

cobas[®] EBV

Kvantitatívny test nukleových kyselín určený na použitie v systémoch cobas[®] 5800/6800/8800

Určené na diagnostické použitie *in vitro*

cobas[®] EBV

P/N: 09040943190

Určené na použitie v systéme cobas[®] 5800

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

Určené na použitie v systémoch cobas[®] 6800/8800

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 08688214190 alebo

P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190 alebo

P/N: 09051953190

Obsah

Účel použitia	4
Súhrn a vysvetlenie testu	4
Činidlá a materiály	7
cobas® EBV činidlá a regulátory	7
Činidlá cobas® omni na prípravu vzoriek	10
Požiadavky na skladovanie činidiel	11
Požiadavky na manipuláciu s činidlami pre systém cobas® 5800	12
Požiadavky na manipuláciu s činidlami pre systémy cobas® 6800/8800	12
Ďalšie vyžadované materiály pre systém cobas® 5800	13
Ďalšie vyžadované materiály pre systémy cobas® 6800/8800	13
Vyžadované prístrojové vybavenie a softvér	14
Preventívne opatrenia a požiadavky na manipuláciu	15
Výstrahy a preventívne opatrenia	15
Manipulácia s činidlami	15
Vhodné laboratórne postupy	16
Odber, preprava a skladovanie vzoriek	17
Vzorky	17
Návod na použitie	18
Procedurálne poznámky	18
Spustenie testu cobas® EBV v systéme cobas® 5800	19
Spustenie testu cobas® EBV v systémoch cobas® 6800/8800	20
Výsledky	21
Kontrola kvality a platnosť výsledkov v systéme cobas® 5800	21
Výsledky kontrolných vzoriek v systéme cobas® 5800	21
Kontrola kvality a platnosť výsledkov v systémoch cobas® 6800/8800	21
Kontrolné príznaky v systémoch cobas® 6800/8800	22

Interpretácia výsledkov.....	22
Interpretácia výsledkov v systéme cobas ® 5800	23
Interpretácia výsledkov v systémoch cobas ® 6800/8800	23
Procedurálne obmedzenia.....	23
Hodnotenie neklinickej účinnosti.....	24
Kľúčové ukazovatele účinnosti použité v systémoch cobas ® 6800/8800	24
Detekčný limit (LoD)	24
Lineárny rozsah.....	25
Presnosť – v laboratóriu	26
Overenie genotypu	27
Špecifickosť	27
Analytická špecifickosť.....	28
Analytická špecifickosť – interferujúce látky	28
Korelácia metódy	29
Zlyhanie celého systému	30
Krížová kontaminácia	30
Hodnotenie klinickej účinnosti použité v systémoch cobas® 6800/8800.....	31
Reprodukovateľnosť cobas ® EBV	31
Účinnosť cobas ® EBV.....	32
Ekvivalencia systémov/porovnanie systémov	34
Ďalšie informácie	35
Kľúčové funkcie testu.....	35
Symboly	36
Technická podpora	37
Výrobca a dovozca	37
Ochranné známky a patenty	37
Autorské práva.....	37
Referenčné materiály	38
Revízia dokumentu	39

Účel použitia

cobas® EBV je *in vitro* amplifikačný test nukleových kyselín na kvantifikáciu vírusu Epstein-Barrovej (EBV) DNA v ľudskej plazme EDTA pri použití systémov **cobas® 5800/6800/8800**.

cobas® EBV je určený na použitie ako pomoc pri diagnostike a manažmente EBV u pacientov s transplantátom. U pacientov, ktorí absolvujú monitorovanie EBV, sa môžu použiť sériové merania DNA, aby sa zistila potreba potenciálnej zmeny v liečbe a aby sa posúdila vírusová reakcia na liečbu.

Výsledky testu **cobas® EBV** sa musia interpretovať v rámci kontextu všetkých príslušných klinických testov a laboratórnych nálezov.

Súhrn a vysvetlenie testu

Základné informácie

Prijemcovia transplantátov podstupujú zvýšené riziko mnohých vírusových a bakteriálnych infekcií, u ktorých je väčšia pravdepodobnosť, že budú mať silné nepriaznivé účinky u populácie pacientov s transplantátom v porovnaní s bežnou zdravou populáciou. Toto zvýšené riziko sa dá čiastočne pripísať oslabenej funkčnosti imunitného systému spôsobenej imunosupresívnymi liekmi, ktoré dostávajú pacienti s transplantátom, aby sa znížila pravdepodobnosť odmietnutia transplantátu.^{1,2}

EBV je súčasťou skupiny herpetických vírusov. Je to dvojvláknový vírus so zvinutou deoxyribonukleovou kyselinou (DNA) (~172 kb). Dva hlavné genotypy EBV, typ 1 a typ 2, sa podarilo zdefinovať podľa odlišnosti génu EBNA-2. Infekcie EBV u ľudí sú celkom bežné. Nakazených je viac ako 90 % dospelých a latentná infekcia pretrváva celý život. EBV spôsobuje infekčnú mononukleózu u podskupiny novoinfikovaných mladistvých a dospelých a spája sa s viacerými druhmi rakoviny, vrátane nasopharyngeal carcinoma, Burkitt lymphoma a Hodgkin lymphoma. EBV môže byť príčinou lymfoproliferatívnych ochorení u osôb s vrodenu alebo získanou imunitnou nedostatočnosťou, a to vrátane príjemcov transplantátov a pacientov s vírusom ľudskej imunitnej nedostatočnosti/získaným syndrómom imunitnej nedostatočnosti (HIV/AIDS).³

U príjemcov transplantátov môže EBV spôsobiť chorobu buď cez opätovnú aktivizáciu latentného vírusu z B-pamäťových buniek alebo cez novú primárnu infekciu, a to predovšetkým u EBV-negatívnych príjemcov transplantátov, ktorí dostávajú transplantáty od EBV-pozitívnych darcov.³ U týchto pacientov je najväčšou formou choroby súvisiacou s EBV post-transplantačné lymfoproliferatívne ochorenie (PTLD), ktoré je výsledkom nekontrolovaného rozmnožovania lymfocytov, zvyčajne B-buniek.⁴ Celkovo je > 70 % prípadov PTLD u príjemcov transplantátov spojených s infekciou EBV. Najväčšie riziko PTLD sa vyskytuje počas prvého roku po transplantácii a > 90 % prípadov PTLD, ktoré sa vyskytnú počas tohto obdobia, je spojených s EBV. Do 20 % prípadov PTLD, ktoré sa vyskytnú po prvom roku po transplantácii, sú EBV-negatívne.^{4,5}

Rizikové faktory pre skorý vznik PTLD zahŕňajú EBV-negatívny stav séra u príjemcu pri transplantácii, mladší vek, vystavenie protilátkam poškodzujúcim lymfocyty a druh transplantovaného orgánu.^{5,6}

Včasná identifikácia primárnych infekcií EBV a monitorovanie hladiny DNA môžu napomôcť pri včasnom terapeutickom zásahu, aby sa predišlo postupu choroby spojenej s EBV. Smernice odporúčajú pravidelné monitorovanie EBV použitím kvantitatívnych testov nukleových kyselín (NATs), obzvlášť u príjemcov transplantátov, ktorí sú EBV-negatívni pacienti s transplantátom s vysokým rizikom.^{4,5} Zatiaľ čo presný medicínsky relevantná vírusová hranica je ešte stále predmetom

diskusie kvôli variabilite medzi jednotlivými analýzami, koncept kritickej hranice sa javí ako platný a bol predmetom správ štúdií prírodných dejín, ukazujúc, že vyššie hodnoty EBV DNA sú korelované s vyšším rizikom získania chorôb EBV a PTLD.^{4, 5, 7} Ako plazma, tak aj druhy vzoriek plnej krvi sa používajú na EBV testovanie, ale dôkaz poukazuje na to, že plazma je vhodnejšia pre zachytenie PTLD.^{4, 5, 7, 8}

Bežné terapeutické zákroky na zníženie úrovne EBV DNA a prevenciu vzniku PTLD zahŕňajú obmedzenie dávok imunosupresívnych liekov a liečenia pomocou B-buniek, ktoré znižujú protilátky.⁷ Preventívna terapia na zníženie úrovne EBV DNA je úspešná u väčšiny pacientov, aj keď do 20 % pacientov môže stále dostať PTLD, obzvlášť tí, ktorí sú viac ako rok po transplantácii.⁷

Väčšina laboratórnych testov na kvantifikáciu EBV nie je štandardizovaná, čo má za následok medzilaboratórnu a medzianalýzovú variabilitu vo výsledkoch úrovne DNA a zabraňuje porovnaniu úrovni DNA získaných v rozličných laboratóriách a analýzach.⁷ Aby sa riešil tento problém, WHO vytvorila medzinárodný štandard pre kvantifikáciu na stanovenie množstva EBV, pričom umožnila vykazovať štandardizované testy v IU/ml.⁹ Formálne ohodnotenie reprodukovateľnosti a platnosti úrovni EBV DNA je kritické pre zabezpečenie konzistentných výsledkov medzi laboratóriami za účelom vylepšenia klinického manažmentu pacientov so zvýšeným rizikom pre získanie chorôb spojených s EBV a PTLD.

Odôvodnenie použitia NAT testovania

Sérológie EBV darcu a príjemcu sa určia pred transplantáciou, aby sa pomohlo určiť riziko chorôb spojených s EBV u pacienta s transplantátom, ale sérológia nie je dostatočne citlivá alebo presná na monitorovanie pacientov po transplantácii. Metódy na kultiváciu EBV sú pomalé a majú nízku predpovednú hodnotu v tejto oblasti. Priame zachytenie EBV DNA pomocou PCR v reálnom čase potenciálne ponúka širokú dynamickú škálu, presnosť a vysokú citlivosť a špecifickosť.

Vysvetlenie testu

cobas® EBV je kvantitatívny test, ktorý sa aplikuje pomocou systémov **cobas® 5800/6800/8800**. Test **cobas® EBV** umožňuje zaznamenanie a stanovenie množstva EBV DNA v EDTA plazme u infikovaných pacientov. Množstvo vírusov je kvantifikované proti kvantifikačnému štandardu bez EBV DNA (DNA-QS), ktorý sa aplikuje do každej vzorky počas jej spracovania. DNA-QS slúži takisto na monitorovanie celkovej prípravy vzorky a procesu amplifikácie procesu PCR. Okrem toho test používa tri externé kontroly: vysokú titer pozitívnu, nízku titer pozitívnu a negatívnu kontrolu. Vysoko pozitívna a nízko pozitívna externá kontrola sa vyrába riedením zo zásobného materiálu s titrom nadväzujúcim na medzinárodný štandard EBV WHO. Každá šarža amplifikačnej/detekčnej súpravy je kalibrovaná podľa medzinárodného štandardu EBV WHO.

Princípy procedúry

cobas® EBV je založený na plne automatizovanej príprave vzoriek (extrakcia nukleových kyselín a vyčistenie), po ktorých nasleduje amplifikácia PCR a detekcia. Systém **cobas® 5800** je navrhnutý ako jeden integrovaný prístroj. Systémy **cobas® 6800/8800** pozostávajú z modulu na podávanie vzoriek, prenosového modulu, spracovacieho modulu a analytického modulu. Automatizovaný manažment údajov sa vykonáva pomocou softvéru **cobas® 5800** alebo **cobas® 6800/8800**, ktorý priraduje výsledky testovania všetkých testov buď ako cieľ nezistený, zistený EBV DNA < LLoQ (dolný limit kvantifikácie), zistený EBV DNA > ULoQ (horný limit kvantifikácie), alebo hodnota v lineárnom rozsahu $LLoQ < x < ULoQ$. Výsledky sa dajú sledovať priamo na systémovej obrazovke, môžu byť exportované alebo vytlačené ako správa.

Nukleové kyseliny zo vzoriek pacientov a pridané DNA-QS lambda molekuly sa extrahujú simultánne. V skratke, vírusová nukleová kyselina sa uvoľňuje pridaním proteínázy a dezintegračného činidla do vzorky. Uvoľnená nukleová kyselina sa viaže na silikátový povrch pridaných magnetických guľôčok. Neviazané látky a nečistoty ako je denaturovaný proteín, bunkový odpad a potenciálne PCR inhibítory sa odstraňujú následnými krokmi premývacieho činidla a vyčistená nukleová kyselina sa vymýva zo sklenených guľôčok pomocou elučného pufru pri vysokej teplote.

Selektívna amplifikácia cieľovej nukleovej kyseliny zo vzorky sa dosahuje pomocou dvojitého špecifického prístupu cieľového vírusu z vysoko konzervovaných oblastí EBV umiestnených v géne EBV EBNA-1 a géne EBV BMRF. Selektívna amplifikácia DNA-QS sa dosahuje pomocou sekvenčne špecifických primerov, ktoré fungujú dopredu a dozadu, a ktoré sa vyberajú tak, aby neboli homologické s genómom EBV. Na amplifikáciu DNA sa používa termostabilný enzým polymerázy. Cieľové sekvencie DNA-QS sa amplifikujú simultánne s použitím univerzálneho PCR amplifikačného profilu s krokmi vopred určenej teploty a počtom cyklov. Hlavná zmes zahŕňa deoxyuridín trifosfát (dUTP) namiesto deoxytimidín trifosfátu (dTTP), ktorý je zapracovaný do čerstvo syntetizovanej DNA (amplikón).¹⁰⁻¹² Každý kontaminujúci amplikón z predchádzajúcich cyklov PCR sa po zahriatí počas prvého kroku tepelného cyklu eliminuje enzýmom AmpErase, ktorý je súčasťou zmesi PCR. Avšak novosformovaný amplikón sa neeliminuje, nakoľko enzým AmpErase sa deaktivuje, keď sa vystaví teplotám nad 55 °C.

Hlavná zmes **cobas® EBV** obsahuje dve detekčné sondy špecifické pre cieľové postupnosti EBV a jednu pre DNA-QS. Sondy sú označené cieľovo špecifickými fluorescenčnými reportérovými (indikačnými) farbivami, ktoré umožňujú súčasnú detekciu cieľových EBV a DNA-QS vo dvoch rôznych cieľových kanáloch.^{13, 14} Fluorescenčný signál intaktných sond je potláčaný zhášačom (tlmiacim farbivom). Počas kroku PCR amplifikácie vedie hybridizácia sondy k špecifickým jednovláknovým úsekom DNA k jej štiepeniu vplyvom 5' – 3' nukleázovej aktivity DNA polymerázy, čo vedie k separácii reportérových a zhášacích farbív a vzniku fluorescenčného signálu. Pri každom cykle PCR vzniká rastúce množstvo rozštiepených sond, čím súčasne dochádza k zosilneniu kumulovaného signálu reportéra. Zaznamenanie a diskriminácia PCR produktov v reálnom čase sa zavŕši meraním fluorescence uvoľnených signalizačných farieb pre vírusové ciele a DNA-QS.

Činidlá a materiály

cobas® EBV činidlá a regulátory

Materiály poskytované na test cobas® EBV uvádza Tab. 1. Požadované, no neposkytované materiály uvádza Tab. 2 až Tab. 4 a Tab. 8 až Tab. 9.

Informácie o nebezpečnosti produktu nájdete v časti **Činidlá a materiály a Preventívne opatrenia a požiadavky na manipuláciu**.

Tab. 1 cobas® EBV

cobas® EBV

Skladujte pri 2 – 8 °C

192 testovacích kaziet (P/N 09040943190)

Súčasť súpravy	Zloženie činidiel	Množstvo v súprave 192 testov
Roztok proteinázy (PASE)	Tris pufer, < 0,05 % EDTA, chlorid vápenatý, octan vápenatý, 8 % proteináza, glycerol EUH210: Na požiadanie možno poskytnúť kartu bezpečnostných údajov. EUH208: Obsahuje subtilizín z kmeňa <i>Bacillus subtilis</i> . Môže vyvolať alergickú reakciu.	22,3 ml
Štandard DNA kvantifikácie (DNA QS)	Tris pufer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % látka bez EBV DNA obsahujúca väzbu priméru bez EBV a jedinečná sondovacia oblasť (neinfekčné DNA), < 0,002 % Poly rA RNA (syntetická), < 0,1 % azid sodný	21,2 ml
Elučný pufer (EB)	Tris pufer, 0,2 % metyl-4 hydroxybenzoát	21,2 ml
Hlavná zmes činidlo 1 (MMX-R1)	Octan manganatý, hydroxid draselný, < 0,1 % azid sodný	7,5 ml
EBV hlavná zmes činidlo 2 (EBV MMX-R2)	Tricínový pufer, octan draselný, < 18 % dimetylsulfoxid, glycerol, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01 % upstream a downstream EBV priméry, < 0,01 % kvantifikačné štandardy primérov dopredu a dozadu, < 0,01 % fluorescenčne označené oligonukleotidové sondy špecifické pre EBV a EBV kvantifikačný štandard, < 0,01 % oligonukleotidový aptamér, < 0,1 % Z05D DNA polymeráza, < 0,10 % AmpErase (uracil-N-glykozyláza) (mikrobiálna), < 0,1 % azid sodný	9,7 ml

Tab. 2 cobas® EBV/BKV Control Kit**cobas® EBV/BKV Control Kit**

Skladujte pri 2 – 8 °C

Určené na použitie v systéme cobas® 5800 (P/N 09040951190)

Určené na použitie v systémoch cobas® 6800/8800 (P/N 08688214190 alebo P/N 09040951190)

Súčasti súpravy	Zloženie činidiel	Množstvo v súprave	Bezpečnostný symbol a varovanie*
EBV/BKV nízko pozitívna kontrola (EBV/BKV L(+))C)	< 0,001 % syntetický (plazmid) EBV DNA zakapsulovaný v lambda bakteriofágovom obalovacom proteíne, normálna ľudská plazma, EBV DNA nezistiteľné metódami PCR 0,1 % konzervačná látka ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  VÝSTRAHA H317: Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu. H412: Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P261: Zabráňte vdychovaniu prachu/dymu/plynu/hmly/pár/aerosólov. P273: Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P280: Používajte ochranné rukavice. P333 + P313: Ak sa prejaví podráždenie pokožky alebo sa vytvoria vyrážky: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. P362 + P364: Kontaminovaný odev vyzlečte a pred ďalším použitím vyperte. P501: Zneškodnite obsah/nádobu v zariadení schválenom na likvidáciu odpadov. 55965-84-9 Reakčná masa: 5-chlór-2-metyl-4-izotiazolín-3-ónu a 2-metyl-2H-izotiazol-3-ónu (3 : 1).
EBV/BKV vysoko pozitívna kontrola (EBV/BKV H(+))C)	< 0,001 % syntetický (plazmid) EBV DNA zakapsulovaný v lambda bakteriofágovom obalovacom proteíne, normálna ľudská plazma, EBV DNA nezistiteľné metódami PCR 0,1 % konzervačná látka ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  VÝSTRAHA H317: Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu. H412: Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P261: Zabráňte vdychovaniu prachu/dymu/plynu/hmly/pár/aerosólov. P273: Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P280: Používajte ochranné rukavice. P333 + P313: Ak sa prejaví podráždenie pokožky alebo sa vytvoria vyrážky: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. P362 + P364: Kontaminovaný odev vyzlečte a pred ďalším použitím vyperte. P501: Zneškodnite obsah/nádobu v zariadení schválenom na likvidáciu odpadov. 55965-84-9 Reakčná masa: 5-chlór-2-metyl-4-izotiazolín-3-ónu a 2-metyl-2H-izotiazol-3-ónu (3 : 1).

* Označenie bezpečnosti výrobku sa riadi hlavne usmernením EÚ pre globálny harmonizovaný systém (GHS) klasifikácie a označovania chemikálií.

** Nebezpečná látka alebo zmes.

Tab. 3 cobas® Buffer Negative Control Kit**cobas® Buffer Negative Control Kit**

Skladujte pri 2 – 8 °C

Určené na použitie v systéme cobas® 5800 (P/N 09051953190)

Určené na použitie v systémoch cobas® 6800/8800 (P/N 07002238190 alebo P/N 09051953190)

Súčasť súpravy	Zloženie činidiel	Množstvo v súprave
cobas® pufer negatívna kontrola (BUF (-) C)	Tris pufer, < 0,1 % azid sodný, EDTA, 0,002 % Poly rA RNA (syntetická)	16 ml (16 × 1 ml)

Činidlá cobas® omni na prípravu vzoriek

Tab. 4 Činidlá cobas® omni na prípravu vzoriek

Činidlá	Zloženie činidiel	Množstvo v súprave	Bezpečnostný symbol a varovanie*
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Skladujte pri 2 – 8 °C (P/N 06997546190)	Magnetické sklenené častice, Tris pufer, 0,1% metyl-4 hydroxybenzoát, < 0,1% azid sodný	480 testov	Netýka sa
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Skladujte pri 2 – 8 °C (P/N 06997511190)	Tris pufer, 0,1 % metyl-4 hydroxybenzoát, < 0,1 % azid sodný	4 × 875 ml	Netýka sa
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Skladujte pri 2 – 8 °C (P/N 06997538190)	43 % (w/w) guanidín tiokyanát**, 5 % (w/v) polidokanol**, 2 % (w/v) ditiotreitol**, dihydrát citrónanu sodného	4 × 875 ml	 NEBEZPEČENSTVO H302 + H332: Zdraviu škodlivý pri požití alebo vdýchnutí. H314: Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí. H411: Toxický pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. EUH032: Pri kontakte s kyselinami uvoľňuje veľmi toxický plyn. P273: Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P280: Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre/prostriedky na ochranu sluchu. P303 + P361 + P353: PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): vyzlečte všetky kontaminované časti odevu. Pokožku opláchnite vodou. P304 + P340 + P310: PO VDÝCHNUTÍ: presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. P305 + P351 + P338 + P310: PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: opatrne niekoľko minút oplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM/lekára. P391: Zozbierajte uniknutý produkt. 593-84-0 Guanidín tiokyanát 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Skladujte pri 15 – 30 °C (P/N 06997503190)	Dihydrát citrónanu sodného, 0,1 % metyl-4 hydroxybenzoát	4,2 l	Netýka sa

* Označenie bezpečnosti výrobku sa riadi hlavne usmernením EÚ pre globálny harmonizovaný systém (GHS) klasifikácie a označovania chemikálií.

** Nebezpečná látka alebo zmes.

Požiadavky na skladovanie činidiel

Činidlá sa musia skladovať a musí sa s nimi zaobchádzať tak, ako to uvádza Tab. 5, Tab. 6 a Tab. 7.

Keď činidlá nie sú vložené v systéme cobas® 5800 alebo systémoch cobas® 6800/8800, skladujte ich pri vhodnej teplote (Tab. 5).

Tab. 5 Skladovanie činidiel (keď činidlo nie je v systéme)

Činidlo	Teplota skladovania
cobas® EBV	2 – 8 °C
cobas® EBV/BKV Control Kit	2 – 8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2 – 8 °C
cobas® omni Lysis Reagent	2 – 8 °C
cobas® omni MGP Reagent	2 – 8 °C
cobas® omni Specimen Diluent	2 – 8 °C
cobas® omni Wash Reagent	15 – 30 °C

Požiadavky na manipuláciu s činidlami pre systém cobas® 5800

Činidlá vložené do systému cobas® 5800 sa uchovávajú pri správnej teplote a ich expiráciu monitoruje systém. Systém umožňuje použiť činidlá, iba ak sú splnené všetky podmienky, ktoré uvádza Tab. 6. Systém automaticky zabráňuje použitiu exspirovaných činidiel. Tab. 6 umožňuje používateľovi oboznámiť sa s podmienkami manipulácie s činidlami, ktoré vyžaduje systém cobas® 5800.

Tab. 6 Podmienky týkajúce sa expirácie činidiel vyžadované systémom cobas® 5800

Činidlo	Dátum expirácie súpravy	Stabilita otvorenej súpravy	Počet cyklov, pri ktorom sa môže táto súprava použiť	Stabilita v zariadení
cobas® EBV	Neexspirované	90 dní od prvého použitia	Max. 40 cyklov	Max. 36 dní**
cobas® EBV/BKV Control Kit	Neexspirované	Netýka sa*	Netýka sa	Max. 36 dní**
cobas® Buffer Negative Control Kit	Neexspirované	Netýka sa*	Netýka sa	Max. 36 dní**
cobas® omni Lysis Reagent	Neexspirované	30 dní od vloženia**	Netýka sa	Netýka sa
cobas® omni MGP Reagent	Neexspirované	30 dní od vloženia**	Netýka sa	Netýka sa
cobas® omni Specimen Diluent	Neexspirované	30 dní od vloženia**	Netýka sa	Netýka sa
cobas® omni Wash Reagent	Neexspirované	30 dní od vloženia**	Netýka sa	Netýka sa

* Činidlá na jedno použitie.

** Čas sa meria od prvého vloženia činidla do systému cobas® 5800.

Požiadavky na manipuláciu s činidlami pre systémy cobas® 6800/8800

Činidlá vložené do systémov cobas® 6800/8800 sa uchovávajú pri správnej teplote a ich expiráciu monitoruje systém. Systémy cobas® 6800/8800 umožňujú použiť činidlá, iba ak sú splnené všetky podmienky, ktoré uvádza Tab. 7. Systém automaticky zabráňuje použitiu exspirovaných činidiel. Tab. 7 umožňuje používateľovi oboznámiť sa s podmienkami manipulácie s činidlami, ktoré vyžadujú systémy cobas® 6800/8800.

Tab. 7 Podmienky týkajúce sa expirácie činidiel vyžadované systémami cobas® 6800/8800

Činidlo	Dátum expirácie súpravy	Stabilita otvorenej súpravy	Počet cyklov, pri ktorom sa môže táto súprava použiť	Stabilita v zariadení (súhrnný čas v zariadení mimo chladničky)
cobas® EBV	Neexspirované	90 dní od prvého použitia	Max. 40 cyklov	Max. 40 hodín
cobas® EBV/BKV Control Kit	Neexspirované	Netýka sa*	Netýka sa	Max. 8 hodín
cobas® Buffer Negative Control Kit	Neexspirované	Netýka sa*	Netýka sa	Max. 10 hodín
cobas® omni Lysis Reagent	Neexspirované	30 dní od vloženia**	Netýka sa	Netýka sa
cobas® omni MGP Reagent	Neexspirované	30 dní od vloženia**	Netýka sa	Netýka sa
cobas® omni Specimen Diluent	Neexspirované	30 dní od vloženia**	Netýka sa	Netýka sa
cobas® omni Wash Reagent	Neexspirované	30 dní od vloženia**	Netýka sa	Netýka sa

* Činidlá na jedno použitie.

** Čas sa meria od prvého vloženia činidla do systémov cobas® 6800/8800.

Ďalšie vyžadované materiály pre systém cobas® 5800

Tab. 8 Materiály a spotrebné materiály na použitie v systéme **cobas® 5800**

Materiál	P/N
cobas® omni Processing Plate 24	08413975001
cobas® omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas® omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Špička CORE TIPS s filtrom, 1 ml	04639642001
Špička CORE TIPS s filtrom, 300 µl	07345607001
Nádoba na tekutý odpad cobas® omni	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Vrecko na tuhý odpad alebo Vreco na tuhý odpad s vložkou	07435967001 alebo 08030073001
cobas® omni sekundárne skúmavky 13 × 75 (voliteľné)*	06438776001

* Ak potrebujete podrobný objednávací zoznam stojanov na vzorky, obráťte sa na miestneho zástupcu spoločnosti Roche.

Ďalšie vyžadované materiály pre systémy cobas® 6800/8800

Tab. 9 Materiály a spotrebný materiál pre použitie v systémoch **cobas® 6800/8800**

Materiál	P/N
cobas® omni Processing Plate	05534917001
Platnička na amplifikáciu cobas® omni	05534941001
Pipetové špičky cobas® omni	05534925001
Nádoba na tekutý odpad cobas® omni	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Vreco na tuhý odpad a nádoba na tuhý odpad alebo Vreco na tuhý odpad s vložkou a aktualizácia zásuvky na súpravu pre tuhý odpad	07435967001 a 07094361001 alebo 08030073001 a 08387281001

Vyžadované prístrojové vybavenie a softvér

Softvér systému **cobas**® 5800 a analytický balík testu **cobas**® EBV pre systém **cobas**® 5800 sa musia nainštalovať do prístroja **cobas**® 5800. Softvér Data Manager a PC pre systém **cobas**® 5800 sa dodajú spolu so systémom.

Softvér **cobas**® 6800/8800 a analytický balík **cobas**® EBV sa musia nainštalovať do prístrojov. Server Instrument Gateway (IG) bude dodaný so systémom.

Tab. 10 Prístroje

Príslušenstvo	P/N
Systém cobas ® 5800	08707464001
Systém cobas ® 6800 System (prenosná verzia)	06379672001
Systém cobas ® 6800 System (neprenosná verzia)	05524245001
Systém cobas ® 8800	05412722001
Modul na podávanie vzoriek	06301037001

Ďalšie informácie nájdete v používateľskej príručke a/alebo návode na obsluhu systému **cobas**® 5800 alebo systémov **cobas**® 6800/8800.

Poznámka: Ak potrebujete podrobný objednávací zoznam primárnych a sekundárnych skúmaviek na vzorky, stojanov na vzorky, stojanov na špičky so zrazeninou a zásuvkových stojanov, ktoré je možné použiť v týchto prístrojoch, obráťte sa na miestneho zástupcu spoločnosti Roche.

Preventívne opatrenia a požiadavky na manipuláciu

Výstrahy a preventívne opatrenia

Ako pri každej testovacej procedúre, aj v tomto prípade platí, že základom správneho vykonania tejto analýzy je dodržanie osvedčených laboratórnych postupov. Vzhľadom na vysokú citlivosť tohto testu je potrebné zachovať najvyššiu opatrnosť pri uchovaní čistoty činidiel a amplifikačných zmesí.

- Iba na diagnostické použitie *in vitro*.
- Test **cobas® EBV** nebol hodnotený na testovanie prítomnosti EBV v krvi alebo krvných produktoch.
- So všetkými vzorkami od pacientov sa musí zaobchádzať ako s infekčným materiálom a musia sa dodržiavať osvedčené laboratórne postupy uvedené v materiáli Biologická bezpečnosť v mikrobiologických a biomedických laboratóriách (Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories) a v dokumente CLSI M29-A4.^{15, 16}
Túto procedúru musia vykonávať len osoby so skúsenosťami s používaním systémov **cobas® EBV** a **cobas® 5800/6800/8800** vyškolené v oblasti manipulácie s infekčnými materiálmi.
- Všetky produkty z ľudského tela musia byť považované za potenciálne infekčné a malo by sa s nimi narábať v súlade s bežnými bezpečnostnými pokynmi. Ak dôjde k rozliatiu, zasiahnuté miesto okamžite dezinfikujte čerstvo pripraveným 0,6 % roztokom chlórnanu sodného alebo draselného v destilovanej alebo deionizovanej vode alebo postupujte podľa príslušných smerníc daného pracoviska.
- Kontrolná súprava **cobas® EBV/BKV Control Kit** obsahuje plazmu odvodenú z ľudskej krvi. Zdrojový materiál sa testoval pomocou metód PCR a preukázal prijateľné stopy nízkych hodnôt EBV DNA. Žiadna známa testovacia metóda nemôže plne zaručiť, že nedôjde k prenosu infekčných činiteľov produktmi odvodenými z ľudskej krvi.
- **Nezamrazujte plnú krv alebo akékoľvek vzorky uložené v primárnych skúmavkách.**
- Ak chcete zabezpečiť optimálne vykonanie testu, používajte len dodaný alebo špecifikovaný vyžadovaný spotrebný materiál.
- Karty bezpečnostných údajov (SDS) sú k dispozícii na požiadanie od miestneho zástupcu spoločnosti Roche.
- Dôsledne dodržiavajte poskytnuté postupy a usmernenia, aby ste zabezpečili správne vykonanie testu. Akákoľvek odchýlka od postupov a usmernení môže mať vplyv na optimálny priebeh testu.
- Ak sa pri manipulácii so vzorkami a ich spracovaní primerane nekontroluje prenos vzoriek, môže dôjsť k chybným pozitívnym výsledkom.
- Keďže > 90 % dospelých je chronickými nositeľmi EBV, ktorí môžu v slinách vylúčiť až 10⁸ kópií EBV/ml a s prihliadnutím na citlivosť analýzy je dôležité v laboratóriách implementovať primerané opatrenia na reguláciu kontaminácie.¹⁷
- Informujte miestny kompetentný orgán a výrobcu o všetkých závažných udalostiach, ktoré sa môžu vyskytnúť pri používaní tohto testu.

Manipulácia s činidlami

- So všetkými činidlami, kontrolami a vzorkami zaobchádzajte v súlade s osvedčenými laboratórnymi postupmi tak, aby sa predišlo prenosu vzoriek alebo kontrol.
- Pred použitím skontrolujte všetky kazety s činidlami, rozpúšťadlá, dezintegračné činidlá a premývacie činidlá, či nevykazujú znaky unikania. Ak činidlo uniká, tento materiál na testovanie nepoužívajte.

- Dezintegračné činidlo **cobas® omni** Lysis Reagent obsahuje guanidín tiokyanát, čo je potenciálne nebezpečná chemikália. Dbajte na to, aby nedošlo ku kontaktu činidiel s pokožkou, očami alebo sliznicami. Ak dôjde ku kontaktu, zasiahnuté miesto okamžite opláchnite veľkým množstvom vody. V opačnom prípade hrozí riziko popálenín.
- Testovacie súpravy **cobas® EBV**, **cobas® omni** MGP Reagent a **cobas® omni** Specimen Diluent obsahujú azid sodíka ako konzervačný prípravok. Dbajte na to, aby nedošlo ku kontaktu činidiel s pokožkou, očami alebo sliznicami. Ak dôjde ku kontaktu, zasiahnuté miesto okamžite opláchnite veľkým množstvom vody. V opačnom prípade hrozí riziko popálenín. Ak dôjde k rozliatiu týchto činidiel, pred ich vysušením rozliate činidlá zriedte vodou.
- Dbajte na to, aby nedošlo ku kontaktu dezintegračného činidla **cobas® omni** Lysis Reagent, ktoré obsahuje guanidíntiokyanát, s chlórnanovým (bieliacim) roztokom. V opačnom prípade môže dôjsť k tvorbe vysokotoxického plynu.
- Všetky materiály, ktoré prišli do styku so vzorkami a činidlami, zlikvidujte v súlade so štátnymi a miestnymi predpismi.

Vhodné laboratórne postupy

- Pipetu nenaplňajte pomocou úst.
- V pracovných priestoroch nejedzte, nepite a nefajčite.
- Pri manipulácii so vzorkami a činidlami používajte laboratórne rukavice, laboratórne plášte a ochranné prostriedky na oči. Na zabránenie kontaminácii je potrebné, aby si operátor medzi jednotlivými manipuláciami so vzorkami a súpravami **cobas® EBV**, kontrolou EBV/BKV Low Positive Control (EBV/BKV L(+))C), EBV/BKV High Positive Control (EBV/BKV H(+))C), **cobas®** Buffer Negative Control (BUF (-) C) a reagenciami **cobas® omni** vymenil rukavice. Pri manipulácii so vzorkami a kontrolami dbajte na to, aby nedošlo ku kontaminácii rukavíc.
- Po ukončení práce so vzorkami a činidlami súpravy a po sňatí rukavíc si dôkladne umyte ruky.
- Všetky pracovné povrchy v laboratóriu dôkladne vyčistite a vydezinfikujte pomocou čerstvo pripraveného 0,6 % roztoku chlórnanu sodného alebo draselného v deionizovanej alebo destilovanej vode. Následne pracovné povrchy utrite utierkou namočenou do 70 % etanolu.
- Ak dôjde k rozliatiu na prístroji **cobas® 5800** alebo **cobas® 6800/8800**, postupujte podľa pokynov v používateľskej príručke a/alebo návode na obsluhu systémov **cobas® 5800** alebo **cobas® 6800/8800**, aby sa povrch materiálu poriadne vyčistil a dekontaminoval.

Odber, preprava a skladovanie vzoriek

Poznámka: so všetkými vzorkami a kontrolnými vzorkami zaobchádzajte tak, ako keby boli schopné prenosu infekčných činiteľov.

Všetky vzorky skladujte pri určených teplotách.

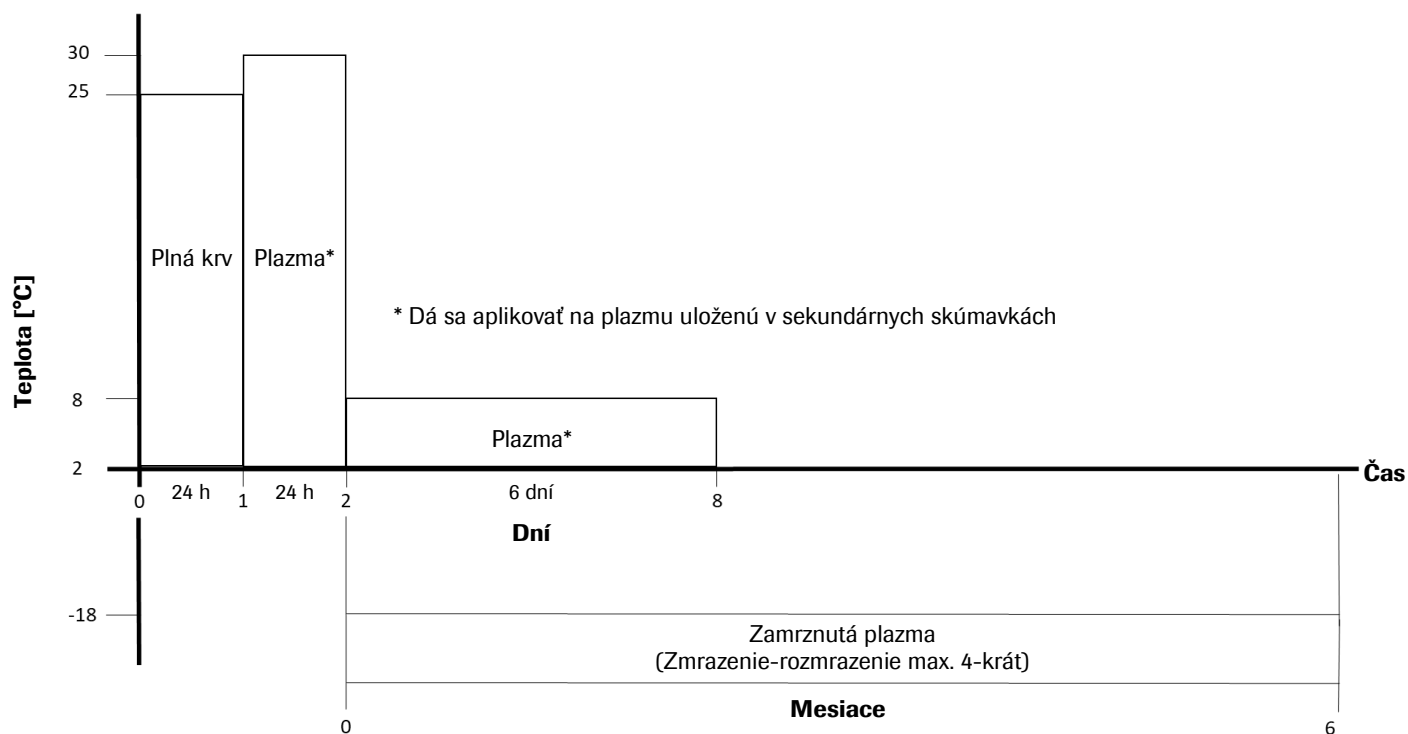
Zvýšenie teploty má vplyv na stabilitu vzoriek.

Ak používate zmrazené vzorky v sekundárnych skúmavkách, nechajte vzorky temperovať pri izbovej teplote (15 až 30 °C), až kým sa úplne nerozpustia, potom ich zľahka premiešajte (napr. vo vírivom mixéri po dobu 3 – 5 sekúnd) a odstredte, aby sa celý obsah vzorky zhromaždil na dne skúmavky.

Ak po odstredení zistíte, že existuje možnosť, že sa bunky resuspendovali do plazmy, zvážte možnosť opätovného odstredovania pred spracovaním v prístroji.

Vzorky

- Plná krv sa musí odoberať do skúmaviek BD Vacutainer® PPT™ na prípravu plazmy pre molekulárne diagnostické testovacie metódy alebo do sterilných skúmaviek za použitia EDTA ako antikoagulantu. Postupujte podľa pokynov výrobcu pre odber vzoriek. Pozrite si Obr. 1.
- Celá krv odobratá do skúmaviek na prípravu plazmy BD Vacutainer® PPT™ na molekulárne diagnostické testovacie metódy alebo do sterilných skúmaviek pomocou antikoagulantu EDTA sa môže skladovať alebo prepravovať do 24 hodín pri teplote 2 – 25 °C pred prípravou plazmy. Odstredovanie sa musí vykonať podľa pokynov výrobcu.
- Po oddelení sa vzorky plazmy môžu skladovať 24 hodín pri 2 až 30 °C v primárnych alebo sekundárnych skúmavkách, a následne:
 - Skladujte v primárnych alebo sekundárnych skúmavkách max. 6 dní pri teplote 2 až 8 °C.
 - Skladujte s sekundárnych skúmavkách max. 6 mesiacov pri teplote ≤ -18 °C.
- Vzorky plazmy sú stabilné počas max. 4 cyklov zmrazenia/rozmrazenia, keď sú zamrazené na ≤ -18 °C.

Obr. 1 Podmienky skladovania vzoriek

- Ak chcete vzorky prepravovať, je potrebné ich zabaliť a označiť v súlade s platnými štátnymi alebo medzinárodnými predpismi zahŕňajúcimi prepravu vzoriek a etiologických látok.

Návod na použitie

Procedurálne poznámky

- Nepoužívajte činidlá **cobas® EBV**, **cobas® EBV/BKV Control Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit** alebo činidlá **cobas® omni** po dátumoch ich expirácie.
- Spotrebný materiál nepoužívajte opakovane. Je určený iba na jedno použitie.
- Informácie o správnej údržbe nástrojov nájdete v používateľskej príručke a/alebo návode na obsluhu systému **cobas® 5800** alebo systémov **cobas® 6800/8800**.

Spustenie testu cobas® EBV v systéme cobas® 5800

cobas® EBV je možné prevádzkovať s minimálnym objemom vzorky 350 µl, z ktorého sa spracuje 200 µl. Postup testu je podrobne opísaný v používateľskej príručke a/alebo návode na obsluhu systému cobas® 5800. Obr. 2 uvedený nižšie obsahuje súhrnné informácie o procedúre.

Obr. 2 Postup testu cobas® EBV v systéme cobas® 5800

1	Prihláste sa do systému.
2	Vložte vzorky do systému: • Vložte stojany na vzorky do systému. • Systém sa pripraví automaticky. • Vyžiadajte vykonanie testov.
3	Doplníte čidlá a spotrebný materiál podľa pokynov systému: • Vložte kazety so špecifickými testovacími čidlami. • Vložte ministojany s kontrolami. • Vložte špičky na spracovanie. • Vložte elučné špičky. • Vložte platničky na spracovanie. • Vložte platničky na tekutý odpad. • Vložte platničky na amplifikáciu. • Vložte kazetu s MGP. • Doplníte riedidlo na vzorky. • Doplníte dezintegračné čidlo. • Doplníte výplachové čidlo.
4	Spustíte cyklus pomocou tlačidla Start processing na používateľskom rozhraní; všetky ďalšie prevádzky sa spustia automaticky, ak sa neodložia manuálne.
5	Skontrolujte a exportujte výsledky.
6	V prípade potreby vyberte a uzavrite na budúce použitie skúmavky so vzorkami, ktoré vyhovujú minimálnym požiadavkám na objem. Vyčistite prístroj: • Vyberte prázdne ministojany s kontrolami. • Vyberte prázdne kazety so špecifickými testovacími čidlami. • Vyprázdňte zásuvku s platničkou na amplifikáciu. • Odstráňte tekutý odpad. • Odstráňte tuhý odpad.

Spustenie testu cobas® EBV v systémoch cobas® 6800/8800

cobas® EBV je možné prevádzkovať s minimálnym objemom vzorky 350 µl, z ktorého sa spracuje 200 µl. Postup testu je podrobne opísaný v používateľskej príručke a/alebo návode na obsluhu systému cobas® 6800/8800. Obr. 3 uvedený nižšie obsahuje súhrnné informácie o procedúre.

Obr. 3 Postup testu cobas® EBV v systémoch cobas® 6800/8800

1	Prihláste sa do systému. Stlačením tlačidla „Start“ (Štart) pripravte systém. Vyžiadať vykonanie testov.
2	Doplňte činidlá a spotrebný materiál podľa pokynov systému: • Vložte kazetu so špecifickými testovacími reagentami. • Vložte kazety s kontrolami. • Vložte špičky pipiet. • Vložte platničky na spracovanie. • Vložte činidlo MGP. • Vložte platničky na amplifikáciu. • Doplnite riedidlo na vzorky. • Doplnite dezintegračné činidlo. • Doplnite výplachové činidlo.
3	Vložte vzorky do systému: • Vložte stojany na vzorky a stojany na špičky so zrazeninou do modulu na podávanie vzoriek. • Skontrolujte, či prenosový modul akceptoval vzorky.
4	Uvedte do prevádzky pomocou tlačidla „Start manually“ (Štart manuálne) na používateľskom rozhraní alebo nechajte, nech sa spustí automaticky po 120 minútach alebo keď je testovací cyklus plný.
5	Skontrolujte a exportujte výsledky.
6	V prípade potreby vyberte a uzavrite na budúce použitie skúmavky so vzorkami, ktoré vyhovujú minimálnym požiadavkám na objem. Vyčistite prístroj: • Vyberte prázdne kazety na kontroly. • Vyprázdnite zásuvku s platničkou na amplifikáciu. • Odstráňte tekutý odpad. • Odstráňte tuhý odpad.

Výsledky

Systémy **cobas**® 5800/6800/8800 automaticky určia koncentráciu EBV DNA pre vzorky a regulátory. Koncentrácia EBV DNA je vyjadrená v medzinárodných jednotkách na milimeter (IU/ml).

Kontrola kvality a platnosť výsledkov v systéme **cobas**® 5800

- Minimálne každých 72 hodín a pri každej novej šarži súpravy sa vykonáva jedna negatívna kontrola [(-) Ctrl] a dve pozitívne kontroly, nízkopozitívna kontrola [EBV/BKV L(+)C] a vysokopozitívna kontrola [EBV/BKV H(+)C]. Pozitívne a/alebo negatívne kontroly sa môžu naplánovať častejšie podľa laboratórnych postupov a/alebo miestnych smerníc.
- Skontrolujte, či sa v softvéri systému **cobas**® 5800 a/alebo správe nevyskytujú príznaky, a pozrite si súvisiace výsledky, aby ste sa uistili, že je výsledok platný.

Zneplatnenie výsledkov vykoná automaticky softvér **cobas**® 5800 na základe zlyhania negatívnej alebo pozitívnej kontroly vzorky.

POZNÁMKA: Systém **cobas**® 5800 sa dodáva so štandardným nastavením prevádzky skupiny kontrol (pozitívnych a negatívnych) pre každý cyklus, môže sa však nakonfigurovať na menej častý harmonogram až do 72 hodín podľa laboratórnych postupov a/alebo miestnych smerníc. Ak potrebujete viac informácií, obráťte sa na servisného technika spoločnosti Roche alebo na oddelenie technickej podpory zákazníkov.

Výsledky kontrolných vzoriek v systéme **cobas**® 5800

Výsledky kontrolných vzoriek sa zobrazujú v softvéri **cobas**® 5800 v aplikácii „Controls“.

- Kontrolné vzorky sú v stĺpci „Control result“ označené ako „Valid“, ak sa všetky ciele kontrolnej vzorky zaznamenajú ako platné. Kontrolné vzorky sú v stĺpci „Control result“ označené ako „Invalid“, ak sa jeden alebo viaceré ciele kontrolnej vzorky zaznamenajú ako neplatné.
- Kontrolné vzorky označené ako „Invalid“ zobrazujú príznak v stĺpci „Flags“. Ďalšie informácie o tom, prečo je kontrolná vzorka zaznamenaná ako neplatná, vrátane informácií o príznaku, sa budú zobrazovať v podrobnom zobrazení.
- Ak je jedna z kontrol neplatná, je potrebné zopakovať testovanie všetkých kontrol a všetkých príslušných vzoriek.

Kontrola kvality a platnosť výsledkov v systémoch **cobas**® 6800/8800

- Pri každom testovacom cykle sa vykonáva jedna negatívna kontrola [(-) Ctrl] a dve pozitívne kontroly, nízkopozitívna kontrola [EBV/BKV L(+)C] a vysokopozitívna kontrola [EBV/BKV H(+)C].
- Skontrolujte, či sa v softvéri **cobas**® 6800/8800 a/alebo správe nevyskytujú upozornenia a pozrite si súvisiace výsledky, aby ste sa uistili, že je cyklus platný.
- Testovací cyklus je platný, ak sa žiadny príznak neobjavuje pri žiadnej z troch kontrol, ktoré zahŕňajú jednu negatívnu kontrolu a dve pozitívne kontroly: EBV/BKV L(+)C, EBV/BKV H(+)C. Výsledok negatívnej kontroly sa zobrazuje ako (-) Ctrl a nízka a vysoká pozitívna kontrola sa zobrazujú ako EBV/BKV L(+)C a EBV/BKV H(+)C.

Zneplatnenie výsledkov vykoná automaticky softvér **cobas® 6800/8800** na základe zlyhania negatívnej a pozitívnej kontroly vzorky.

Kontrolné príznaky v systémoch **cobas® 6800/8800**

Tab. 11 Príznaky kontrolných vzoriek pre negatívne a pozitívne kontrolné vzorky

Negatívna kontrola	Príznak	Výsledok	Interpretácia
(-) Ctrl	Q02 (Kontrola testovacieho cyklu zlyhala)	Neplatné	Neplatný výsledok alebo výsledok vypočítanej titrácie pre negatívnej kontroly nie je negatívny.
Pozitívna kontrola	Príznak	Výsledok	Interpretácia
EBV/BKV L(+)C	Q02 (Kontrola testovacieho cyklu zlyhala)	Neplatné	Neplatný výsledok alebo vypočítaný výsledok titrácie pre nízko pozitívnu kontrolnú látku je mimo priradeného rozsahu.
EBV/BKV H(+)C	Q02 (Kontrola testovacieho cyklu zlyhala)	Neplatné	Neplatný výsledok alebo vypočítaný výsledok titrácie pre vysokopozitívnu kontrolnú látku je mimo priradeného rozsahu.

Ak je kontrola testovacieho cyklu neplatná, skontrolujte testovanie všetkých vzoriek predmetného testovacieho cyklu.

Interpretácia výsledkov

Pri platnej dávke skontrolujte v softvéroch systémov **cobas® 5800** a **cobas® 6800/8800** a/alebo správe, či sa pri jednotlivých vzorkách nevyskytli symboly vlajky. Výsledky interpretácie majú byť nasledovné:

- Platná dávka môže zahŕňať platné aj neplatné výsledky vzoriek.

Tab. 12 Cieľové výsledky pre jednotlivé interpretácie cieľových výsledkov

Výsledky	Interpretácia
Target Not Detected	EBV DNA nebola zistená. Výsledky interpretujte ako „EBV nezistený“.
< Titer Min ^a	Vypočítaná titrácia je nižšia ako spodný limit kvantifikácie (LLOQ) tejto analýzy. Výsledky interpretujte ako „EBV zistený, menej ako (Titer Min)“. Titer min = 35,0 IU/ml
Titer	Vypočítaná titrácia je v rámci lineárneho rozsahu analýzy – väčšia ako alebo rovná Titer Min a menšia ako alebo rovná Titer Max. Výsledky interpretujte ako „(Titer) EBV zistený“.
> Titer Max ^b	Vypočítaná titrácia je vyššia ako vrchný limit kvantifikácie (ULoQ) tejto analýzy. Výsledky interpretujte ako „EBV zistený, väčší ako (Titer Max)“. Titer max = 1,0E+08 IU/ml

^a Výsledky vzorky < Titer Min (zistený cieľ < LLoQ) by sa mali interpretovať v kontexte s inými klinickými údajmi a nemali by slúžiť ako jediný základ na prijímanie liečebných rozhodnutí.

^b Výsledok vzorky > Titer Max odkazuje na EBV pozitívne vzorky zistené s titraciami nad vrchným limitom kvantifikácie (ULoQ). Ak sa vyžadujú kvantitatívne výsledky, pôvodnú vzorku treba zriediť s EBV – negatívnu ľudskou EDTA plazmou a test sa musí opakovať. Hlásený výsledok vynásobte zriedovacím faktorom.

Interpretácia výsledkov v systéme cobas® 5800

Výsledky vzoriek sa zobrazujú v softvéri **cobas® 5800** v aplikácii „Results“.

Pri platnej kontrolnej dávke skontrolujte v softvéri systému **cobas® 5800** a/alebo správe, či sa pri jednotlivých vzorkách nevyskytli príznaky. Výsledky interpretácie majú byť nasledovné:

- Vzorky spojené s platnou kontrolnou dávkou sa v stĺpci „Control result“ zobrazujú ako „Valid“, ak sa všetky cieľové výsledky pre kontroly zaznamenali ako platné. Vzorky spojené s neplatnou kontrolnou dávkou sa v stĺpci „Control result“ zobrazujú ako „Invalid“, ak sa všetky cieľové výsledky pre kontroly zaznamenali ako neplatné.
- Ak sú príslušné kontroly výsledku pre vzorku neplatné, k výsledku pre vzorku sa pridá špecifický príznak nasledujúcim spôsobom:
 - Q05D: Zlyhanie overenia výsledku v dôsledku neplatnej pozitívnej kontroly.
 - Q06D: Zlyhanie overenia výsledku v dôsledku neplatnej negatívnej kontroly.
- Hodnoty v stĺpci „Results“ pre cieľový výsledok jednotlivej vzorky by sa mali interpretovať tak, ako je znázornené v Tab. 11 vyššie.

Ak sú jeden alebo viaceré ciele vo vzorke označené ako „Invalid“, softvér **cobas® 5800** zobrazuje príznak v stĺpci „Flags“.

Ďalšie informácie o tom, prečo sú ciele vo vzorke zaznamenané ako neplatné, vrátane informácií o príznaku, sa budú zobrazovať v podrobnom zobrazení.

Interpretácia výsledkov v systémoch cobas® 6800/8800

Pri platnom cykle skontrolujte v softvéri systémov **cobas® 6800/8800** a/alebo správe, či sa pri jednotlivých vzorkách nevyskytli príznaky. Výsledky interpretácie majú byť nasledovné:

- Vzorky sú označené „Yes“ v stĺpci „Valid“, ak všetky požadované cieľové výsledky vykazovali platné výsledky. Vzorky označené „No“ v stĺpci „Valid“ môžu vyžadovať ďalšiu interpretáciu a kroky.
- Hodnoty pre cieľový výsledok jednotlivej vzorky by sa mali interpretovať tak, ako je znázornené v Tab. 12 vyššie.

Procedurálne obmedzenia

- Test **cobas® EBV** bol ohodnotený len na použitie v kombinácii s **cobas® EBV/BKV Control Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit**, **cobas® omni MGP Reagent**, **cobas® omni Lysis Reagent**, **cobas® omni Specimen Diluent** a **cobas® omni Wash Reagent** na použitie v systémoch **cobas® 5800/6800/8800**.
- Spôľahlivosť výsledkov závisí od správneho postupu odberu, uchovávaní a spracovania vzoriek.
- Táto analýza bola schválená iba na použitie s EDTA plazmou. Testovanie iných typov vzoriek pomocou testu **cobas® EBV** môže spôsobiť nepresné výsledky. Meranie vírusového zaťaženia plazmy sa nedá priamo porovnať s meraním iných druhov vzoriek.
- Kvantifikáciu EBV DNA môže ovplyvniť metóda odberu vzorky, faktory pacienta (napr. vek, prítomnosť symptómov) a/alebo stav infekcie.
- Ako pri každom molekulárnom teste, mutácie v rámci cieľových oblastí **cobas® EBV** by mohli ovplyvniť viazanie priméru a/alebo sondy, čo má za následok podhodnotenie množstva vírusu alebo zlyhanie zaznamenania prítomnosti vírusu.
- V dôsledku príslušných odlišností medzi technológiami sa odporúča, aby používateľ pred zmenou technológie v laboratóriu vykonal štúdie korelácie metódy na účely kvalifikácie technologických rozdielov. Používatelia sa musia riadiť svojimi špecifickými zásadami alebo postupmi.
- Test **cobas® EBV** nie je určený na testovanie prítomnosti EBV v krvi alebo krvných produktoch.

Hodnotenie neklinickej účinnosti

Kľúčové ukazovatele účinnosti použité v systémoch cobas® 6800/8800

Detekčný limit (LoD)

Medzinárodný štandard WHO

Detekčný limit cobas® EBV bola určená analýzou sériových roztokov 1. medzinárodného štandardu WHO pre Vírus Epstein-Barrovej pre amplifikačné techniky nukleových kyselín (1. medzinárodný štandard EBV WHO) získaný z NIBSC (NIBSC 09/260), EBV-negatívnej ľudskej EDTA plazmy. Skupina šiestich úrovni koncentrácie plus slepá sa testovali na troch šaržiach činidiel cobas® EBV, viacnásobnými cyklami, počas viacerých dní, rôznymi operátormi a na viacerých prístrojoch.

Výsledky pre EDTA plazmu uvádza Tab. 13 a Tab. 15. Štúdia ukazuje, že pri najmenej citlivej šarži je koncentrácia, pre ktorú PROBIT predpokladá 95-percentnú mieru úspešnosti, 18,8 IU/ml s 95-percentným rozsahom spoľahlivosti od 14,5 do 27,5 IU/ml v EDTA plazme. Najnižšia koncentrácia s mierou úspešnosti $\geq 95\%$ je 20,0 IU/ml v EDTA plazme.

Tab. 13 Detekčný limit v EDTA plazme, šarža 1

Vstupná titrácia koncentrácie (EBV DNA IU/ml)	Počet platných replikátov	Počet pozitívnych	Miera úspešnosti v %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	62	98,4
20,0	63	61	96,8
10,0	63	53	84,1
5,0	63	37	58,7
2,5	63	26	41,3
0,0	63	0	0,0
Det. limit podľa PROBIT pri 95 % pomernej úspešnosti	18,8 IU/ml Interval spoľahlivosti 95 %: 14,5 – 27,5 IU/ml		

Tab. 14 Detekčný limit v EDTA plazme, šarža 2

Vstupná titrácia koncentrácie (EBV DNA IU/ml)	Počet platných replikátov	Počet pozitívnych	Miera úspešnosti v %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	58	92,1
5,0	63	35	55,6
2,5	63	20	31,8
0,0	63	0	0,0
Det. limit podľa PROBIT pri 95 % pomernej úspešnosti	12,4 IU/ml Interval spoľahlivosti 95 %: 10,0 – 17,0 IU/ml		

Tab. 15 Detekčný limit v EDTA plazme, šarža 3

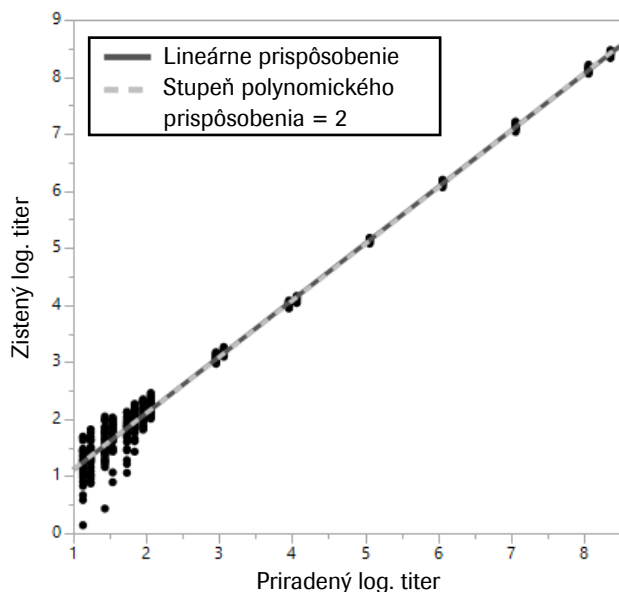
Vstupná titrácia koncentrácie (EBV DNA IU/ml)	Počet platných replikátov	Počet pozitívnych	Miera úspešnosti v %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	63	100,0
20,0	63	62	98,4
10,0	63	48	76,2
5,0	63	38	60,3
2,5	63	26	41,3
0,0	63	0	0,0
Det. limit podľa PROBIT pri 95 % pomernej úspešnosti	18,6 IU/ml Interval spoľahlivosti 95 %: 14,4 – 27,1 IU/ml		

Lineárny rozsah

Linearita **cobas**® EBV bola hodnotená s použitím sérií riedení pozostávajúcich zo 17 členov skupiny s EBV genotypom 1 DNA v rozsahu lineárneho rozpätia analýzy. Vysoký titer zásobnej lambda DNA sa použil na prípravu 11 členov panelu v rozsahu celého lineárneho rozpätia. Klinická vzorka sa použila na prípravu 6 členov skupiny na pokrytie stredných a nižších úrovní lineárneho rozsahu.

Každého člena skupiny testovali v 36 replikátoch v troch dávkach činidiel **cobas**® EBV a výsledky štúdie sú uvedené v Obr. 4.

cobas® EBV sa ukázal ako lineárny od 1,40E+01 IU/ml do 2,30E+08 IU/ml a ukazuje absolútnu odchýlku od lepšie sa hodiacej nelineárnej regresie menšiu alebo rovnú $\pm 0,1 \log_{10}$ v ľudskej EDTA plazme (pozri Obr. 4). V lineárnom rozsahu je presnosť testu v rozmedzí $\pm 0,2 \log_{10}$.

Obr. 4 Určenie lineárneho rozsahu v EDTA plazme

Presnosť – v laboratóriu

Presnosť **cobas® EBV** bola určená analýzou sériových roztokov s vysokou titráciou EBV DNA (genotyp 1) v EBV-negatívnej EDTA plazme. Šesť úrovní riedení sa testovalo na 72 replikátoch pre každú úroveň v rámci troch dávok činidiel **cobas® EBV** s použitím troch prístrojov a troch operátorov počas 12 dní. S každou vzorkou sa vykonala celá procedúra **cobas® EBV** na plne automatizovaných systémoch **cobas® 6800/8800**. Tu uvedená presnosť preto predstavuje všetky aspekty testovacieho postupu. Výsledky uvádza Tab. 16.

Test **cobas® EBV** preukázal vysokú presnosť pre tri šarže činidiel analyzovaných v rámci rozsahu koncentrácie 1,08E+02 IU/ml až 5,40+07 IU/ml.

Tab. 16 Presnosť testu **cobas® EBV** v rámci laboratória

Menovitá koncentrácia [IU/ml]	Pridelená koncentrácia [IU/ml]	EDTA plazma			
		Šarža 1	Šarža 2	Šarža 3	Všetky šarže
		SD	SD	SD	Spoločná SD
5,00E+07	5,40E+07	0,03	0,04	0,04	0,04
1,00E+06	1,08E+06	0,02	0,03	0,02	0,02
1,00E+05	1,08E+05	0,02	0,02	0,03	0,02
1,00E+04	1,08E+04	0,04	0,02	0,03	0,03
1,00E+03	1,08E+03	0,05	0,05	0,05	0,05
1,00E+02	1,08E+02	0,17	0,18	0,15	0,17

Overenie genotypu

Účinnosť testu **cobas**® EBV na EBV genotype 2 bola ohodnotená:

- Overením detekčného limitu
- Overením lineárneho rozsahu

Overenie detekčného limitu pre genotyp 2

EBV DNA pre genotyp 2 bol zriedený do troch rozličných úrovní koncentrácie v EBV-negatívnej EDTA plazme. Určovanie miery úspešnosti bolo vykonané na 63 replikátoch pre každú úroveň. Testovanie bolo vykonané s tromi dávkami činidiel **cobas**® EBV, viacnásobných cyklov, dní, operátorov a nástrojov. Výsledky dokazujú, že test **cobas**® EBV zistil EBV DNA pre genotyp 2 pri koncentrácii 18,8 IU/ml pri miere úspešnosti ≥ 95 %.

Overenie lineárneho rozsahu pre genotyp 2

Série roztokov použité v štúdiu linearity genotypov **cobas**® EBV pozostávali z ôsmich členov skupiny pokrývajúcich rozpätie analýzy. Testovanie bolo vykonané s tromi dávkami činidla **cobas**® EBV, 12 replikátov na úroveň sa testovalo v EDTA plazme.

Lineárny rozsah testu **cobas**® EBV sa overil pre genotyp 2.

Špecifickosť

Špecifickosť testu **cobas**® EBV sa určila analýzou EBV-negatívnych vzoriek EDTA plazmy od jednotlivých darcov. Stojeden individuálnych vzoriek EDTA plazmy sa testovalo s tromi dávkami činidiel **cobas**® EBV. Všetky vzorky boli negatívne na EBV DNA. V analýze skupiny bola špecifickosť testu **cobas**® EBV 100 % (nižší jednostranný 95 % interval spoľahlivosti 97,08 %).

Analytická špecifickosť

Analytická špecifickosť testu **cobas®** EBV sa hodnotila rozriedením skupiny mikroorganizmov na koncentráciu 1,00E+06 jednotiek/ml (bunky/ml, CFU/ml, IFU/ml, CCU/ml) pre baktérie a kvasinky a od 3,00E+05 do 1,00E+06 jednotiek/ml (IU/ml, kópie/ml, bunky/ml, TCID₅₀/ml) pre vírusy s EBV DNA pozitívnou a EBV DNA negatívnou EDTA plazmou. Tieto špecifické analyzované organizmy uvádza Tab. 17. Každý člen skupiny bol hodnotený pomocou testu **cobas®** EBV. Žiadny z patogénov bez EBV neprekážal účinnosti analýzy.

Tab. 17 Mikroorganizmy testované pre krížovú reaktivitu

Vírusy	Baktérie	Kvasinky
Adenovírus typ 5	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
BK Polyomavírus	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Cytomegalovírus	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Vírus hepatitídy B	<i>Clostridium perfringens</i>	-
Vírus hepatitídy C	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
Vírus Herpes simplex typu 1	<i>Escherichia coli</i>	-
Vírus Herpes simplex typu 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
Ľudský herpesvírus typu 6	<i>Listeria monocytogenes</i>	-
Ľudský herpesvírus typu 7	<i>Mycobacterium avium</i>	-
Ľudský herpesvírus typu 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
Vírus ľudskej imunitnej nedostatočnosti 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Vírus ľudskej imunitnej nedostatočnosti 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Ľudský papillomavírus	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
JC Vírus	<i>Salmonella enterica</i>	-
Parvovírus B19 Opičí vírus 40	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Vírus Varicella-zoster	-	-

Analytická špecifickosť – interferujúce látky

Vysoká hladina triglyceridov (33,0 g/l), konjugovaného bilirubínu (0,2 g/l), nekonjugovaného bilirubínu (0,2 g/l), bielkovín (60,0 g/l), hemoglobínu (2,0 g/l) a ľudskej DNA (2 mg/l) vo vzorkách sa testovali na prítomnosť a neprítomnosť EBV DNA. Testované endogénne rušenia sa ukázali ako nerušivé voči účinnosti testu **cobas®** EBV.

Navyše, zložky liekov, ktoré uvádza Tab. 18, sa testovali trikrát C_{max} na prítomnosť a neprítomnosť EBV DNA.

Všetky potenciálne rušivé látky sa ukázali ako nerušivé voči účinnosti analýzy.

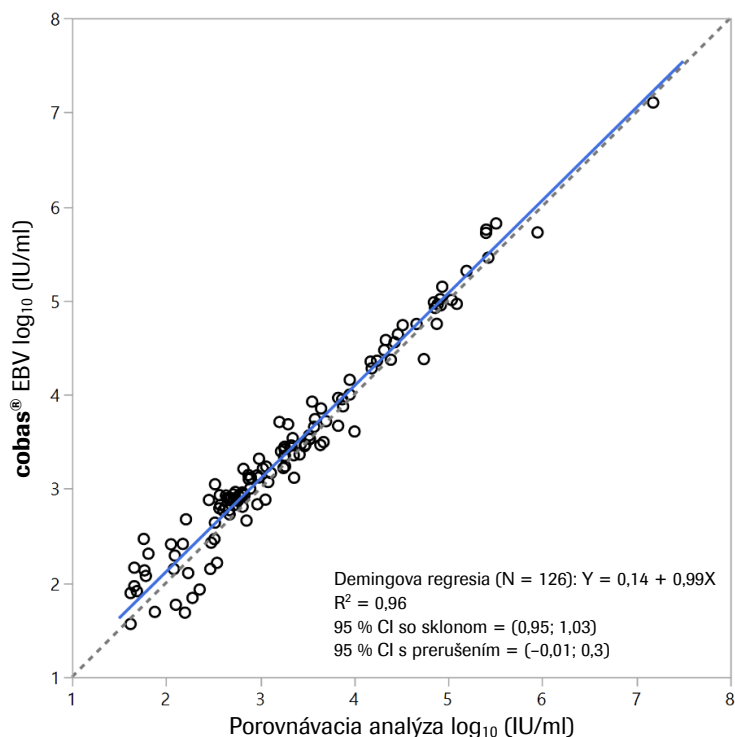
Tab. 18 Zložky liekov testované na rušivosť voči kvantifikácii EBV DNA pomocou testu **cobas® EBV**

Trieda lieku	Generický názov lieku	
Antimikrobiálny	Cefotetan	Sulfametoxazol
	Klavulanát draselný	Tikarcilín dvojsodný
	Fluconazole	Trimetoprim
	Piperacillin	Vancomycin
	Tazobactam sodný	Mikafungín
Liečivá na liečbu herpesvírusov	Ganciklovir	Cidofovir
	Valganciklovir	Foscarnet
	Acyklovir	Letermovír
Imunosupresívum	Azatioprín	Prednizón
	Cyklosporín	Sirolimus
	Everolimus	Tacrolimus
	Mykofenolát mofetilu	Kyselina mykofenolová

Korelácia metódy

Účinnosť testu **cobas® EBV** sa hodnotila voči porovnávacej analýze testovaním EDTA plazmových vzoriek od EBV infikovaných pacientov. Vzorky EDTA plazmy v rámci kvantifikačného rozsahu oboch analýz sa analyzovali ako jednotlivé replikáty. Bola vykonaná Demingova regresná analýza.

Výsledky Demingovej regresie uvádza Obr. 5.

Obr. 5 Regresná analýza testu **cobas® EBV** verzus porovnávacia analýza

Zlyhanie celého systému

Stupeň zlyhania celého systému pre test **cobas®** EBV sa určil testovaním 100 opakovaní EDTA plazmy zameraným na EBV pozitívnu klinickú vzorku. Tieto vzorky sa testovali pri koncentrácii $3 \times \text{LoD}$.

Výsledky tejto štúdie určili, že všetky replikáty boli platné a pozitívne pre cieľ EBV, dôsledkom čoho bol stupeň zlyhania celého systému 0 % (vrchný jednostranný 95 % interval spoľahlivosti 2,95 %).

Krížová kontaminácia

Stupeň krížovej kontaminácie pre test **cobas®** EBV sa určil testovaním 240 replikátov EBV-negatívnej matice vzoriek a 225 replikátov vysokej titrácie EBV vzorky pri približne $2,00\text{E}+07$ IU/ml. Celkovo sa uskutočnilo 5 analýz s pozitívnymi a negatívnymi vzorkami pri šachovnicovej konfigurácii.

Všetkých 240 replikátov negatívnej vzorky bolo negatívnych, takže pomer krížovej kontaminácie bol 0 % (vrchný jednostranný 95 % interval spoľahlivosti 1,24 %).

Hodnotenie klinickej účinnosti použité v systémoch cobas® 6800/8800

Reprodukovateľnosť cobas® EBV

Reprodukovateľnosť cobas® EBV sa hodnotila na základe viacerých faktorov (šarža činidla, testovacie pracovisko, dávka a dni testovania), ktoré by mohli mať vplyv na hlásené výsledky počas rutinného klinického testovania. Hodnotenie sa vykonalo na 3 testovacích pracoviskách, použili sa 3 šarže činidla a panel pozitívnych a negatívnych vzoriek s celkovým počtom 270 testov (bez kontrol). Panely boli vytvorené z EDTA plazmy, ktorá bola EBV VCA IgG negatívna a boli testované na EBV s protokolom uvoľňovania NAT z plazmy a naočkované medzinárodným štandardom EBV WHO, supernatantom bunkovej kultúry EBV alebo lambda fagemidom s EBV DNA. Na každom pracovisku testovali dvaja operátori všetky šarže činidla počas 5 dní. Každý deň sa vykonali dva cykly (1 cyklus = 1 dávka, 1 dávka = 1 panel + 3 kontroly) na operátora a pre každý cyklus na vytvorili 3 replikáty každého prvku panela. Prehľad výsledkov hodnotenia uvádza Tab. 19.

Tab. 19 Priraditeľné percento celkovej odchýlky (%TV), štandardnej odchýlky (SD) celkovej presnosti a logaritmickej normálnej hodnoty CV (%) koncentrácie EBV DNA ($\log_{10}$ IU/ml) podľa pozitívnych prvkov panela

Očakávaná koncentrácia EBV DNA ($\log_{10}$ IU/ml)	Zistená priemerná ^a koncentrácia EBV DNA ($\log_{10}$ IU/ml)	Počet testov ^b	Šarža %TV ^c (CV%) ^d	Lokalita %TV ^c (CV%) ^d	Deň/operátor %TV ^c (CV%) ^d	Dávka %TV ^c (CV%) ^d	V rámci dávky %TV ^c (CV%) ^d	Celková presnosť SD ^e	Celková presnosť CV (%) ^d
2,02	2,09	270	11 % (11,97)	2 % (5,30)	0 % (0,00)	3 % (6,34)	84 % (34,25)	0,158	37,56
3,70	3,68	270	43 % (10,07)	15 % (5,92)	0 % (0,00)	16 % (6,23)	26 % (7,81)	0,067	15,43
4,70	4,68	270	39 % (8,54)	10 % (4,24)	0 % (0,00)	24 % (6,63)	28 % (7,18)	0,059	13,70
5,70	5,50	268	7 % (11,39)	58 % (34,36)	0 % (0,00)	21 % (20,18)	15 % (17,08)	0,191	46,16
7,70	7,76	270	27 % (8,63)	15 % (6,52)	0 % (0,88)	13 % (6,01)	45 % (11,26)	0,073	16,83

^a Vypočítané pomocou postupu SAS MIXED.

^b Počet platných testov s detekovateľnou úrovňou DNA.

^c %TV = percentuálny podiel na celkovej odchýlke.

^d CV% = logaritmickej normálnej hodnoty percentuálneho koeficientu odchýlky = $\sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

^e Vypočítané pomocou celkovej variability pomocou postupu SAS MIXED.

Poznámka: Tabuľka obsahuje iba výsledky s detekovateľnou úrovňou DNA. SD = štandardná odchýlka. CV = koeficient odchýlky, EBV = vírus Epstein-Barrovej.

cobas® EBV preukázal prijateľnú klinickú reprodukovateľnosť na príslušnej porovnávacej koncentrácii. Okrem toho systém detekoval 100 % z $3 \times \text{LLoQ}$ vzoriek. Systémy cobas® 6800 a cobas® 8800 majú rovnaký modulárny dizajn a preukázali rovnocennosť pri použití cobas® EBV. Všetky odhadované 95 % limity spoľahlivosti (CL) pre rozdiel medzi 2 meraniami od toho istého subjektu boli v rozmedzí $\pm 0,53 \log_{10}$ IU/ml, čo naznačuje, že analýza môže posúdiť zmeny v úrovniach EBV DNA, ktoré sa považujú za klinicky významné.

Z 270 platných testov pre negatívne prvky panelu vykonaných na systémoch **cobas®** 6800/8800 vykazovalo 14 vzoriek (5,19 %) detekciu < LLoQ pozitivitu. Výsledky nesúviseli s konkrétnym prístrojom/pracoviskom alebo šaržou činidla. Heminestované PCR a sekvenovanie DNA potvrdili prítomnosť EBV DNA v týchto vzorkách.

Účinnosť **cobas®** EBV

Klinická účinnosť **cobas®** EBV bola ďalej hodnotená na troch testovacích pracoviskách meraním úrovni EBV DNA v klinických vzorkách (čistých a zriedených) pacientov infikovaných a neinfikovaných EBV a umelo pripravených vzorkách plazmy EDTA naočkovanej kultivovaným vírusom EBV v porovnaní so spoľahlivo overeným, laboratórne vyvinutým testom nukleových kyselín (LDT) (komparátor EBV LDT). Zo všetkých vzoriek testovaných pomocou **cobas®** EBV a komparačného testu EBV bolo celkovo 464 vzoriek (439 čistých alebo zriedených klinických vzoriek od 72 subjektov po transplantácii a 25 umelo vytvorených vzoriek), ktoré boli platné v oboch analýzach a ktoré bolo možné vyhodnotiť na analýzu klinickej zhody.

Tab. 20 Výsledky analýzy zhody medzi **cobas®** EBV a komparátorom LDT pre úroveň EBV DNA pre všetky vzorky

cobas® EBV (log ₁₀ IU/ml)	Komparátor EBV LDT (log ₁₀ IU/ml) Target Not Detected	Komparátor EBV LDT (log ₁₀ IU/ml) < LLoQ (< 2)	Komparátor EBV LDT (log ₁₀ IU/ml) 2 až < 2,6	Komparátor EBV LDT (log ₁₀ IU/ml) 2,6 až < 3,2	Komparátor EBV LDT (log ₁₀ IU/ml) 3,2 – 3,8	Komparátor EBV LDT (log ₁₀ IU/ml) > 3,8	Celkom
Target Not Detected	95	17	17	0	0	0	129
< LLoQ (< 2)	39	46	75	11	0	0	171
2 až < 2,6	1	2	16	37	6	0	62
2,6 až < 3,2	1	0	5	15	30	1	52
3,2 – 3,8	0	0	0	0	9	11	20
> 3,8	0	0	0	0	1	29	30
Celkom	136	65	113	63	46	41	464
Zhoda stĺpca (%)	(134/136) 98,5 %	(65/65) 100 %	(96/113) 85,0 %	(52/63) 82,5 %	(40/46) 87,0 %	(40/41) 97,6 %	-
(95 % skóre CI) ^a	(94,8 %, 99,6 %)	(94,4 %, 100 %)	(77,2 %, 90,4 %)	(71,4 %, 90,0 %)	(74,3 %, 93,9 %)	(87,4 %, 99,6 %)	-

Poznámka: LLoQ = dolný limit kvantifikácie komparátora EBV LDT (100 IU/ml).

Štandardná odchýlka komparátora EBV LDT odhadnutá na 0,3 log₁₀ IU/ml (štúdia analytickej presnosti EBV LDT).

V tejto tabuľke boli zahrnuté spárované vzorky, ktoré bolo možné hodnotiť na analýzu klinickej zhody.

^a Predpokladaná nezávislosť medzi všetkými vzorkami.

CI = interval spoľahlivosti.

Sekvenovanie DNA na reprezentatívnych vzorkách od subjektov s výsledkami konzistentne posunutými o viac ako 1 log₁₀ IU/ml úrovne DNA neodhalilo žiadne sekvenčné nezhody pre žiadny primér alebo cieľ sondy pre test **cobas®** EBV.

Nezhodné výsledky boli definované ako také, ktoré sú od uhlopriečky vzdialené viac ako jedno políčko (označené tieňovaním). Pre stĺpec „Target Not Detected by LDT Column Agreement“ sa spojili bunky **cobas®** EBV „Target Not Detected“ a „< LLoQ (< 2)“. Dôvodom pridania susedných buniek < LLoQ a TND do stĺpca TND je, že rozdiel medzi TND a < LLoQ nie je klinicky významný a že sú analyticky na spodnej hranici pásma merania, ktoré môže byť ovplyvnené náhodnou chybou.

Zo 43 komparátorov EBV LDT negatívnych vzoriek odobratých na odhad percentuálnej zhody negatívnych výsledkov (NPA) pri použití **cobas**® EBV bolo 41 vzoriek negatívnych pri použití **cobas**® EBV, takže NPA bola 95,4 % s 95 % presnou CI 84,2 % až 99,4 %. Dva komparátory EBV LDT negatívnych vzoriek boli pozitívne (< LLoQ) pri použití **cobas**® EBV a boli séropozitívne na EBV VCA IgG a EBNA-1 IgG pri použití doplnkového sérologického testovania.

Zhoda medzi **cobas**® EBV a komparátorom EBV LDT bola tiež hodnotená pomocou rôznych klinických prahových hodnôt.

Tab. 21 Súhrn zhody **cobas**® EBV a komparátora EBV LDT s použitím rôznych prahových hodnôt pre všetky vzorky

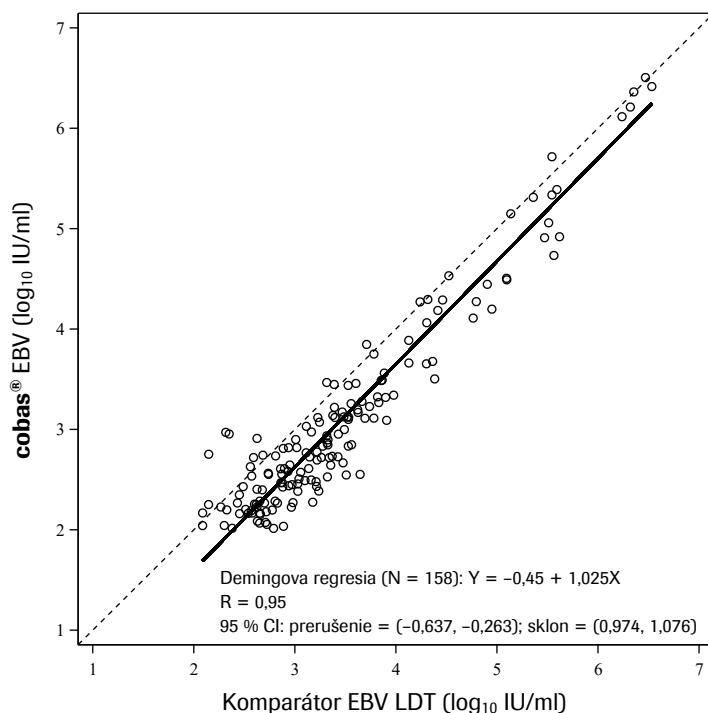
	Percentuálna zhoda < prahová hodnota 95 % CI ^b (n/N)	Percentuálna zhoda ≥ prahová hodnota 95 % CI ^b (n/N)
Target Not Detected	98,5 % (134/136) (94,8 %, 99,6 %)	89,6 % (294/328) (85,9 %, 92,5 %)
LLoQ ^a (2,0 log ₁₀ IU/ml)	98,0 % (197/201) (95,0 %, 99,2 %)	60,8 % (160/263) (54,8 %, 66,5 %)
3,0 log ₁₀ IU/ml	100,0 % (363/363) (99,0 %, 100,0 %)	64,4 % (65/101) (54,6 %, 73,0 %)
4,0 log ₁₀ IU/ml	100,0 % (431/431) (99,1 %, 100,0 %)	84,8 % (28/33) (69,1 %, 93,3 %)

^a LLoQ = dolný limit kvantifikácie komparátora EBV LDT (100 IU/ml).

^b CI = interval spoľahlivosti.

Zo všetkých vzoriek testovaných pomocou **cobas**® EBV, ktoré boli EBV pozitívne použitím komparačného testu EBV bolo celkovo 158 (139 čistých alebo zriedených klinických vzoriek od 28 subjektov po transplantácii a 19 umelo vytvorených vzoriek), ktoré bolo možné vyhodnotiť na analýzu korelácie na troch testovacích pracoviskách.

Obr. 6 Korelácia medzi cobas® EBV a komparátorom EBV LDT pre všetky vzorky: Demingov graf lineárnej regresie úrovne DNA ($\log_{10}$ IU/ml)



Dodatočná analýza grafu odchýlky úrovne DNA ukázala systematický rozdiel medzi oboma analýzami, ktorý je konštantný v prekrývajúcom sa lineárnom rozsahu. 95 % CI prerušenia preloženéj čiary v grafoch odchýlky bola $-0,456$ až $0,104$, čo je v rozmedzí $\pm 0,6 \log_{10}$ IU/ml (± 2 -násobok štandardnej odchýlky analytickej presnosti komparátora EBV LDT).

Okrem toho sa priemerná odchýlka odhadla na $-0,364 \log_{10}$ IU/ml a systematický rozdiel medzi oboma analýzami bol $-0,352 \log_{10}$ IU/ml a $-0,376 \log_{10}$ IU/ml pre vzorky s úrovňami DNA 3 a 4 $\log_{10}$ IU/ml, v tomto poradí.

Ekvivalencia systémov/porovnanie systémov

Ekvivalencia systémov cobas® 5800, cobas® 6800 a cobas® 8800 sa preukázala prostredníctvom štúdií na vyhodnotenie účinnosti. Výsledky uvedené v návode na použitie podporujú ekvivalentnú účinnosť pre všetky systémy.

Ďalšie informácie

Kľúčové funkcie testu

Typ vzorky	EDTA plazma
Minimálne požadované množstvo vzorky	350 µl*
Vstupný objem vzorky	200 µl
Analytická citlivosť	18,8 IU/ml
Lineárny rozsah	35,0 IU/ml až 1E+08 IU/ml
Špecifickosť	100 %
Zaznamenané genotypy	EBV genotypy 1 a 2

* Mŕtvy objem 150 µl identifikovaný pre sekundárne skúmavky **cobas® omni**. Iné skúmavky použité pre testovanie môžu mať odlišný mŕtvy objem a môžu vyžadovať väčší či menší minimálny objem. Ďalšie informácie vám poskytne miestny servis spoločnosti Roche.

Symbols

Na označenie diagnostických produktov Roche PCR sa používajú nasledujúce symboly.

Tab. 22 Symboly používané na označenie diagnostických produktov Roche PCR

Age/DOB	Vek alebo dátum narodenia		Pomôcka nie je určená na testovanie v blízkosti pacienta	QS IU/PCR	Počet medzinárodných jednotiek QS na PCR; na výpočet výsledkov použite počet medzinárodných jednotiek QS na PCR.
	Prídavný softvér		Pomôcka nie je určená na samotestovanie	SN	Sériové číslo
Assigned Range [copies/mL]	Priradený rozsah (kópie/ml)		Distribútor (Poznámka: Pod symbolom sa môže uviesť príslušná krajina/oblasť)	Site	Lokalita
Assigned Range [IU/mL]	Priradený rozsah (IU/ml)		Nepoužívajte opakovane	Procedure Standard	Štandardná procedúra
EC REP	Autorizované zastúpenie v Európskom spoločenstve		Žena	STERILE EO	Sterilizované etylénoxidom
BARCODE	Dátový list s čiarovým kódom		Určené len na hodnotenie účinnosti IVD		Skladovať v tmavom prostredí
LOT	Číslo šarže	GTIN	Globálne číslo obchodnej jednotky		Teplotné rozmedzie od do
	Biologické riziká		Dovozca		Testovací definičný súbor
REF	Katalógové číslo	IVD	Diagnostická zdravotnícka pomôcka <i>in vitro</i>		Týmto smerom hore
	Označenie súladu s normami CE: toto zariadenie spĺňa príslušné požiadavky na označenie CE ako diagnostické zdravotnícke zariadenie <i>in vitro</i> .	LLR	Dolný limit stanoveného rozsahu	Procedure UltraSensitive	Ultracitlivá procedúra
Collect Date	Dátum odberu		Muž	UDI	Jedinečná identifikácia pomôcky
	Prečítajte si návod na použitie		Výrobca	ULR	Horný limit stanoveného rozsahu
	Obsah postačuje na <n> testov	CONTROL -	Negatívna kontrola	Urine Fill Line	Čiara naplnenia močom
CONTENT	Obsah súpravy		Nesterilné	Rx Only	Len pre USA: federálny zákon obmedzuje predaj tejto pomôcky lekárom alebo na základe jeho predpisu.
CONTROL	Kontrola		Meno pacienta		Dátum spotreby
	Dátum výroby		Číslo pacienta		
	Pomôcka na testovanie v blízkosti pacienta		Tu stiahnite		
	Pomôcka na samotestovanie	CONTROL +	Pozitívna kontrola		
		QS copies / PCR	Počet QS kópií na PCR reakciu, použite počet QS kópií na PCR reakciu na výpočet výsledkov.		

Technická podpora

Ak potrebujete technickú podporu (pomoc), obráťte sa na miestne zastúpenie:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Výrobca a dovozca

Tab. 23 Výrobca a dovozca



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

Vyrobené v USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Ochranné známky a patenty

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

Autorské práva

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referenčné materiály

1. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplant recipients: a global perspective. Preface. *Bone Marrow Transplant*. 2009;44:453-5. PMID: 19861977.
2. Green M. Introduction: Infections in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:3-8. PMID: 23464993.
3. Cohen JL. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med*. 2000;343:481-92. PMID: 10944566.
4. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, et al. Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematologica*. 2016;101:803-11. PMID: 27365460.
5. Allen UD, Preiksaitis JK. Epstein-Barr virus and posttransplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:107-20. PMID: 23465004.
6. San-Juan R, Comoli P, Caillard S, et al. Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20 Suppl 7:109-18. PMID: 24475976.
7. Nijland ML, Kersten MJ, Pals ST, Bemelman FJ, Ten Berge IJ. Epstein-Barr virus-positive posttransplant lymphoproliferative disease after solid organ transplantation: Pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, and management. *Transplant Direct*. 2016;2:e48. PMID: 27500242.
8. Tsai DE, Douglas L, Andreadis C, et al. EBV PCR in the diagnosis and monitoring of posttransplant lymphoproliferative disorder: Results of a two-arm prospective trial. *Am J Transplant*. 2008;8:1016-24. PMID: 18312608.
9. Fryer JF, Heath AB, Wilkinson DE, Minor PD. A collaborative study to establish the 1st WHO International Standard for Epstein-Barr virus for nucleic acid amplification techniques. *Biologicals*. 2016;44:423-33. PMID: 27461128.
10. 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. PMID: 2227421.
11. 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. PMID: 7845459.
12. 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. PMID: 7697717.
13. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7. PMID: 1368485.
14. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. PMID: 8908518.
15. Centers 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.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline, 4th ed. CLSI Document M29-A4. Wayne, PA: CLSI, 2014.
17. Hadinoto V, Shapiro M, Sun CC, Thorley-Lawson DA. The dynamics of EBV shedding implicate a central role for epithelial cells in amplifying viral output. *PLoS Pathog*. 2009;5:e1000496. PMID: 19578433.

Revízia dokumentu

Informácie o revízii dokumentu	
Doc Rev. 2.0 09/2022	Predná strana, tabuľka 2 a tabuľka 3 aktualizované o dodatočné čísla dielov súprav kontrol. Aktualizovaná časť Ochranné známky a patenty vrátane odkazu. V prípade akýchkoľvek otázok sa obráťte na miestneho zástupcu spoločnosti Roche.
Doc Rev. 3.0 05/2023	Vrátenie minimálneho objemu vzorky na pôvodnú úroveň v Návode na použitie a časti Kľúčové funkcie testu. Aktualizované vyhlásenie kompetentného orgánu. Aktualizované označenie cobas®. Drobné opravy textu. V prípade akýchkoľvek otázok sa obráťte na miestneho zástupcu spoločnosti Roche.

Súhrn hlásení týkajúcich sa bezpečnosti a účinnosti môžete nájsť pomocou nasledovného odkazu:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.