh RB, Barrett AD. Phylogeography of West Nile virus: from cradle of evolution in Africa to Eurasia, Australia, and the Americas. *J Virol*. 2011;85:2964-2974.
12. Petersen LR, Hayes EB. West Nile virus in the Americas. *Med Clin North Am*. 2008;92:1307-1322.
13. Nash D, Mostashari F, Fine A, et al.; 1999 West Nile Outbreak Response Working Group. The outbreak of West Nile virus infection in the New York area 1999. *N Engl J Med*. 2001;344:1807-1814.
14. Pealer LN, Marfin AA, Petersen LR, et al and the West Nile Virus Transmission Investigation Team. Transmission of West Nile Virus through blood transfusion in the United States in 2002. *N Engl J Med*. 2003;349:1236-1245.
15. Harrington T, Kuehnert MJ, Kamel H, et al. West Nile virus infection transmitted by blood transfusion. *Transfusion*. 2003;43:1018-1022.
16. Nett RJ, Kuehnert MJ, Ison MG, Orlowski JP, Fischer JM, Staples JE. Current practices and evaluation of screening solid organ donors for West Nile virus. *Transpl Infect Dis*. 2012;14:268-277.
17. Biggerstaff BJ, Petersen LR. Estimated risk of West Nile virus transmission through blood transfusion during an epidemic in Queens, New York City. *Transfusion*. 2002;42:1019-1026.
18. Custer B, Kamel H, Kiely NE, et al. Associations between West Nile virus infection and symptoms reported by blood donors identified through nucleic acid test screening. *Transfusion*. 2009;49:278-288.
19. Busch MP, Wright DJ, Custer B, et al. West Nile virus infections projected from blood donor screening data, United States, 2003. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:395-402.
20. Sejvar JJ, Haddad MB, Tierney BC, et al. Neurologic manifestations and outcome of West Nile virus infection. *JAMA*. 2003;290:511-515.
21. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Fatal West Nile Virus infection after probable transfusion-associated transmission-Colorado, 2012. *MMWR*. 2013;62(31):622-624.

22. Kamar N, Bendell R, Legrand-Abravanel F, et al. Hepatitis E. *Lancet*. 2012;379:2477-2488.
23. AABB website; West Nile Virus Vigilance Network (for West Nile virus 2006-2010). Data compiled by Susan L. Stramer, American Red Cross, available at <http://www.aabb.org/research/hemovigilance/Pages/wnv.aspx>.
24. Zou S, Foster GA, Dodd RY, Petersen LR, Stramer SL. West Nile fever characteristics among viremic persons identified through blood donor screening. *J Infect Dis*. 2010;202:1354-1361.
25. Mostashari F, Bunning ML, Kitsutani PT, et al. Epidemic West Nile encephalitis, New York, 1999: results of a household-based seroepidemiological survey. *Lancet*. 2001;358:261-264.
26. Sejvar JJ, Curns AT, Welburg L, et al. Neurocognitive and functional outcomes in person recovering from West Nile virus illness. *J Neuropsychol*. 2008;2(pt.2):477-499.
27. Burton JM, Kern RZ, Halliday W, et al. Neurological manifestations of West Nile virus infection. *Can J Neurol Sci*. 2004;31:185-193.
28. Robinson RL, Shahida S, Madan N, Rao S, Khardori N. Transient parkinsonism in West Nile virus encephalitis. *Am J Med*. 2003;115:252-253.
29. Sejvar JJ, Bode AV, Marfin AA, et al. West Nile virus-associated flaccid paralysis. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:1021-1027.
30. Leis AA, Stokic DS. Neuromuscular manifestations of west nile virus infection. *Front Neurol*. 2012;3:37.
31. Emig M, Apple DJ. Severe West Nile virus disease in healthy adults. *Clin Infect Dis*. 2004;38:289-292.
32. Sadek JR, Pergam SA, Harrington JA, et al. Persistent neuropsychological impairment associated with West Nile virus infection. *J Clin Exp Neuropsychol*. 2010;32:81-87.
33. Lindsey NP, Staples JE, Lehman JA, Fischer M; Center for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for human West Nile virus disease. *MMWR Surveill Summ*. 2010;59:1-17.
34. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-128.
35. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-493.
36. 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;80:869-878.
37. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY)*. 1992;10:413-417.
38. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-994.
39. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
40. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.
41. Pisani G, Pupella S, Cristiano K, et al. Detection of West Nile virus RNA (lineages 1 and 2) in an external quality assessment programme for laboratories screening blood and blood components for West Nile virus by nucleic acid amplification testing. *Blood Transfus*. 2012;10: 515-520.

Редакция документа

Сведения о редакции документа	
Doc Rev. 1.0 05/2023	Первая публикация. Исправлена типографическая ошибка в Табл. 2.

С кратким отчетом по безопасности и эффективности можно ознакомиться по следующей ссылке:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>