

cobas[®] Babesia

**Test nukleovej kyseliny
určený na použitie v systémoch cobas[®] 6800/8800 System**

Určené na diagnostické použitie in vitro

cobas[®] Babesia – 480	P/N: 08244049190
cobas[®] Babesia Control Kit	P/N: 08460981190
cobas[®] NHP Negative Control Kit	P/N: 07002220190
cobas omni MGP Reagent	P/N: 06997546190
cobas omni Specimen Diluent	P/N: 06997511190
cobas omni Lysis Reagent	P/N: 06997538190
cobas omni Wash Reagent	P/N: 06997503190

Obsah

Účel použitia	4
Súhrn a vysvetlenie testu	4
Činidlá a materiály.....	7
cobas® Babesia činidlá a regulátory	7
Činidlá cobas omni na prípravu vzoriek	10
Požiadavky na skladovanie činidiel a manipuláciu s nimi	11
Ďalšie vyžadované materiály	12
Vyžadované prístrojové vybavenie a softvér.....	12
Preventívne opatrenia a požiadavky na manipuláciu.....	13
Výstrahy a preventívne opatrenia	13
Manipulácia s činidlami	14
Vhodné laboratórne postupy.....	14
Odber, preprava a skladovanie vzoriek.....	15
Vzorky od živých darcov.....	15
Návod na použitie.....	17
Procedurálne poznámky	17
Vykonanie testu cobas® Babesia	17
Výsledky.....	18
Kontrola kvality a platnosť výsledkov	18
Interpretácia výsledkov	19
Procedurálne obmedzenia.....	19
Hodnotenie neklinickej účinnosti	20
Kľúčové ukazovatele účinnosti	20
Detekčný limit (LoD)	20
Overenie genotypu.....	21
Analytická špecifickosť	21
Křížová kontaminácia.....	23
Zlyhanie celého systému.....	23

Hodnotenie klinickej účinnosti	24
Klinická citlivosť	24
Klinická špecifickosť	24
Výsledky individuálneho testovania	24
Reprodukovateľnosť	26
Ďalšie informácie.....	29
Kľúčové funkcie testu.....	29
Symboly.....	30
Výrobca a distribútori.....	31
Ochranné známky a patenty	31
Autorské práva.....	31
Referenčné materiály.....	32
Revízia dokumentu	34

Účel použitia

Test **cobas®** Babesia určený na použitie v systémoch **cobas®** 6800 System a **cobas®** 8800 System je kvalitatívny skrínin-gový test kyseliny nukleovej *in vitro* na priamu detekciu DNA a RNA babézie (*B. microti*, *B. duncani*, *B. divergens* a *B. venatorum*) vo vzorkách plnej krvi od jednotlivých ľudských darcov vrátane darcov plnej krvi a krvných komponentov, ako aj iných živých darcov. Tento test je tiež určený na skrínin darcov orgánov a tkanív v prípade odberu vzoriek od darcu, keď srdce darcu ešte stále pracuje. Vzorky plnej krvi od všetkých darcov možno vyšetriť skríninovým testom ako jednotlivé vzorky.

Tento test nie je určený ako pomôcka pri diagnostikovaní infekcie babézie.

Tento test nie je určený na použitie so vzorkami pupočnikovej krvi.

Tento test nie je určený na použitie s kadaveróznymi vzorkami krvi.

Súhrn a vysvetlenie testu

Základné informácie

Babézia je protozoálny parazit, ktorý infikuje červené krvinky (RBC) a môže spôsobiť ochorenie známe ako babezióza. Babezióza sa dá liečiť antibiotikami a antiparazitikami. Nie je dostupná žiadna vakcína.¹

Väčšina prípadov babeziózy je asymptomatická. Medzi symptómy (ak sa prejavia) patria symptómy podobné chrípke (horúčka, zimnica, potenie, bolesť hlavy, myalgia, artralgia) a hemolytická anémia alebo trombocytopenia. Babezióza je potenciálne život ohrozujúca u pacientov s aspléniou, oslabeným imunitným systémom (napr. v dôsledku rakoviny, lymfómu alebo syndrómu získanej imunitnej nedostatočnosti (AIDS)), komorbiditou ako je ochorenie pečene alebo obličiek, prípadne u pacientov starších ako 50 rokov. U týchto pacientov s oslabeným imunitným systémom môže babezióza viesť k zlyhaniu viacerých orgánov, diseminovanej intravaskulárnej koagulácii a môže dôjsť k úmrtiu.¹

Bolo identifikovaných viac než sto druhov babézie. O štyroch druhoch babézie je známe, že spôsobujú ochorenie u ľudí: *B. microti*, *B. duncani*, *B. divergens* a *B. venatorum*. K prenosu babézie zvyčajne dochádza uštipnutím kliešťom (druh *Ixodes*), no k jej prenosu môže dôjsť aj pri transfúzii, prípadne z matky na dieťa počas tehotenstva alebo pri pôrode. Kliešte druhu *Ixodes*, ktoré prenášajú babéziu, sú rozšírené po celom svete.² Drvivá väčšina prípadov súvisiacich s transfúziou ako aj klinických prípadov bola, v Spojených štátoch (USA) spôsobená druhom *Babesia microti*. Približne 2 % nahlásených prípadov spôsobil druh *Babesia duncani*.³ Prevládajúcim druhom v Európe je *Ixodes ricinus*, zatiaľ čo prevládajúcimi druhmi kliešťov rodu *Ixodes* v Ázii sú *I. persulcata* a *I. ovatus*.² Ku všetkým prípadom prenosu babeziózy pri transfúzii došlo doteraz výlučne v Spojených štátoch a Kanade.⁴ Babézia je jednou z najčastejších infekcií súvisiacich s prenosom pri transfúzii v USA.^{5,6} Infekcie babézie u ľudí boli nahlásené v Austrálii,¹ Belgicku,⁷ Bolívii,⁸ Českej republike,⁹ Čiernej Hore,^{10–12} Číne,¹ Egypte,¹ Fínsku,¹ Francúzsku,¹ Južnej Afrike,¹³ Mexiku,¹ Nemecku,¹ Nórsku,¹⁴ Poľsku,¹ Portugalsku,¹⁵ Rakúsku,¹ Rovníkovej Guinei,¹ Španielsku,¹ Švajčiarsku¹⁶ a Taliansku.¹

K prenosu babeziózy môže dochádzať na miestach, ktoré nie sú považované za vysokorizikové z hľadiska prenosu parazita, pretože darcovia krvi môžu cestovať do endemických oblastí. Darcovia krvi nemusia vedieť o tom, že sú nosičmi parazita. Môže sa u nich vyskytnúť asymptomatická parazitémia a infekčnými môžu zostať rok alebo dlhšie. Parazit dokáže prežiť aj v krvných produktoch. Väčšina prípadov súvisiacich s transfúziou je spojená s erytrocytmi (vrátane leukoredukovaných alebo ožiarených jednotiek) a pár prípadov bolo spôsobených transfúziou krvných doštičiek derivovaných z plnej krvi. Pri prospektívnom testovaní 89 153 darovaných vzoriek krvi v endemických oblastiach USA bolo 0,38 % vzoriek pozitívnych na babéziu.¹⁷

Odôvodnenie použitia NAT testovania

Babéziu zvyčajne prenášajú kliešte, k jej prenosu však môže dôjsť aj pri transfúzii.¹⁷ Klinickí lekári môžu prehliadnuť diagnózu babeziózy súvisiacej s transfúziou, pretože klinická prezentácia je nešpecifická a rozsiahla distribúcia krvných produktov vedie k tomu, že prípady sa môžu vyskytnúť mimo oblastí s vysokým výskytom babézie a mimo letných mesiacov, keď vrcholí sezóna ochorení prenášaných kliešťami.

Rovnako ako v prípade iných infekčných ochorení, na ktoré sa vyšetrujú darované vzorky krvi, musia byť tieto vzorky vyšetrené citlivou analýzou na detekciu babézie, aby sa dali zachytiť a zlikvidovať infikované jednotky. Test **cobas® Babesia** poskytuje citlivý a špecifický spôsob detekcie babézie, čím zabezpečuje zvýšenú ochranu pred infekciou babézie prenášanou pri transfúzii u príjemcov darovaných krvných komponentov alebo produktov a ďalej zvyšuje bezpečnosť zásobovania krvou.

Vysvetlenie testu

cobas® Babesia je kvalitatívny test PCR na detekciu DNA a RNA babézie, ktorý sa aplikuje pomocou systémov **cobas® 6800 System** a **cobas® 8800 System**. Test **cobas® Babesia** deteguje štyri druhy babézie: *Babesia microti* (najrozšírenejší v USA), *Babesia duncani*, *Babesia divergens* (najrozšírenejší v Európe) a *Babesia venatorum*.

Princípy procedúry

Test **cobas® Babesia** využíva plne automatizovanú prípravu vzoriek (extrakcia a purifikácia nukleovej kyseliny), po ktorej nasleduje amplifikácia PCR a detekcia.

Systémy **cobas® 6800/8800 System** pozostávajú z modulu na podávanie vzoriek, prenosového modulu, spracovacieho modulu a analytického modulu. Automatickú správu údajov vykonáva softvér **cobas® 6800/8800**, ktorý označuje výsledky testu pre všetky testy ako nereaktívne, reaktívne alebo neplatné. Výsledky si môžete pozrieť priamo na obrazovke systému a vytlačené formou správy.

Vzorky majú byť testované ako jednotlivé vzorky.

Plná krv môže byť odobratá do určenej skúmavky Roche na odber plnej krvi. Prípadne môžete manuálne premiestniť plnú krv odobratú do skúmavky s EDTA do skúmavky Roche na odber plnej krvi. Skúmavka na odber plnej krvi obsahuje patentovanú prídavnú látku na dezintegráciu buniek v plnej krvi, ktorá uvoľňuje a konzervuje nukleové kyseliny. Skúmavka obsahujúca dezintegrovanú plnú krv predstavuje primárnu skúmavku v analyzátore, v ktorej prebehne príprava univerzálnej vzorky vykonaná systémami **cobas® 6800/8800 System**.

Počas prípravy univerzálnej vzorky sa pridávajú molekuly vnútornej kontrolnej vzorky (IC) Armored RNA, ktoré zabezpečujú kontrolu procesu prípravy vzorky a amplifikácie/detekcie. Test tiež využíva dve externé kontroly: pozitívnu a negatívnu kontrolnú vzorku. Okrem dezintegrácie vzorky a uvoľňovania nukleovej kyseliny, ku ktorým dochádza v primárnej skúmavke, dochádza k uvoľňovaniu nukleových kyselín aj v dôsledku pridania proteázy a dezintegračného činidla do vzorky a kontrolných vzoriek. Uvoľnené nukleové kyseliny sa viažu na povrch častíc magnetického skla, ktoré sú pridané do vzorky. Neviazané látky a nečistoty ako sú denaturované proteíny, bunkový odpad a potenciálne inhibítory PCR (ako je hemoglobín) sa odstraňujú následnými krokmi s využitím premývacieho činidla, pričom purifikované nukleové kyseliny sa eluujú z častíc skla pomocou elučného pufru pri zvýšenej teplote.

Selektívna amplifikácia cieľovej nukleovej kyseliny zo vzorky od darcu sa dosiahne použitím špecifických priamych a spätných primerov, ktoré sú vybrané z vysoko-zachovaných oblastí cieľovej nukleovej kyseliny. Tepelne stabilný enzým DNA polymerázy sa používa na reverznú transkripciu a amplifikáciu. Hlavná zmes zahŕňa deoxyuridín trifosfát (dUTP) namiesto deoxytymidín trifosfátu (dTTP), ktorý je zapracovaný do čerstvo syntetizovanej DNA (amplikón).^{18–20} Všetky kontaminujúce amplikóny z predchádzajúcich cyklov PCR sú zničené enzýmom AmpErase (uracil-N-glykozyláza), ktorý je súčasťou zmesi PCR, pri zahriatí počas prvého kroku tepelného cyklu. Novovytvorené amplikóny však zničené nebudú, nakoľko enzým AmpErase sa deaktivuje pri vystavení teplotám nad 55 °C.

Hlavná zmes testu **cobas® Babesia** obsahuje detekčné sondy, ktoré sú špecifické pre babéziu a nukleovú kyselinu IC. Špecifické detekčné sondy pre babéziu a IC sú označené jedným z dvoch rozdielnych fluorescenčných farbív, ktoré slúži ako reportér. Každá sonda má tiež druhé farbivo, ktoré slúži ako zhášač. Dva reportéry sú pozorovateľné pri určených

vlnových dĺžkach, čo umožňuje detegovať a rozlíšiť cieľovú amplifikovanú babéziu a IC.^{21, 22} Pri absencii väzby na cieľovú sekvenciu bude fluorescenčný signál neporušených sond potlačený zhášačom. Počas kroku amplifikácie PCR má hybridizácia sond na špecifické matrice jednovláknovej DNA za následok štiepenie 5' až 3' nukleázovou aktivitou DNA polymerázy, čo má za následok oddelenie reportéra a zhášača. Tým sa vytvorí fluorescenčný signál. Pri každom cykle PCR vzniká rastúce množstvo rozštiepených sond, čím súčasne dochádza k zosilneniu kumulovaného signálu reportéra. Keďže dva špecifické reportéry sú pozorovateľné pri určených vlnových dĺžkach, možno súčasne detegovať a rozlíšiť cieľovú amplifikovanú babéziu a IC.

Činidlá a materiály

cobas® Babesia činidlá a regulátory

Všetky uzavreté činidlá a regulátory musia byť uložené tak, ako to odporúča Tabuľka 1 až Tabuľka 4.

Tabuľka 1 cobas® Babesia

cobas® Babesia		
Skladujte pri 2 – 8 °C		
480 testovacích kaziet (P/N 08244049190)		
Súčasť súpravy	Zloženie reagensí	Množstvo v súprave 480 testov
Roztok proteinázy (PASE)	Tris pufer, < 0,05 % EDTA, chlorid vápenatý, octan vápenatý, 8 % (w/v) proteináza EUH210: Na požiadanie možno poskytnúť kartu bezpečnostných údajov. EUH208: Obsahuje subtilisín. Môže vyvolať alergickú reakciu.	38 ml
Vnútorná kontrola (IC)	Tris pufer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % konštrukt Armored RNA vnútornej kontrolnej vzorky (neinfekčná RNA uzavretá v MS2 bakteriofágu), < 0,002 % Poly rA RNA (syntetická), < 0,1 % azid sodný	38 ml
Lúhovací roztok (EB)	Tris pufer, 0,2 % metyl-4-hydroxybenzoát	38 ml
Master Mix Reagent 1 (MMX-R1)	Octan manganatý, hydroxid draselný, < 0,1 % azid sodný	14,5 ml
Babesia Master Mix Reagent 2 (MMX-R2)	Tricínový pufer, octan draselný, glycerol, 18 % dimetylsulfoxid, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,14 % dATP, dGTP, dCTP, dUTP, < 0,01 % priame a spätné primery pre babéziu a vnútornú kontrolu, < 0,01 % fluorescenčne označené sondy pre babéziu, < 0,01 % fluorescenčne označená sonda pre vnútornú kontrolu, < 0,01 % oligonukleotidový aptamér, < 0,01 % Z05D DNA polymeráza, < 0,01 % enzým AmpErase (uracil-N-glykozyláza) (mikrobiálny), < 0,1 % azid sodný	17,5 ml

Tabuľka 2 cobas® Babesia Control Kit

cobas® Babesia Control Kit

Skladujte pri 2 – 8 °C
(P/N 08460981190)

Súčasťi súpravy	Zloženie reagensí	Množstvo v súprave	Bezpečnostný symbol a varovanie*
Babesia Positive Control (Babesia (+) C)	< 0,001 % syntetická (zosilnená) RNA babézie uzavretá v obalovom proteíne bakteriofágu MS2, normálna ľudská plazma, DNA a RNA babézie nezistiteľné metódami PCR. 0,1 % konzervačná látka ProClin® 300**	10,4 ml (16 × 0,65 ml)	  POZOR H317: Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu. P261: Zabráňte vdychovaniu prachu/dymu/plynu/hmly/pár/aerosólov. P272: Je zakázané vynieť kontaminovaný pracovný odev z pracoviska. 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 pre likvidáciu odpadov. 55965-84-9 Reakčná masa: 5-chlór-2-metyl-4-izotiazolín-3-ón [EC č. 247-500-7] a 2-metyl-2H-izotiazol-3-ón [EC č. 220-239-6] (3:1)

* Označovanie bezpečnosti produktu vyplýva hlavne z nariadenia EÚ o systéme GHS.

** Nebezpečná látka.

Tabuľka 3 cobas® NHP Negative Control Kit

cobas® NHP Negative Control Kit

Skladujte pri 2 – 8 °C
(P/N 07002220190)

Súčasť súpravy	Zloženie reagensii	Množstvo v súprave	Bezpečnostný symbol a varovanie*
Normal Human Plasma Negative Control (NHP-NC)	Normálna ľudská plazma, DNA a RNA babézie nezistiteľné metódami PCR. < 0,1 % konzervačná látka ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	  POZOR H317: Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu. P261: Zabráňte vdychovaniu prachu/dymu/plynu/hmly/pár/aerosólov. P272: Je zakázané vyniesť kontaminovaný pracovný odev z pracoviska. 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 pre likvidáciu odpadov. 55965-84-9 Reakčná masa: 5-chlór-2-metyl-4-izotiazolín-3-ón [EC č. 247-500-7] a 2-metyl-2H-izotiazol-3-ón [EC č. 220-239-6] (3:1)

* Označovanie bezpečnosti produktu vyplýva hlavne z nariadenia EÚ o systéme GHS.

** Nebezpečná látka.

Činidlá cobas omni na prípravu vzoriek

Tabuľka 4 Činidlá cobas omni na prípravu vzoriek*

Činidlá	Zloženie reagensí	Množstvo v súprave	Bezpečnostný symbol a varovanie**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Skladujte pri 2 – 8 °C. (P/N 06997546190)	Častice magnetického skla, 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)	42,56 % (w/w) guanidín tiokyanát***, 5 % (w/v) polidokanol***, 2 % (w/v) diitotreitol***, dihydrát citrónanu sodného	4 × 875 ml	 NEBEZPEČENSTVO H302 + H332: Zdraviu škodlivý pri požití alebo vdýchnutí. H314: Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí. H412: Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. EUH032: Pri kontakte s kyselinami uvoľňuje veľmi toxický plyn. P261: Zabráňte vdychovaniu prachu/dymu/plynu/hmly/pár/aerosólov. P273: Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P280: Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre. 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. 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. 593-84-0 Guanidinium thiocyanate 9002-92-0 Polidocanol 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

* Tieto činidlá nie sú súčasťou testovacej súpravy cobas® Babesia. Pozrite si zoznam ďalších vyžadovaných materiálov (Tabuľka 7).

** Označovanie bezpečnosti produktu vyplýva hlavne z nariadenia EÚ o systéme GHS.

*** Nebezpečná látka.

Požiadavky na skladovanie činidiel a manipuláciu s nimi

Otvorené činidlá sa musia uchovávať a musí sa s nimi zaobchádzať tak, ako to uvádza Tabuľka 5 a Tabuľka 6.

Keď činidlá nie sú vložené v systéme **cobas® 6800/8800 System**, skladujte ich za náležitej teploty, ako to uvádza Tabuľka 5.

Tabuľka 5 Skladovanie činidiel (keď činidlo nie je v systéme)

Činidlo	Teplota skladovania
cobas® Babesia – 480	2 – 8 °C
cobas® Babesia 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

Činidlá vložené do systémov **cobas® 6800/8800 System** sa uchovávajú pri správnej teplote a ich exspiráciu monitoruje systém. Systém umožňuje použiť činidlá, iba ak sú splnené všetky podmienky, ktoré uvádza Tabuľka 6. Systém automaticky zabráni použitiu exspirovaných činidiel. Tabuľka 6 umožňuje používateľovi oboznámiť sa s podmienkami manipulácie s činidlami, ktoré vyžadujú systémy **cobas® 6800/8800 System**.

Tabuľka 6 Podmienky týkajúce sa exspirácie činidiel vyžadované systémami **cobas® 6800/8800 System**

Činidlo	Dátum exspirácie súpravy	Stabilita otvorenej súpravy	Počet cyklov, pri sa môže táto súprava použiť	Stabilita v zariadení (súhrnný čas v zariadení mimo chladničky)
cobas® Babesia – 480	Neexspirované	60 dní od prvého použitia	Max. 20 cyklov	Max. 20 hodín
cobas® Babesia Control Kit	Neexspirované	Netýka sa ^a	Netýka sa	Max. 10 hodín
cobas® NHP Negative Control Kit	Neexspirované	Netýka sa ^a	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

^a Činidlá na jedno použitie.

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

Ďalšie vyžadované materiály

Tabuľka 7 Materiál a spotrebný materiál určený na použitie v systémoch **cobas® 6800/8800 System**

Materiál	P/N
Skúmavka Roche na odber plnej krvi	08827907001
Doštička na spracovanie cobas omni	05534917001
Doštička 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
Vreca na tuhý odpad a nádoba na tuhý odpad alebo vreca na tuhý odpad s vložkou a zásuvkou na súpravu	07435967001 a 07094361001 alebo 08030073001 a 08387281001
Vreca na tuhý odpad s vložkou (súprava 20 kusov)	08030073001
Nádoba na tuhý odpad	07094361001

Vyžadované prístrojové vybavenie a softvér

V prístrojoch musí byť nainštalovaný softvér **cobas® 6800/8800** a analytický balík **cobas® Babesia**. Server Instrument Gateway (IG) bude dodaný so systémom. Softvér **cobas® Synergy** musí byť nainštalovaný, ak je k dispozícii.

Tabuľka 8 Prístrojové vybavenie

Príslušenstvo	P/N
Systém cobas® 6800 System (prenosná verzia)	06379672001
Systém cobas® 6800 System (neprenosná verzia)	05524245001
cobas® 8800 System	05412722001
Modul na podávanie vzoriek	06301037001
Softvér cobas® Synergy na USB kľúči (voliteľný)	07788339001

Poznámka: Ak potrebujete podrobný objednávací zoznam stojanov na vzorky, stojanov na špičky so zrazeninou a zásuvkových stojanov, ktoré možno 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*.
- So všetkými vzorkami 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.^{23,24} Túto procedúru musia vykonávať len osoby so skúsenosťami s používaním systémov **cobas® Babesia** a **cobas® 6800/8800 System** vyškolené v oblasti manipulácie s infekčnými materiálmi.
- Všetky produkty z ľudskeho tela musia byť považované za potenciálne infekčné a malo by sa s nimi narábať v súlade s bežnými bezpečnostnými pokynmi. Ak dôjde k rozliatiu týchto produktov, okamžite vykonajte dezinfekciu pomocou čerstvo pripraveného 0,5 % roztoku chlórnanu sodného v destilovanej alebo deionizovanej vode (zriedené bielidlo pre domácnosti v pomere 1 : 10) alebo postupujte v súlade s príslušnými miestnymi postupmi.
- Súpravy **cobas® Babesia Control Kit** a **cobas® NHP Negative Control Kit** obsahujú plazmu derivovanú z ľudskej krvi. Testovanie normálnej ľudskej plazmy metódami PCR taktiež nezistilo detegovateľný výskyt DNA a RNA babézie. Žiadna známa testovacia metóda nemôže plne zaručiť, že nedôjde k prenosu infekčných činiteľov produktmi derivovanými z ľudskej krvi.
- Prídavná látka v skúmavke Roche na odber plnej krvi obsahuje guanidín hydrochlorid. Dbajte na to, aby nedošlo k priamemu kontaktu guanidín hydrochloridu a chlórnanu sodného (bieliaci roztok) alebo vysoko reaktívnych činidiel, akými sú napr. kyseliny alebo zásady. Tieto zmesi môžu uvoľňovať škodlivý plyn. Ak dôjde k rozliatiu prídavnej látky, ktorá obsahuje guanidín hydrochlorid, vyčistite zasiahnuté miesto vhodným laboratórnym detergentom a vodou. Ak rozliata prídavná látka obsahuje potenciálne infekčné činitele, zasiahnuté miesto NAJSKÔR vyčistite laboratórnym detergentom a vodou, potom 0,5 % roztokom chlórnanu sodného.
- Odporúča sa použitie sterilných jednorazových pipiet a pipetových špičiek bez obsahu nukleázy. Ak chcete zabezpečiť optimálne vykonanie testu, používajte len dodaný alebo špecifikovaný vyžadovaný spotrebný materiál.
- 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.

Manipulácia s činidlami

- So všetkými činidlami, kontrolnými vzorkami a vzorkami zaobchádzajte v súlade s osvedčenými laboratórnymi postupmi tak, aby sa predišlo prenosu vzoriek alebo kontrolných vzoriek.
- Pred použitím skontrolujte všetky kazety s činidlami, rozpúšťadlá, dezintegračné činidlá a premývacie činidlá, či nevykazujú znaky unikania. Ak existuje nejaký dôkaz, že materiál uniká, na testovanie ho nepoužívajte.
- Dezintegračné činidlo **cobas omni** Lysis Reagent obsahuje guanidín tiokyanát, čo je potenciálne nebezpečná chemikália. Dbajte na to, aby nedošlo ku kontaktu týchto činidiel s pokožkou, očami alebo sliznicami. Ak dôjde ku kontaktu, zasiahnuté miesto okamžite opláchnite veľkým množstvom vody. V opačnom prípade hrozí riziko popálenín.
- Prídavná látka v skúmavke Roche na odber plnej krvi obsahuje guanidín hydrochlorid, čo je potenciálne nebezpečná chemikália. Zabráňte kontaktu tejto prídavnej látky s pokožkou, očami a sliznicami. Ak dôjde ku kontaktu, zasiahnuté miesto okamžite opláchnite veľkým množstvom vody. V opačnom prípade hrozí riziko popálenín.
- Súpravy **cobas®** Babesia, činidlo **cobas omni** MGP Reagent a rozpúšťadlo na vzorky **cobas omni** Specimen Diluent obsahujú azid sodný, ktorý slúži ako konzervačná látka. Dbajte na to, aby nedošlo ku kontaktu týchto 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, aby nedošlo ku kontaktu dezintegračného činidla **cobas omni** Lysis Reagent, ktoré obsahuje guanidíntiokyanát, s chlórnanovým (bieliacim) roztokom. V opačnom prípade môže dôjsť k tvorbe vysoko toxického plynu.
- Karty bezpečnostných údajov (SDS) sú k dispozícii na požiadanie od miestneho zástupcu spoločnosti Roche.
- Všetky materiály, ktoré prišli do styku so vzorkami a činidlami, zlikvidujte v súlade so štátnymi a miestnymi predpismi.

Vhodné laboratórne postupy

- Pipetu nenapĺňajte 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. Medzi manipuláciou so vzorkami a súpravami **cobas®** Babesia a činidlami **cobas omni** si musíte vymeniť rukavice, aby sa zabránilo kontaminácii. Pri manipulácii so vzorkami a kontrolnými vzorkami dbajte na to, aby nedošlo ku kontaminácii rukavíc. Rukavice vymeňte, ak sa kontaminujú vzorkou, kontrolnou vzorkou alebo činidlami.
- 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 0,5 % roztoku chlórnanu sodného v destilovanej alebo deionizovanej vode (zriedené bielidlo pre domácnosti v pomere 1 : 10). Následne pracovné povrchy utrite utierkou namočenou do 70 % etanolu.
- Ak dôjde k rozliatiu materiálu na prístroje **cobas®** 6800/8800, postupujte podľa pokynov v používateľskej príručke k systémom **cobas®** 6800/8800 System a riadne vyčistite a dekontaminujte povrch prístrojov.

Odber, preprava a skladovanie vzoriek

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

Všetky vzorky od darcov uchovávajte pri predpísanej teplote.

Zvýšenie teploty má vplyv na stabilitu vzoriek.

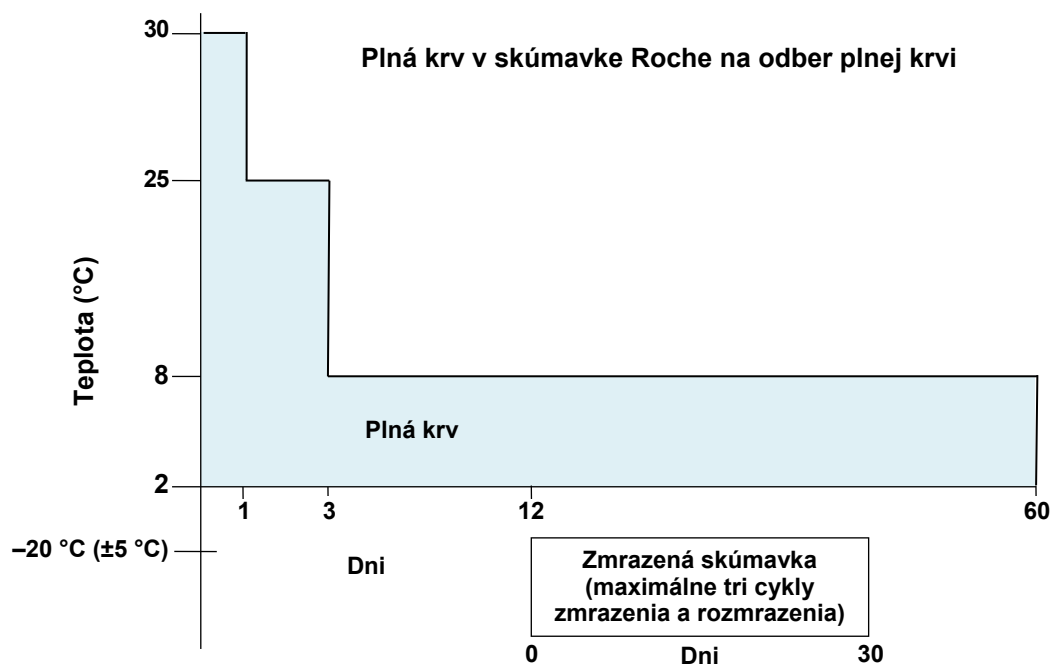
Vzorky odstreďujte 2 minúty pri relatívnej odstredivej sile (RCF) $1\,000 \times g$.

Vzorky od živých darcov

- Plnú krv odobranú do skúmavky Roche na odber plnej krvi možno použiť pri teste **cobas®** Babesia. Pri manipulácii a odstreďovaní postupujte podľa pokynov výrobcu skúmavky na odber vzoriek.
- Plnú krv odobranú do skúmavky Roche na odber plnej krvi možno uchovávať maximálne 60 dní za týchto podmienok:
 - Pri skladovaní pri teplote nad 8 °C možno vzorky uchovávať 72 hodín pri teplote do 25 °C a 24 hodín pri teplote do 30 °C počas uvedených 72 hodín.

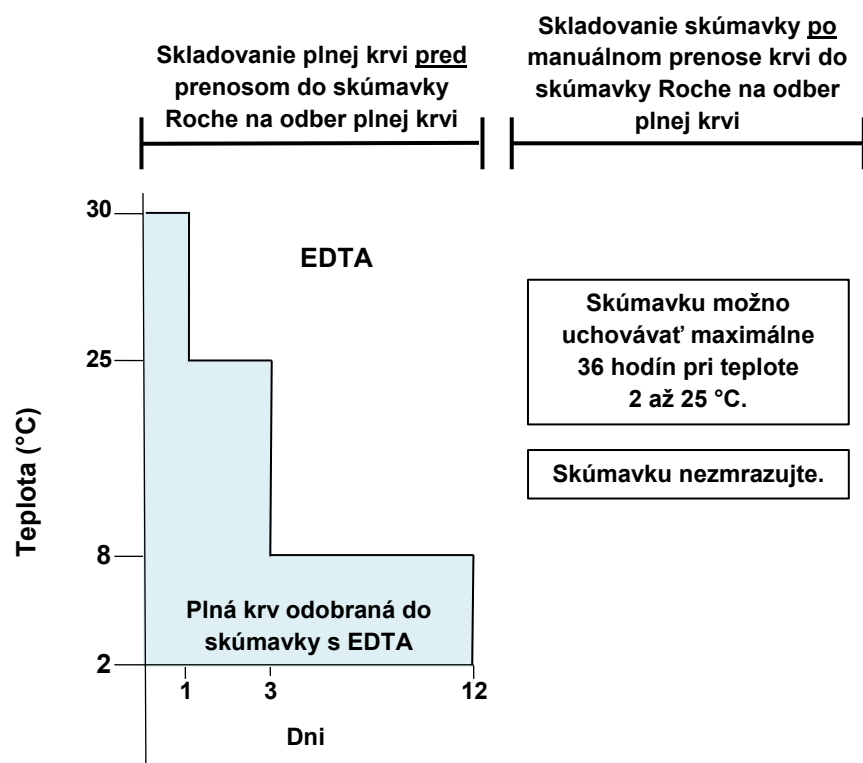
Inak sa vzorky uchovávajú pri teplote 2 až 8 °C. Okrem toho možno uchovávať skúmavku Roche na odber plnej krvi po 12 dňoch maximálne 30 dní pri teplote –20 °C (± 5 °C) s tromi cyklami zmrazenia a rozmrazenia. Pozrite si Obrázok 1.

Obrázok 1 Podmienky skladovania vzoriek odobraných do skúmavky Roche na odber plnej krvi



- Ak nie je na testovanie k dispozícii skúmavka Roche na odber plnej krvi od darcu (napr. ak je poškodená alebo plná krv nebola odobraná skúmavkou Roche na odber plnej krvi), pri teste **cobas® Babesia** možno použiť plnú krv odobranú do skúmavky s EDTA.
- Pre testovanie pomocou testu **cobas® Babesia** musíte **manuálne preniesť** 1,1 ml plnej krvi zo skúmavky s EDTA do skúmavky Roche na odber plnej krvi.
- Plnú krv odobranú do skúmavky s EDTA možno uchovávať maximálne 12 dní pred rozriedením v skúmavke Roche na odber plnej krvi za týchto podmienok:
 - Pri skladovaní pri teplote nad 8 °C možno vzorky uchovávať 72 hodín pri teplote do 25 °C a 24 hodín pri teplote do 30 °C počas uvedených 72 hodín.
 - Inak sa vzorky uchovávajú pri teplote 2 až 8 °C. Pozrite si Obrázok 2.
- Po rozriedení v skúmavke na odber plnej krvi možno skúmavku uchovávať maximálne 36 hodín pri teplote 2 až 25 °C.

Obrázok 2 Podmienky skladovania vzoriek od živých darcov odobraných do skúmaviek s EDTA



- 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

- Činidlá **cobas®** Babesia, súpravy **cobas®** Babesia Control Kit, **cobas®** NHP Negative Control Kit ani činidlá **cobas omni** nepoužívajte po dátume expirácie.
- Spotrebný materiál nepoužívajte opakovane. Je určený len na jedno použitie.
- Pokyny na správnu údržbu prístrojov nájdete v používateľskej príručke systémov **cobas®** 6800/8800 System.
- Ďalšie informácie o voliteľných procedúrach nájdete v používateľskej príručke softvéru **cobas®** Synergy.

Vykonanie testu cobas® Babesia

Testovacia procedúra je podrobne opísaná v používateľskej príručke systémov **cobas®** 6800/8800 System alebo softvéru **cobas®** Synergy, kde sú tiež uvedené podrobnosti o voliteľných procedúrach.

Obrázok 3 uvedený nižšie obsahuje súhrnné informácie o procedúre.

Obrázok 3 Postup vykonania testu **cobas®** Babesia

1	Vytvorte požiadavku.
2	Doplňte činidlá a spotrebný materiál podľa pokynov systému: • Doplňte premývacie činidlo, dezintegračné činidlo a rozpúšťadlo. • Doplňte doštičky na spracovanie a doštičky na amplifikáciu. • Doplňte častice magnetického skla. • Doplňte špecifické činidlá testu. • Doplňte kazety s kontrolnými vzorkami. • Doplňte stojany na špičky. • Vymeňte stojan na špičky so zrazeninou.
3	Spustíte cyklus: • Vložte stojany so vzorkami • Kliknite na tlačidlo spustenia v rozhraní.
4	Skontrolujte a exportujte výsledky.
5	Vyberte spotrebný materiál: • Odstráňte doštičky na amplifikáciu z analytického modulu. • Vyberte prázdne kazety na kontrolné vzorky. • Odstráňte tuhý odpad. • Odstráňte tekutý odpad.

Výsledky

Systémy **cobas**® 6800/8800 System automaticky detegujú prítomnosť nukleovej kyseliny babézie súčasne vo vzorkách aj kontrolných vzorkách.

Kontrola kvality a platnosť výsledkov

- S každou dávkou je spracovaná jedna negatívna kontrolná vzorka ((-) C) a jedna pozitívna kontrolná vzorka (Babesia (+) C).
- Skontrolujte, či sa v softvéri **cobas**® 6800/8800 a/alebo správe nevyskytujú príznaky a pozrite si súvisiace výsledky, aby ste sa uistili, že je dávka platná.
- Dávka je platná, ak sa pre obe kontrolné vzorky neobjavili žiadne príznaky.

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

Príznaky kontrolných vzoriek

Tabuľka 9 Príznaky kontrolných vzoriek pre negatívne a pozitívne kontrolné vzorky

Negatívna kontrola	Príznak	Výsledok	Interpretácia
(-) C	Q02	Invalid	Celá dávka je označená ako neplatná, ak je výsledok pre kontrolnú vzorku (-) C neplatný.
Pozitívna kontrola	Príznak	Výsledok	Interpretácia
Babesia (+) C	Q02	Invalid	Celá dávka je označená ako neplatná, ak je výsledok pre kontrolnú vzorku Babesia (+) C neplatný.

Ak je dávka neplatná, zopakujte test pre celú dávku vrátane vzoriek a kontrolných vzoriek.

Interpretácia výsledkov

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

- Platná dávka môže obsahovať platné aj neplatné výsledky vzoriek od darcov v závislosti od výskytu príznakov pri jednotlivých vzorkách.
- Výsledky vzoriek sú platné len vtedy, keď je platná príslušná pozitívna kontrolná vzorka a negatívna kontrolná vzorka zodpovedajúcej dávky.

Pri každej vzorke sú súčasne sledované dva parametre: babézia a vnútorná kontrolná vzorka. Konečné výsledky vzorky pre test **cobas**® Babesia sú uvedené v softvéri. Okrem celkových výsledkov sa v softvéri **cobas**® 6800/8800 zobrazí aj individuálny cieľový výsledok, ktorý sa má interpretovať takto:

Tabuľka 10 Cieľové výsledky na interpretáciu individuálneho cieľového výsledku

Cieľové výsledky	Interpretácia
<i>Babesia</i> Non-Reactive	Nebol detegovaný signál pre babéziu a bol detegovaný signál IC.
<i>Babesia</i> Reactive	Bol detegovaný cieľový signál pre babéziu a signál IC môže alebo nemôže byť detegovaný.
Invalid	Cieľový signál a signál vnútornej kontroly neboli detegované.

Procedurálne obmedzenia

- Test **cobas**® Babesia bol hodnotený len pri použití so súpravami **cobas**® Babesia Control Kit, **cobas**® NHP Negative Control Kit, činidlami **cobas** **omni** MGP Reagent, **cobas** **omni** Lysis Reagent, rozpúšťadlom na vzorky **cobas** **omni** Specimen Diluent a premývacím činidlom **cobas** **omni** Wash Reagent v systémoch **cobas**® 6800/8800 System.
- Spoľahlivosť výsledkov závisí od správneho postupu odberu, uchovávaní a spracovania vzoriek.
- Detekcia DNA a RNA babézie závisí od počtu červených krviniek infikovaných babéziou prítomných vo vzorke a môže ju ovplyvniť odber, uchovávanie a spracovanie vzoriek, faktory pacienta (t. j. vek, výskyt symptómov) a/alebo štádium infekcie.
- Mutácie v rámci vysoko zachovaných oblastí genómu babézie pokryté testom **cobas**® Babesia môžu ovplyvniť väzby primeru a/alebo sondy s následným zlyhaním detekcie prítomnosti organizmov babézie.
- 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.
- Účinnosť testu pri kadaverózných vzorkách krvi nebola stanovená.

Hodnotenie neklinickej účinnosti

Kľúčové ukazovatele účinnosti

Detekčný limit (LoD)

Detekčný limit (LoD) testu **cobas® Babesia** bol stanovený pomocou týchto červených krviniek infikovaných babéziou (iRBC) zriedených v plnej ľudskej krvi.

- RBC infikované *B. microti* boli získané zo škrečka infikovaného *B. microti* (ATCC, *Babesia microti* Gray, kmeň 30221).
- RBC infikované *B. duncani* boli získané zo škrečka infikovaného *B. duncani* (ATCC, kmeň PRA 302).
- RBC infikované *B. divergens* boli získané z čerstvo infikovanej ovčej krvi s *B. divergens* (Oniris, kmeň B128).
- RBC infikované *B. venatorum* boli získané z čerstvo infikovanej ovčej krvi s *B. venatorum* (Oniris, kmeň C201).

Titer kmeňa poskytol dodávateľ a bol priradený ako percentuálna hodnota parazitémie (počet červených krviniek infikovaných babéziou na ml, kmeň Giemsa).

Pre každý kmeň infikovaných červených buniek boli pripravené tri samostatné série riedení v ľudskej krvi. Pred použitím testu **cobas® Babesia** bol každý člen panela zriedený v skúmavke Roche na odber plnej krvi, ktorá obsahovala pred-analytické chaotropické činidlo, prídavnú látku na báze guanidínu používanú na dezintegráciu buniek v plnej krvi, ktorá uvoľňuje a konzervuje nukleové kyseliny.

Každá séria riedení bola testovaná pomocou troch rôznych šarží súpravy **cobas® Babesia** s približne 42 replikátmi na šaržu, čo predstavuje celkovo približne 126 replikátov na koncentráciu. Pri každom druhu babézie bola na odhad LoD a dolného a horného limitu 95 % intervalu spoľahlivosti použitá analýza PROBIT kombinovaných údajov všetkých sérií riedení a šarží činidiel (Tabuľka 11). Miery reaktivity pozorované pri štúdiách LoD pre babéziu uvádza Tabuľka 12 až Tabuľka 15.

Tabuľka 11 Výsledky analýzy PROBIT údajov LoD získaných pre červené krvinky infikované babéziou v ľudskej plnej krvi

Analyt	Merné jednotky	LoD	Dolný limit 95 % spoľahlivosti	Horný limit 95 % spoľahlivosti
<i>Babesia microti</i>	iRBC/ml	6,1	5,0	7,9
<i>Babesia duncani</i>	iRBC/ml	50,2	44,2	58,8
<i>Babesia divergens</i>	iRBC/ml	26,1	22,3	31,8
<i>Babesia venatorum</i>	iRBC/ml	40,0	34,1	48,7

Tabuľka 12 Prehľad mier reaktivity pre *Babesia microti*

Koncentrácia babézie (iRBC/ml)	Počet reaktívnych	Počet platných replikátov	% reaktivity	95 % dolný limit spoľahlivosti (jednostranný)
11,8	126	126	100,0 %	97,7 %
5,9	119	126	94,4 %	89,8 %
3,0	103	126	81,7 %	75,1 %
1,5	68	126	54,0 %	46,3 %
0,6	33	125	26,4 %	20,0 %

Tabuľka 13 Prehľad mier reaktivity pre *Babesia duncani*

Koncentrácia babézie (iRBC/ml)	Počet reaktívnych	Počet platných replikátov	% reaktivity	95 % dolný limit spoľahlivosti (jednostranný)
80,0	126	126	100,0 %	97,7 %
40,0	115	126	91,3 %	86,0 %
20,0	47	126	37,3 %	30,1 %
10,0	8	126	6,3 %	3,2 %
5,0	2	126	1,6 %	0,3 %

Tabuľka 14 Prehľad mier reaktivity pre *Babesia divergens*

Koncentrácia babézie (iRBC/ml)	Počet reaktívnych	Počet platných replikátov	% reaktivity	95 % dolný limit spoľahlivosti (jednostranný)
40,0	126	126	100,0 %	97,7 %
20,0	119	126	94,4 %	89,8 %
10,0	63	125	50,4 %	42,7 %
5,0	26	126	20,6 %	14,9 %
2,5	12	126	9,5 %	5,6 %

Tabuľka 15 Prehľad mier reaktivity pre *Babesia venatorum*

Koncentrácia babézie (iRBC/ml)	Počet reaktívnych	Počet platných replikátov	% reaktivity	95 % dolný limit spoľahlivosti (jednostranný)
40,0	124	126	98,4 %	95,1 %
20,0	90	126	71,4 %	64,1 %
10,0	38	126	30,2 %	23,4 %
5,0	9	126	7,1 %	3,8 %
2,5	4	126	3,2 %	1,1 %

Overenie genotypu

Účinnosť testu **cobas**® Babesia pri detekcii 4 druhov babézie bola určená testovaním celkovo 10 jedinečných klinických vzoriek pre *Babesia microti* a 3 kultivovaných izolátov babézie. Všetky klinické vzorky boli kvantifikované ako sledovateľné podľa sekundárneho štandardu spoločnosti Roche pre *Babesia microti*. Všetky klinické vzorky boli testované nezriedené a po zriedení ľudskou plnou krvou negatívnou na babéziu na 4-násobok LoD testu **cobas**® Babesia. Všetky tri kultúry babézie boli testované po zriedení ľudskou plnou krvou negatívnou na babéziu na 4-násobok LoD testu **cobas**® Babesia. Všetky klinické vzorky a kultúry podstúpili detekciu ako nezriedené a/alebo po zriedení na 4-násobok LoD.

Analytická špecifickosť

Analytická špecifickosť testu **cobas**® Babesia bola hodnotená z hľadiska krížovej reaktivity 15 mikroorganizmov pri 10^5 až 10^6 kópiách, CFU alebo IU/ml, ktoré zahŕňali 5 vírusových izolátov, 1 parazita, 8 bakteriálnych kmeňov a 1 kvasinkový izolát (Tabuľka 16). Mikroorganizmy boli pridané do ľudskej plnej krvi negatívnej na babéziu a testované bez prídania babézie alebo s prídanim babézie pri koncentrácii približne 3-násobku LoD testu **cobas**® Babesia. Testované mikroorganizmy nevykazovali krížovú reakciu ani nenarúšali priebeh testu **cobas**® Babesia.

Tabuľka 16 Testovanie analytickej špecifickosti mikroorganizmov

Baktérie	Vírusy	Parazity	Kvasinky
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	Vírus hepatitídy B	<i>Plasmodium falciparum</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Propionibacterium acnes</i>	Vírus hepatitídy C	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	Vírus ľudskej imunitnej nedostatočnosti	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Parvovírus B19	-	-
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Západonílsky vírus	-	-
<i>Borrelia hermsii</i>	-	-	-
<i>Borrelia parkeri</i>	-	-	-
<i>Borrelia recurrentis</i>	-	-	-

Analytická špecifickosť – interferujúce látky

Endogénne interferujúce látky

Vzorky plnej krvi s abnormálne vysokými úrovňami triglyceridov (33 g/l), hemoglobínu (≥ 20 g/dl), nekonjugovaného bilirubínu (0,2 g/l), albumínu (60 g/l) a ľudskej DNA (0,002 g/l) boli testované bez pridania babézie alebo s pridaním babézie pri koncentrácii približne 3-násobku LoD testu **cobas®** Babesia. Vzorky s obsahom týchto endogénnych látok nevykazovali interferenciu s citlivosťou ani špecifickosťou testu **cobas®** Babesia.

Exogénne interferujúce látky

Vzorky ľudskej plnej krvi negatívnej na babéziu s abnormálne vysokými koncentráciami liečiv (Tabuľka 17) boli testované bez pridania babézie alebo s pridaním babézie pri koncentrácii približne 3-násobku LoD testu **cobas®** Babesia. Tieto exogénne látky nevykazovali interferenciu s citlivosťou ani špecifickosťou testu **cobas®** Babesia.

Tabuľka 17 Koncentrácie liečiv pridaných do plnej krvi

Názov testovaného liečiva	Koncentrácia
Acetaminofen	1 324 $\mu\text{mol/l}$
Kyselina acetylsalicylová	3 620 $\mu\text{mol/l}$
Kyselina askorbová	342 $\mu\text{mol/l}$
Atorvastatin	600 $\mu\text{g Eq/l}$
Atovaquone	1227 $\mu\text{mol/l}$
Azithromycin	15,3 $\mu\text{mol/l}$
Fluoxetine	11,2 $\mu\text{mol/l}$
Ibuprofen	2425 $\mu\text{mol/l}$
Loratadine	0,78 $\mu\text{mol/l}$
Nadolol	3,88 $\mu\text{mol/l}$
Naproxen	2170 $\mu\text{mol/l}$
Paroxetine	3,04 $\mu\text{mol/l}$
Phenylephrine HCL	491 $\mu\text{mol/l}$
Sertraline	1,96 $\mu\text{mol/l}$

Krížová kontaminácia

Miera krížovej kontaminácie pre test **cobas**® Babesia bola určená testovaním 237 replikátov ľudskej plnej krvi negatívnej na babéziu a 230 replikátov vzorky s vysokým titrom babézie s koncentráciou 1,00E+07 častíc/ml. Štúdia bola vykonaná pomocou systému **cobas**® 6800 System. Celkovo bolo vykonaných päť cyklov s pozitívnymi a negatívnymi vzorkami v šachovnicovej konfigurácii.

Všetkých 237 replikátov negatívnej vzorky bolo nereaktívnych, čo viedlo k 0 % miere krížovej kontaminácie. Obojstranný 95 % presný interval spoľahlivosti mal v prípade dolného limitu hodnotu 0 % a 1,54 % v prípade horného limitu (0 %: 1,54 %).

Zlyhanie celého systému

Miera zlyhania celého systému testu **cobas**® Babesia bola určená testovaním 180 replikátov plnej krvi naočkovaných parazitom *Babesia microti* pri cieľovej koncentrácii vo výške približne 3-násobku LoD. Pred použitím testu **cobas**® Babesia bol každý člen panela zriedený v skúmavke Roche na odber plnej krvi, ktorá obsahovala predanalytické chaotropické činidlo. Štúdia bola vykonaná pomocou systému **cobas**® 6800 System.

Výsledky tejto štúdie preukázali, že všetky replikáty boli reaktívne, čo viedlo k 0 % miere zlyhania celého systému. Obojstranný 95 % presný interval spoľahlivosti mal v prípade dolného limitu hodnotu 0 % a 2,03 % v prípade horného limitu (0 %: 2,03 %).

Hodnotenie klinickej účinnosti

Klinická citlivosť

Klinická citlivosť testu **cobas**® Babesia bola hodnotená pomocou 203 jednotlivých vzoriek (131 klinických vzoriek (*B. microti*) a 72 umelo pripravených vzoriek (*B. microti*, *B. duncani*, *B. venatorum* a *B. divergens*)), o ktorých bolo známe, že sú pozitívne na babéziu na základe testu NAT. Vzorky boli charakterizované overeným interným testom NAT na babéziu, pri ktorom boli použité iné primery a sondy než pri teste **cobas**® Babesia. Štúdia bola realizovaná v troch testovacích laboratóriách, pričom na každom pracovisku bolo testovaných všetkých 203 vzoriek, nezriedených aj zriedených v pomere 1 : 6 (na simuláciu skupín po 6), pomocou troch rôznych šarží testu **cobas**® Babesia.

Klinická citlivosť testu **cobas**® Babesia pri neriedených vzorkách v tejto štúdii bola 100 % (95 % obojstranný interval spoľahlivosti (CI): 98,2 až 100 %) a 100 % pri vzorkách zriedených v pomere 1 : 6 (95 % CI: 98,2 až 100 %) (Tabuľka 18).

Tabuľka 18 Klinická citlivosť vzoriek pozitívnych na babéziu

	Počet testovaných vzoriek	Počet reaktívnych vzoriek	Počet nereaktívnych vzoriek	Citlivosť (%)	Citlivosť (95 % CI*)	
					Dolný limit	Horný limit
Neriedené	203	203	0	100,0 %	98,2 %	100,0 %
1:6	203	203	0	100,0 %	98,2 %	100,0 %

* Metóda presného Clopper-Pearsonovho intervalu

Klinická špecifickosť

Klinická špecifickosť testu **cobas**® Babesia bola hodnotená testovaním darovaných vzoriek krvi odobraných na piatich externých laboratórnych pracoviskách. Vzorky boli odobrané v štátoch USA, ktoré boli klasifikované ako vysokoendemické, nízkoendemické alebo neendemické pre babéziu. V tejto štúdii bolo použitých šesť rôznych šarží činidiel testu **cobas**® Babesia. Klinická špecifickosť testu **cobas**® Babesia bola vypočítaná ako percento (95 % obojstranný CI) darcov negatívnych na babéziu, u ktorých boli výsledky testu **cobas**® Babesia nereaktívne. Celkovo 168 981 hodnotiteľných darovaných vzoriek bolo testovaných ako jednotlivé vzorky. Väčšina hodnotiteľných vzoriek (143 939) bola odobraná vo vysokoendemických štátoch USA.

Výsledky individuálneho testovania

Tabuľka 19 uvádza výpočet klinickej špecifickosti testu **cobas**® Babesia pre celkovo 168 972 hodnotiteľných negatívnych darovaných vzoriek z individuálneho testovania, ako aj pre vysokoendemické, nízkoendemické a neendemické štáty USA. Celková klinická špecifickosť testu **cobas**® Babesia vo všetkých kategóriách endemicity pre darované vzorky testované individuálne bola 99,999 % (168 970/168 972; 95 % CI: 99,996 až 100 %) (Tabuľka 19). Výsledky špecifickosti boli podobné – 99,999 až 100 % – vo všetkých troch kategóriách endemicity (neendemické, nízkoendemické a vysokoendemické). Pri jednotlivých vzorkách bola zaznamenaná miera neplatnosti 0,49 % v dôsledku zlyhania vnútornej kontroly, zlyhania prístrojov, odchýlok od protokolu alebo iných incidentov.

Tabuľka 19 Klinická špecifickosť testu **cobas® Babesia** – celkovo a podľa úrovne endemicity babézie

			Výsledok testu cobas® Babesia		
	Parameter	Celkový počet negatívnych darovaných vzoriek*	Reaktívne	Nereaktívne	Odhad v percentách (95 % presného CI)
Celkom	Klinická špecifickosť	168 972	2	168 970	99,999 (99,996, 100,000)
Neendemické	Klinická špecifickosť	10 824	0	10 824	100,000 (99,966, 100,000)
Nízkoendemické	Klinická špecifickosť	14 217	0	14 217	100,000 (99,974, 100,000)
Vysokoendemické	Klinická špecifickosť	143 931	2	143 929	99,999 (99,995, 100,000)

Poznámka: V tejto súhrnnej tabuľke sú zahrnuté len hodnotiteľné darované vzorky. CI = obojstranný presný binomický interval spoľahlivosti.

Tabuľka 20 uvádza porovnanie výsledkov testu **cobas® Babesia** a statusu darovaných vzoriek pre 168 981 hodnotiteľných darovaných vzoriek celkovo a pre tri rôzne úrovne endemicity. Deväť (z jedenástich) darovaných vzoriek, ktoré boli reaktívne na test **cobas® Babesia**, bolo potvrdených ako pozitívne na babéziu vrátane ôsmich darovaných vzoriek odobraných v štátoch USA, ktoré boli označené ako vysokoendemické pre babéziu.

Tabuľka 20 Porovnanie výsledkov testu **cobas® Babesia** so statusom darovaných vzoriek podľa endemicity – individuálne testovanie vzoriek

	Výsledok testu cobas® Babesia	Status darovaných vzoriek*		Počet celkom
		Pozitívne N (%)	Negatívne N (%)	
Celkom	Reaktívne	9 (100,000)	2 (0,001)	11
	Nereaktívne	0 (0,000)	168 970 (99,999)	168 970
	Celkom	9	168 972	168 981
Neendemické	Reaktívne	1 (100,000)	0 (0,000)	1
	Nereaktívne	0 (0,000)	10 824 (100,000)	10 824
	Celkom	1	10 824	10 825
Nízkoendemické	Reaktívne	0 (0,000)	0 (0,000)	0
	Nereaktívne	0 (0,000)	14 217 (100,000)	14 217
	Celkom	0	14 217	14 217
Vysokoendemické	Reaktívne	8 (100,000)	2 (0,001)	10
	Nereaktívne	0 (0,000)	143 929 (99,999)	143 929
	Celkom	8	143 931	143 939

Poznámka: V tejto súhrnnej tabuľke sú zahrnuté len hodnotiteľné darované vzorky.

* Status darovaných vzoriek bol priradený na základe profilu reaktivity pri testovaní pozorovaného pri indexovej darovanej vzorke (úvodné a doplnujúce indexové testovanie) a/alebo na základe výsledkov sledovacej štúdie.

Reprodukovateľnosť

Reprodukovateľnosť testu **cobas**® Babesia bola stanovená testovaním 13-členného panela pozostávajúceho z jedného negatívneho člena panela a dvanástich vzoriek pozitívnych na jeden zo všetkých štyroch druhov babézie (*B. microti*, *B. duncani*, *B. divergens* a *B. venatorum*) pri troch rôznych koncentráciách (približne 0,5-násobok, 1- až 2-násobok a približne 3-násobok LoD testu **cobas**® Babesia pre každý zo štyroch druhov).

Operátori na každom z troch pracovísk vykonávali testovanie päť dní s každou z troch šarží činidiel **cobas**® Babesia. Denne boli vykonané dva platné cykly panela (t. j. dve dávky, pričom každá dávka obsahovala jeden panel a dve nezávislé kontrolné vzorky), výsledkom čoho bolo až 270 testov na člena panela druhov babézie pri každej z troch koncentrácií.

Všetky platné dávky a výsledky testov boli analyzované výpočtom percenta reaktívnych výsledkov testu pre každého člena panela (Tabuľka 21 (*B. microti*), Tabuľka 22 (*B. duncani*), Tabuľka 23 (*B. divergens*) a Tabuľka 24 (*B. venatorum*)). Táto štúdia preukázala, že test **cobas**® Babesia určený na použitie v systémoch **cobas**® 6800/8800 System vykazuje reprodukovateľnú účinnosť pre všetky hodnotené premenné (šaržu, pracovisko, deň, dávku a v rámci dávky) pri detekcii babézie.

Tabuľka 21 Súhrnné výsledky testov podľa pracoviska, šarže, dňa a dávky (pozitívne členy panela) – *Babesia microti*

Koncentrácia <i>Babesia microti</i>	Lokalita		Šarža		Deň		Dávka	
	ID	% reaktívnych výsledkov	ID	% reaktívnych výsledkov	ID	% reaktívnych výsledkov	ID	% reaktívnych výsledkov
~0,5 × LoD	1	93,3 % (84/90)	1	87,8 % (79/90)	1	96,3 % (52/54)	1	94,8 % (128/135)
	2	96,7 % (87/90)	2	100 % (90/90)	2	94,4 % (51/54)	2	96,3 % (130/135)
	3	96,7 % (87/90)	3	98,9 % (89/90)	3	90,7 % (49/54)	-	-
	-	-	-	-	4	96,3 % (52/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0 % (54/54)	-	-
1 – 2 × LoD	1	100,0 % (90/90)	1	100,0 % (89/89)	1	100,0 % (54/54)	1	100,0 % (135/135)
	2	100,0 % (90/90)	2	100,0 % (90/90)	2	100,0 % (54/54)	2	100,0 % (134/134)
	3	100,0 % (89/89)	3	100,0 % (90/90)	3	100,0 % (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0 % (53/53)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0 % (54/54)	-	-
~3 × LoD	1	100,0 % (90/90)	1	100,0 % (90/90)	1	100,0 % (54/54)	1	100,0 % (135/135)
	2	100,0 % (90/90)	2	100,0 % (90/90)	2	100,0 % (54/54)	2	100,0 % (135/135)
	3	100,0 % (90/90)	3	100,0 % (90/90)	3	100,0 % (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0 % (54/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0 % (54/54)	-	-

Poznámka: LoD = detekčný limit.

Tabuľka 22 Súhrnné výsledky testov podľa pracoviska, šarže, dňa a dávky (pozitívne členy panela) – *Babesia duncani*

Koncentrácia <i>Babesia duncani</i>	Lokalita		Šarža		Deň		Dávka	
	ID	% reaktívnych výsledkov	ID	% reaktívnych výsledkov	ID	% reaktívnych výsledkov	ID	% reaktívnych výsledkov
~0,5 × LoD	1	46,7 % (42/90)	1	62,2 % (56/90)	1	66,7 % (36/54)	1	65,2 % (88/135)
	2	68,9 % (62/90)	2	54,4 % (49/90)	2	63,0 % (34/54)	2	61,5 % (83/135)
	3	74,4 % (67/90)	3	73,3 % (66/90)	3	57,4 % (31/54)	-	-
	-	-	-	-	4	64,8 % (35/54)	-	-
	-	-	-	-	5	64,8 % (35/54)	-	-
1 – 2 × LoD	1	100,0 % (90/90)	1	100,0 % (90/90)	1	100,0 % (53/53)	1	100,0 % (134/134)
	2	100,0 % (90/90)	2	100,0 % (89/89)	2	100,0 % (54/54)	2	100,0 % (135/135)
	3	100,0 % (89/89)	3	100,0 % (90/90)	3	100,0 % (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0 % (54/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0 % (54/54)	-	-
~3 × LoD	1	100,0 % (90/90)	1	100,0 % (89/89)	1	100,0 % (54/54)	1	100,0 % (134/134)
	2	100,0 % (89/89)	2	100,0 % (90/90)	2	100,0 % (54/54)	2	100,0 % (134/134)
	3	100,0 % (89/89)	3	100,0 % (89/89)	3	100,0 % (53/53)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0 % (54/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0 % (53/53)	-	-

Poznámka: LoD = detekčný limit.

Tabuľka 23 Súhrnné výsledky testov podľa pracoviska, šarže, dňa a dávky (pozitívne členy panela) – *Babesia divergens*

Koncentrácia <i>Babesia divergens</i>	Lokalita		Šarža		Deň		Dávka	
	ID	% reaktívnych výsledkov	ID	% reaktívnych výsledkov	ID	% reaktívnych výsledkov	ID	% reaktívnych výsledkov
~0,5 × LoD	1	35,6 % (32/90)	1	60,0 % (54/90)	1	55,6 % (30/54)	1	52,6 % (71/135)
	2	54,4 % (49/90)	2	28,9 % (26/90)	2	57,4 % (31/54)	2	52,6 % (71/135)
	3	67,8 % (61/90)	3	68,9 % (62/90)	3	46,3 % (25/54)	-	-
	-	-	-	-	4	51,9 % (28/54)	-	-
	-	-	-	-	5	51,9 % (28/54)	-	-
1 – 2 × LoD	1	100,0 % (90/90)	1	100,0 % (90/90)	1	100,0 % (54/54)	1	100,0 % (135/135)
	2	100,0 % (90/90)	2	100,0 % (90/90)	2	100,0 % (54/54)	2	100,0 % (135/135)
	3	100,0 % (90/90)	3	100,0 % (90/90)	3	100,0 % (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0 % (54/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0 % (54/54)	-	-
~3 × LoD	1	100,0 % (90/90)	1	100,0 % (90/90)	1	100,0 % (54/54)	1	100,0 % (135/135)
	2	100,0 % (90/90)	2	100,0 % (90/90)	2	100,0 % (54/54)	2	100,0 % (135/135)
	3	100,0 % (90/90)	3	100,0 % (90/90)	3	100,0 % (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0 % (54/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0 % (54/54)	-	-

Poznámka: LoD = detekčný limit.

Tabuľka 24 Súhrnné výsledky testov podľa pracoviska, šarže, dňa a dávky (pozitívne členy panela) – *Babesia venatorum*

Koncentrácia <i>Babesia venatorum</i>	Lokalita		Šarža		Deň		Dávka	
	ID	% reaktívnych výsledkov	ID	% reaktívnych výsledkov	ID	% reaktívnych výsledkov	ID	% reaktívnych výsledkov
~0,5 × LoD	1	95,6 % (86/90)	1	100,0 % (90/90)	1	100,0 % (54/54)	1	100,0 % (135/135)
	2	100,0 % (90/90)	2	95,6 % (86/90)	2	98,1 % (53/54)	2	97,0 % (131/135)
	3	100,0 % (90/90)	3	100,0 % (90/90)	3	100,0 % (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	96,3 % (52/54)	-	-
	-	-	-	-	5	98,1 % (53/54)	-	-
1 – 2 × LoD	1	100,0 % (90/90)	1	100,0 % (90/90)	1	100,0 % (54/54)	1	100,0 % (135/135)
	2	100,0 % (90/90)	2	100,0 % (90/90)	2	100,0 % (54/54)	2	100,0 % (135/135)
	3	100,0 % (90/90)	3	100,0 % (90/90)	3	100,0 % (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0 % (54/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0 % (54/54)	-	-
~3 × LoD	1	100,0 % (90/90)	1	100,0 % (90/90)	1	100,0 % (54/54)	1	100,0 % (135/135)
	2	100,0 % (90/90)	2	100,0 % (90/90)	2	100,0 % (54/54)	2	100,0 % (135/135)
	3	100,0 % (90/90)	3	100,0 % (90/90)	3	100,0 % (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0 % (54/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0 % (54/54)	-	-

Poznámka: LoD = detekčný limit.

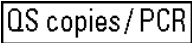
Ďalšie informácie

Kľúčové funkcie testu

Typ vzorky	Plná krv v skúmavke Roche na odber plnej krvi
Požadované množstvo vzorky	850 µl
Množstvo spracovanej vzorky	500 µl
Trvanie testu	Výsledky sú k dispozícii do 3,5 hodiny od vloženia vzorky do systému.

Symbols

Na označenie diagnostických produktov Roche PCR sa používajú nasledujúce symboly.

	Prídavný softvér		Spodný limit stanoveného rozsahu		Negatívna kontrola
	Autorizované zastúpenie v Európskom spoločenstve		Horný limit stanoveného rozsahu		Pozitívna kontrola
	Dátový list s čiarovým kódom		Skladovať v tmavom prostredí		Kontrola
	Číslo šarže		Obsah postačuje na <n> stanovení		Priradený rozsah (kópie/ml)
	Biologické riziká		Teplotné rozmedzie od do		Priradený rozsah (IU/ml)
	Katalógové číslo		Testovací definičný súbor		Štandardná procedúra
	Vid' návod na použitie		Výrobca		Ultracitlivá procedúra
	Obsah súpravy		Dátum spotreby		Počet QS kópií na PCR reakciu, použite počet QS kópií na PCR reakciu na výpočet výsledkov.
	Distribútor		Globálne číslo obchodnej jednotky		Počet medzinárodných jednotiek QS na PCR; na výpočet výsledkov použite počet medzinárodných jednotiek QS na PCR.
	Určené len na hodnotenie výkonnosti IVD		Sériové číslo	 Tento produkt spĺňa požiadavky Európskej smernice 98/79/ES pre diagnostickú zdravotnícku pomôcku <i>in vitro</i> .	
Rx Only	Len pre USA: Federálny zákon obmedzuje predaj tejto pomôcky lekárom alebo na základe jeho predpisu.		Dátum výroby		
	Diagnostické zdravotnícke zariadenie <i>in vitro</i>		Opakovane nepoužívať		

Technická podpora pre zákazníkov z USA 1-800-526-1247

Výrobca a distribútori



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



Roche Diagnostics
9115 Hague Road
Indianapolis, IN 46250-0457 USA
(For Technical Assistance call the
Roche Response Center
toll-free: 1-800-526-1247)

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Ochranné známky a patenty

Navštívte stránku <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

Autorské práva

©2019 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referenčné materiály

1. Vannier EG, Diuk-Wasser MA, Ben Mamoun C, Krause PJ. Babesiosis. *Infect Dis Clin North Am.* 2015;29:357-370. PMID: 25999229
2. Reed SL, Davis CE. Introduction to parasitic infections. In: Jameson J, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, et al. Eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 20th ed., New York, NY: McGraw-Hill (accessed July 22, 2019).
3. Herwaldt BL, Linden JV, Bosserman E, Young C, Olkowska D, Wilson M. Transfusion-associated babesiosis in the United States: a description of cases. *Ann Intern Med.* 2011;155:509-519. PMID: 21893613
4. Leiby DA, O'Brien SF, Wendel S, Nguyen ML, Delage G, Devare SG, Hardiman A, Nakhasi HL, Saulea S, Bloch EM, Parasites WSo. International survey on the impact of parasitic infections: frequency of transmission and current mitigation strategies. *Vox Sang.* 2019;114:17-27. PMID: 30523642
5. U.S. Centers for Disease Control and Prevention. Babesiosis surveillance - 18 States, 2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012;61(27):505-509. PMID: 22785341
6. Leiby DA. Transfusion-Associated Babesiosis: Shouldn't We Be Ticked Off? *Ann Intern Med.* 2011;155:556-557
7. Hildebrandt A, Gray JS, Hunfeld KP. Human babesiosis in Europe: what clinicians need to know. *Infection.* 2013;41:1057-1072. PMID: 24104943
8. Lempereur L, Shiels B, Heyman P, Moreau E, Saegerman C, Losson B, Malandrin L. A retrospective serological survey on human babesiosis in Belgium. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21:96 e91-97. PMID: 25636942
9. Gabrielli S, Totino V, Macchioni F, Zuniga F, Rojas P, Lara Y, Roselli M, Bartoloni A, Cancrini G. Human Babesiosis, Bolivia, 2013. *Emerg Infect Dis.* 2016;22:1445-1447. PMID: 27434696
10. Chen Z, Li H, Gao X, Bian A, Yan H, Kong D, Liu X. Human Babesiosis in China: a systematic review. *Parasitol Res.* 2019;118:1103-1112. PMID: 30770979
11. Huang S, Zhang L, Yao L, Li J, Chen H, Ni Q, Pan C, Jin L. Human babesiosis in Southeast China: A case report. *Int J Infect Dis.* 2018;68:36-38. PMID: 29355731
12. Zhou X, Xia S, Huang JL, Tambo E, Zhuge HX, Zhou XN. Human babesiosis, an emerging tick-borne disease in the People's Republic of China. *Parasit Vectors.* 2014;7:509. PMID: 25403908
13. Martinot M, Zadeh MM, Hansmann Y, Grawey I, Christmann D, Aguilon S, Jouglin M, Chauvin A, De Briel D. Babesiosis in immunocompetent patients, Europe. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:114-116. PMID: 21192869
14. Peniche-Lara G, Balmaceda L, Perez-Osorio C, Munoz-Zanzi C. Human Babesiosis, Yucatan State, Mexico, 2015. *Emerg Infect Dis.* 2018;24:2061-2062. PMID: 30334701
15. Morch K, Holmaas G, Frolander PS, Kristoffersen EK. Severe human Babesia divergens infection in Norway. *Int J Infect Dis.* 2015;33:37-38. PMID: 25541295
16. Asensi V, Gonzalez LM, Fernandez-Suarez J, Sevilla E, Navascues RA, Suarez ML, Lauret ME, Bernardo A, Carton JA, Montero E. A fatal case of Babesia divergens infection in Northwestern Spain. *Ticks Tick Borne Dis.* 2018;9:730-734. PMID: 29496491
17. Moritz ED, Winton CS, Tonnetti L, Townsend RL, Berardi VP, Hewins ME, Weeks KE, Dodd RY, Stramer SL. Screening for Babesia microti in the U.S. Blood Supply. *N Engl J Med.* 2016;375:2236-2245. PMID: 27959685
18. 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. PMID: 2227421
19. 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. PMID: 7845459
20. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, Kavli B, Alseth I, Krokan HE, Tainer JA. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell.* 1995;80:869-878. PMID: 7697717
21. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y).* 1992;10:413-417. PMID: 1368485
22. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996;6:986-994. PMID: 8908518

23. 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.
24. 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

Revízia dokumentu

Informácie o revízii dokumentu	
Doc Rev. 1.0 08/2019	Prvé vydanie.