

cobas[®] DPX

HAV & Parvovirus B19 Duplex-Nukleinsäuretest

In-vitro-Diagnostikum

cobas[®] DPX – 192	P/N: 09171126190
cobas[®] DPX Control Kit	P/N: 09040749190
cobas[®] Buffer Negative Control Kit	P/N: 09051953190
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

Inhaltsverzeichnis

Verwendungszweck	4
Zusammenfassung und Erklärung des Tests	4
Reagenzien und Materialien	8
cobas® DPX-Reagenzien und Kontrollen.....	8
cobas® omni-Reagenzien für die Probenvorbereitung.....	10
Lagerung und Handhabung der Reagenzien	11
Handhabung der Reagenzien für das cobas® 5800 System	11
Handhabung der Reagenzien für die cobas® 6800/8800 Systeme	12
Zusätzlich benötigte Materialien für das cobas® 5800 System	13
Zusätzlich benötigte Materialien für die cobas® 6800/8800 Systeme	13
Benötigte Geräte und Software.....	14
Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung	15
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	15
Umgang mit Reagenzien	16
Gute Laborpraxis.....	16
Entnahme, Transport, Lagerung und Pooling von Proben	17
Proben lebender Spender	17
Gebrauchsanweisung	20
Automatisches Pipettieren und Pooling von Proben (optional)	20
Festlegen des Cut-off-Werts für Parvovirus B19	20
cobas® 5800 System	20
cobas® 6800/8800 Systeme	20
Hinweise zum Verfahren	21
Durchführung des cobas® DPX-Tests auf dem cobas® 5800 System.....	21
Durchführung des cobas® DPX-Tests auf den cobas® 6800/8800 Systemen.....	22
Ergebnisse	23
Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse auf dem cobas® 5800 System.....	23
Kontrollergebnisse auf dem cobas® 5800 System.....	23
Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse auf den cobas® 6800/8800 Systemen.....	24
Interpretation der Ergebnisse.....	24

Interpretation der Ergebnisse auf dem cobas® 5800 System	26
Interpretation der Ergebnisse auf den cobas® 6800/8800 Systemen.....	26
Wiederholungsmessung für einzelne Proben.....	26
Verfahrenseinschränkungen.....	27
Systemäquivalenz und -vergleich.....	27
Nichtklinische Leistungsmerkmale für die cobas® 6800/8800 Systeme.....	28
Wichtigste Leistungsmerkmale – Proben von Lebendspendern	28
Nachweisgrenze (LoD).....	28
Linearitätsbereich der Parvovirus-B19-Quantifizierung.....	29
Reproduzierbarkeit.....	30
Präzision.....	30
Genotyp-Subtypenerfassung – HAV	31
Genotypverifizierung für Parvovirus B19	32
Analytische Spezifität	33
Analytische Spezifität – Störsubstanzen	34
Korrelation.....	34
Gesamtsystemausfall	36
Kreuzkontamination	36
Klinische Leistung.....	37
Reproduzierbarkeit	37
Weitere Informationen	39
Wichtigste Leistungsmerkmale des Tests	39
Symbole	40
Technischer Support.....	41
Hersteller und Importeur.....	41
Marken und Patente.....	41
Copyright.....	41
Literatur	42
Dokumentversion.....	46

Verwendungszweck

Der **cobas®** DPX-Test zur Verwendung auf den **cobas®** 5800/6800/8800 Systemen ist ein *in-vitro*-diagnostischer Test zur direkten quantitativen Bestimmung von DNA der Parvovirus-B19-Genotypen 1, 2 und 3 und zum direkten qualitativen Nachweis von RNA des Hepatitis-A-Virus (HAV) der Genotypen I, II und III in Humanplasma.

Dieser Test ist als *in-vitro*-Test vorgesehen, um ausschließlich Parvovirus-B19-DNA quantitativ zu bestimmen oder gleichzeitig Parvovirus-B19-DNA quantitativ zu bestimmen und HAV-RNA in Plasma nachzuweisen, das zur Weiterverarbeitung vorgesehen ist und von Spendern von Vollblut, Blutbestandteilen und Plasma entnommen wurde. Das Plasma sämtlicher Spender kann in Form von Einzelproben oder in Pools getestet werden, die sich aus Aliquots der einzelnen Proben zusammensetzen.

Dieser Test ist nicht für die Verwendung mit Nabelschnurblutproben bestimmt.

Dieser Test ist nicht als Hilfsmittel zur Diagnose einer Parvovirus-B19- oder HAV-Infektion vorgesehen.

Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Hintergrund: Screening von Blut auf durch Transfusion übertragbare Virusinfektionen

Das humane Parvovirus B19 ist ein kleines, nicht behülltes Einzelstrang-DNA-Virus, das zur Gattung der Erythroviren in der Familie der *Parvoviridae* gehört.¹ Humane Erythroviren werden in drei Genotypen unterteilt: Genotyp 1 (B19-Stämme), Genotyp 2 (A6-Stämme) und Genotyp-3 (V9/D91/1-Stämme).^{2,3} Fast alle Virusproben sind vom Genotyp 1.¹ Genotyp 2 kommt sporadisch in den USA, Europa und Südamerika hauptsächlich bei Patienten vor, die vor dem Jahr 1940 geboren wurden.¹ Genotyp 3 tritt hauptsächlich in Nord- und Westafrika auf, wurde aber auch schon in Frankreich nachgewiesen.¹

Parvovirus B19 (B19V) ist ein häufig auftretender Erreger, der auf der ganzen Welt zu finden ist. Die Prävalenz von B19-IgG-Antikörpern in der Zirkulation, die eine frühere Infektion anzeigen, steigt mit zunehmendem Alter an und erstreckt sich über den Bereich von ungefähr 20 % bei 1- bis 4-Jährigen, über 60 % bei Erwachsenen bis hin zu 85 % bei älteren Menschen.⁴⁻⁶ Obgleich Antikörper in der allgemeinen Bevölkerung prävalent sind, ist eine Virämie oder das Vorhandensein von Virus-DNA eher selten.⁴ Manifestation und Schweregrad der klinischen Krankheit hängen vom immunologischen und hämatologischen Zustand der Betroffenen ab.^{1,7,8} Bei immunkompetenten Patienten verläuft die Infektion häufig asymptomatisch oder führt zu einer milden Erkrankung, die von selbst wieder abklingt, so z. B. zu Erythema infectiosum (sog. fünfte Krankheit) bei Kindern oder Arthropathie bei Erwachsenen.^{1,7,9,10} Parvovirus B19 kann jedoch schwerwiegende Krankheiten auslösen, so z. B. transiente aplastische Anämien bei Patienten mit hämatologischen Störungen und Hydrops fetalis, kongenitale Anämie oder Fetal Tod bei schwangeren Frauen.^{1,7,11-13} Die Prävalenz von Parvovirus B19 erstreckt sich bei Blut- und Plasmaspendern über den Bereich von 0,16 bis 0,9 % und ist meistens mit sehr niedrigen Virus-DNA-Konzentrationen verbunden.¹⁴⁻¹⁸ Studien aus dem Bereich der Plasmaherstellung zeigen eine geringere Prävalenz.¹⁹

Die Übertragung von Parvovirus B19 erfolgt in der Regel zwar über die Atemwege, eine Übertragung über Plasmaprodukte und Erythrozyten-Transfusionen ist jedoch ebenfalls möglich.^{1, 20} Sowohl der Nachweis von Parvovirus-B19-DNA in Empfängern von Plasmaprodukten, einschließlich Faktor-VIII-Konzentrat, Gerinnungsfaktoren und Solvent/Detergent-behandeltem Poolplasma als auch die Übertragung von Parvovirus-B19-DNA auf diese Empfänger sind in der Fachliteratur ausführlich beschrieben.²⁰⁻³⁰ Die Übertragung über Plasmaprodukte wird mit verschiedenen Faktoren in Verbindung gebracht, so z. B. auf die Größe der Plasmapools, die Inzidenz akuter, inapparenter Parvovirus-B19-Infektionen, hohe Konzentrationen von Virus-DNA in einer virämischen Spende (bis zu 10^{12} IE/ml) und auf die Resistenz von Parvovirus B19 gegenüber den meisten der üblichen Verfahren zur Virusinaktivierung/Virusentfernung, wie z. B. der Behandlung nach dem Solvent/Detergent-Verfahren oder Pasteurisierung.^{20, 21, 27-30} In der Fachliteratur wurden nur sehr wenige Fälle von Parvovirus-B19-Übertragungen über Erythrozyten-Transfusionen berichtet.²⁰ Die Übertragung auf Empfänger von Blutbestandteilen mit einer niedrigen bis mäßigen Konzentration von Parvovirus-B19-DNA ($< 10^6$ IE/ml) kommt zudem extrem selten vor.²⁰

HAV ist ein kleines, nicht behülltes RNA-Virus, das zur Hepatovirus-Gruppe der Familie der *Picornaviridae* gehört.³¹ HAV kommt auf der ganzen Welt vor und wird über den fäkal-oralen Infektionsweg übertragen, hauptsächlich durch engen persönlichen Kontakt.³²⁻³⁴ Es wurden verschiedene Genotypen und Subtypen identifiziert.³⁴ Epidemien kommen häufig in Entwicklungsländern mit niedrigen Hygienestandards vor. Zudem wird die Infektion normalerweise in jungem Lebensalter erworben, was dazu führt, dass ein Großteil der Bevölkerung über schützende Antikörper gegen HAV verfügt.³¹⁻³⁴ In den Industrieländern haben die Abnahme der Inzidenzrate des Virus und die Verfügbarkeit von Impfstoffen dazu geführt, dass die Infektion mit diesem Virus vermehrt im Erwachsenenalter auftritt.^{31, 34} In Nordeuropa, Japan, Kanada und den USA ist die Prävalenz des Virus in der allgemeinen Bevölkerung sehr gering (ca. 0,01 %) und Ausbrüche kommen hauptsächlich in Risikogruppen vor, so z. B. bei Touristen, die endemische Regionen bereisen.^{32, 33}

HAV-Infektionen bei Menschen decken ein breites Spektrum ab, angefangen mit asymptomatischen Infektionen, die hauptsächlich bei Kleinkindern auftreten, bis hin zur fulminanten Hepatitis, die in einigen Fällen zum Tod führen kann.^{31, 32} Da HAV eine akute Infektion verursacht, die wieder abklingt, ohne dass der Infizierte zu einem chronischen Träger wird, ist eine transfusionsassoziierte HAV-Infektion selten. Dementsprechend testen Blutbanken ihre Spenden nicht auf HAV, sondern schließen Spender mit einer Hepatitis-Vorgeschichte auf der Grundlage der Spenderanamnese aus.³⁵ In der Fachliteratur wurden lediglich einige wenige transfusionsassoziierte HAV-Infektionen berichtet, die zu milden Lebererkrankungen führten.^{36, 37} Das infektiöse HAV kommt in der diagnostischen Lücke zwar im Blut vor, das Risiko einer transfusionsbedingten Übertragung von HAV ist jedoch sehr gering.^{35, 38} Es gibt auch Berichte von HAV-Übertragungen von Spendern, die sich in einem asymptomatischen virämischen Zustand befanden.³⁵⁻³⁸ Da das HAV nicht über eine Lipidhülle verfügt, lässt es sich durch die Behandlung nach dem Solvent/Detergent-Verfahren oder Pasteurisierung so z. B. bei der Herstellung von Plasmaderivaten nur schwer inaktivieren.³⁵ Folglich gibt es Berichte über HAV-Übertragungen, die über Plasmaprodukte, insbesondere Gerinnungsfaktoren, stattfanden.^{36, 39, 40}

In einer Blutspende können zwar sowohl Parvovirus-B19-DNA als auch HAV-RNA gleichzeitig vorhanden sein, die Prävalenz von Koinfektionen mit Parvovirus B19 und HAV in der Spenderpopulation ist jedoch wenig erforscht und wird kaum in der Literatur beschrieben.⁴¹⁻⁴³ Es wurde von vereinzelten Fällen von Koinfektionen mit dem humanen Parvovirus B19 und HAV bei Kindern und Kleinkindern berichtet, die nicht zur Spenderpopulation gehören.⁴¹⁻⁴³ Das Risiko einer Koinfektion kann anhand der Prävalenz für jedes einzelne Virus berechnet werden. Auch wenn die Prävalenz von HAV in der Spenderpopulation unzureichend charakterisiert ist, liegt sie in der allgemeinen Bevölkerung bei ~0,01 % und in der Spenderpopulation für Ausgangsplasma noch darunter (~0,0004 %).^{32, 33, 44, 45} Bei einer Prävalenz des Parvovirus B19 von ~0,9 %¹⁴⁻¹⁸ liegt das berechnete Risiko für eine Koinfektion mit Parvovirus B19 und HAV bei ~0,0000036 % ($0,0004 \% \times 0,9\%$) bzw. bei 1 in ~28 Millionen Spenden.

Nutzen von NAT-Tests

Mit NAT-Tests können Kontaminationen mit HAV und Parvovirus B19 nachgewiesen werden. Anfang dieses Jahrhunderts begannen einige Plasmahersteller damit, Plasma vor der Weiterverarbeitung mit NAT-Tests zum Nachweis von HAV-RNA und Parvovirus-B19-DNA zu untersuchen, nachdem Fälle von Übertragungen beider Viren über Plasmaprodukte bekannt wurden.⁴⁶ Ziel der als In-Prozess-Tests durchgeführten NAT-Tests war es, alle HAV-kontaminierten Einheiten zu eliminieren und die Parvovirus-B19-Belastung der Plasmapools zu reduzieren.⁴⁷ Seit 2004 schreibt das Europäische Arzneibuch allen Herstellern vor, dass die Konzentration von Parvovirus-B19-DNA in Pools, die zur Herstellung von humanem Anti-D-Immunglobulin verwendet werden, und in humanem Poolplasma, das einer Virusinaktivierung unterzogen werden soll, unter 10^4 IE/ml liegen muss.⁴⁸ Gleichmaßen empfiehlt eine FDA Guidance aus dem Jahr 2009 Herstellern von Plasmaprodukten, an allen Plasmaderivaten NAT-Tests auf Parvovirus B19 durchzuführen, um sicherzustellen, dass die Viruslast von Parvovirus-B19-DNA in den Pools 10^4 IE/ml nicht überschreitet.⁴⁷ Weder in den USA noch in Europa schreiben die Zulassungsbehörden derzeit vor, dass an Plasmapools vor der Weiterverarbeitung NAT-Tests auf HAV durchgeführt werden müssen. Europäische Zulassungsbehörden verlangen jedoch, dass wenn im Rahmen der In-Prozess-Kontrolle NAT-Tests auf HAV durchgeführt werden, diese in der Lage sein müssen, eine Kontrolle mit 100 IE/ml HAV-RNA nachzuweisen.⁴⁹

Erklärung des Tests

Der **cobas® DPX**-Test ist ein Duplex-Test zur Verwendung auf den **cobas® 5800/6800/8800** Systemen. Der **cobas® DPX**-Test ermöglicht die gleichzeitige quantitative Bestimmung von DNA der Parvovirus-B19-Genotypen 1, 2 und 3 und den qualitativen Nachweis von RNA des Hepatitis-A-Virus (HAV) der Genotypen I, II und III in Humanplasma.

Testprinzipien

Der **cobas® DPX**-Test basiert auf Echtzeit-PCR-Technologie und besteht aus einer vollautomatisierten Probenvorbereitung (Extraktion und Aufreinigung der Nukleinsäuren) gefolgt von PCR-Amplifikation und Detektion.

Das **cobas® 5800** System ist ein integriertes Einzelgerät. Die **cobas® 6800/8800** Systeme bestehen aus einem Probenzufuhrmodul, einem Transfermodul, einem Aufarbeitungsmodul und einem Analysenmodul. Die automatisierte Datenverwaltung erfolgt über die **cobas® 5800** oder **6800/8800** Software, die die Testergebnisse über einen Quantifizierungsstandard (QS), der auf den internationalen WHO-Standard für B19 rückführbar ist, in einen quantitativen Parvovirus-B19-Wert (in IE/ml) umrechnet.⁴⁷ Die **cobas® 5800/6800/8800** Software weist darüber hinaus bezüglich der Gegenwart des Hepatitis-A-Virus die Testergebnisse „nicht reaktiv“, „reaktiv“ oder „ungültig“ zu. Bei Verwendung der **cobas® 5800/6800/8800** Systeme können die Ergebnisse direkt am Bildschirm des Systems eingesehen und als Bericht gedruckt oder an ein LIMS oder ein anderes System zur Ergebnisverwaltung gesendet werden.

Proben können einzeln oder in Pools mit mehreren Proben getestet werden. Wenn Pools erstellt werden sollen, kann vor der Analyse das **cobas® p 680** Instrument oder die **cobas® Synergy** Software mit dem Hamilton Microlab® STAR/STARlet IVD optional zur Vorbereitung der Pools eingesetzt werden.

Die in der Probe enthaltene Nukleinsäure und die zugegebene interne Armored RNA-Kontrolle (IC) (die zur Kontrolle des gesamten Prozesses von der Probenvorbereitung bis zur Amplifikation/Detektion dient) werden gleichzeitig extrahiert. Die interne Kontrolle zeigt Störungen an, die zu negativen Ergebnissen führen könnten. Möglicherweise betroffene Proben werden als ungültig ausgewiesen. Die DNA-QS-Moleküle dienen ebenfalls als Prozesskontrolle für die Probenvorbereitung und Amplifikation/Detektion und werden gleichzeitig extrahiert. Virale Nukleinsäuren werden durch Zugabe von Proteinase und Lysereagenz zur Probe freigesetzt. Die freigesetzte Nukleinsäure bindet an die Silica-Oberfläche der hinzugefügten magnetischen Glaspartikel. Nicht gebundene Substanzen und Verunreinigungen, beispielsweise denaturiertes Protein, Zelltrümmer und potenzielle PCR-Inhibitoren (etwa Hämoglobin) werden durch anschließende

Waschreagenzschrirte entfernt. Die aufgereinigte Nukleinsäure wird danach mit einem Elutionspuffer bei erhöhter Temperatur von den magnetischen Glaspartikeln gelöst.

Zur selektiven Amplifikation der Zielnukleinsäure aus der Spenderprobe werden virusspezifische Forward- und Reverse-Primer eingesetzt, die aus hochkonservierten Regionen der viralen Nukleinsäure ausgewählt wurden. Für die reverse Transkription und die Amplifikation wird ein thermostabiles DNA-Polymeraseenzym eingesetzt. Der Master-Mix enthält anstelle von Desoxythymidintriphosphat (dTTP) Desoxyuridintriphosphat (dUTP), das in die neu synthetisierte DNA (Amplifikat) eingebaut wird.⁵⁰⁻⁵² Etwaige Verunreinigungen durch Amplifikate aus vorherigen PCR-Läufen werden beim Erwärmen im ersten Schritt der Thermozyklisierung durch das im PCR-Master-Mix enthaltene Enzym AmpErase (Uracil-N-Glykosylase) zerstört. Neu gebildete Amplifikate dagegen werden nicht zerstört, da das AmpErase-Enzym durch Temperaturen über 55 °C inaktiviert wird.

Der **cobas®** DPX-Master-Mix enthält Detektionssonden, die für B19, HAV sowie den QS und die IC-Nukleinsäure spezifisch sind. Die für B19, HAV, IC und QS spezifischen Detektionssonden sind alle mit einem von vier fluoreszierenden Reporterfarbstoffen markiert. Zudem ist jede Sonde mit einem fünften Farbstoff versehen, der als Quencher dient. Die vier spezifischen Reporterfarbstoffe werden an definierten Wellenlängen gemessen und ermöglichen so die gleichzeitige Detektion und Unterscheidung der amplifizierten B19- und HAV-Zielsequenzen sowie von IC und QS.^{53, 54} Das Fluoreszenzsignal der intakten Sonden wird durch den Quencher-Farbstoff unterdrückt. Während des PCR-Amplifikationsschritts werden die Sonden an die betreffenden einsträngigen DNA-Templates hybridisiert und durch die 5'-3'-Nukleaseaktivität der DNA-Polymerase gespalten. Dadurch kommt es zur Trennung der Reporter- und Quencher-Farbstoffe, und es entsteht ein Fluoreszenzsignal. Mit jedem PCR-Zyklus werden zunehmende Mengen gespaltenen Sonden erzeugt, und das kumulative Signal des Reporter-Farbstoffs steigt entsprechend an. Da die vier spezifischen Reporterfarbstoffe an definierten Wellenlängen gemessen werden, ist die gleichzeitige Detektion und Unterscheidung der amplifizierten B19- und HAV-Zielsequenzen sowie von QS und IC möglich.

Reagenzien und Materialien

cobas® DPX-Reagenzien und Kontrollen

Sämtliche ungeöffnete Reagenzien und Kontrollen sollten wie in Tabelle 1 bis Tabelle 4 empfohlen gelagert werden.

Tabelle 1 cobas® DPX-Test

Bei 2–8 °C lagern.

Kassette mit 192 Tests (P/N 09171126190)

Kitkomponenten	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit
Proteinase-Lösung (PASE)	Tris-Puffer, < 0,05 % EDTA, Calciumchlorid, Calciumacetat, 8 % Proteinase, Glycerin EUH210: Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. EUH208: Enthält Subtilisin von <i>Bacillus subtilis</i> . Kann allergische Reaktionen hervorrufen.	22,3 ml
Interne DPX-Kontrolle und Quantifizierungsstandard (DPX IC/QS)	Tris-Puffer, < 0,05 % EDTA, < 0,01% Armored-RNA-Konstrukt (in Bakteriophage MS2 verkapselte nicht-infektiöse RNA) als interne Kontrolle, < 0,01 % nicht-infektiöse, synthetische QS-B19-DNA, verkapselt in Lambda-Bakteriophagen-Hüllprotein, < 0,002 % Poly rA RNA (synthetisch), < 0,1 % Natriumazid	21,2 ml
Elutionspuffer (EB)	Tris-Puffer, 0,2 % Methyl-4-hydroxybenzoat	21,2 ml
Master-Mix-Reagenz 1 (MMX-R1)	Manganacetat, Kaliumhydroxid, < 0,1 % Natriumazid	7,5 ml
DPX-Master-Mix-Reagenz 2 (DPX MMX-R2)	Tricin-Puffer, Kaliumacetat, Glycerin, 18 % Dimethylsulfoxid, Tween 20, EDTA, < 0,06 % dATP, dGTP, dCTP, < 0,14 % dUTP, < 0,01 % Upstream- und Downstream-Parvovirus-B19-, HAV-, interner Kontroll- und Quantifizierungsstandard-Primer, < 0,01 % fluoreszenzmarkierte Parvovirus-B19- und HAV-Sonden, < 0,01 % fluoreszenzmarkierte interne Parvovirus-B19-QS- und HAV-IC-Sonden, < 0,01 % Oligonukleotid-Aptamer, < 0,01 % Z05D-DNA-Polymerase, < 0,01 % AmpErase-Enzym (Uracil-N-Glykosylase, mikrobiell), < 0,1 % Natriumazid	9,7 ml

Tabelle 2 cobas® DPX Control Kit

Bei 2–8 °C lagern.

(P/N 09040749190)

Kitkomponenten	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -warnungen*
Positive DPX-Doppelkontrolle (DPX D(+))C)	< 0,001 % in MS2-Bakteriophagen-Hüllprotein verkapselte synthetische (Armored) HAV-RNA, < 0,001 % in Lambda-Bakteriophagen-Hüllprotein verkapselte synthetische (Plasmid) Parvovirus-B19-DNA, normales Humanplasma, das in zugelassenen Tests nicht reaktiv auf B19-Antikörper war und in dem mittels PCR-Methoden keine HAV-RNA oder B19-DNA nachgewiesen werden konnte, bzw. mit einer so niedrigen B19-DNA-Konzentration, dass die Funktionalität der Kontrolle nicht beeinträchtigt wird (≤ 5 IE/ml) 0,1 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel**	8 ml (8 × 1 ml)	  WARNUNG H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen. H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P261: Einatmen von Nebel oder Dampf vermeiden. P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P280: Schutzhandschuhe tragen. P333 + P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen. P362 + P364: Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. P501: Inhalt/Behälter einer zugelassenen Abfallbeseitigungsanlage zuführen. 55965-84-9 Reaktionsmasse aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1)
Hoch positive DPX-Kontrolle (DPX H(+))C)	< 0,001 % in Lambda-Bakteriophagen-Hüllprotein verkapselte synthetische (Plasmid) Parvovirus-B19-DNA, normales Humanplasma, das in zugelassenen Tests nicht reaktiv auf B19-Antikörper war und in dem mittels PCR-Methoden keine HAV-RNA oder B19-DNA nachgewiesen werden konnte, bzw. mit einer so niedrigen B19-DNA-Konzentration, dass die Funktionalität der Kontrolle nicht beeinträchtigt wird (≤ 5 IE/ml) 0,1 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel**	8 ml (8 × 1 ml)	  WARNUNG H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen. H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P261: Einatmen von Nebel oder Dampf vermeiden. P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P280: Schutzhandschuhe tragen. P333 + P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen. P362 + P364: Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. P501: Inhalt/Behälter einer zugelassenen Abfallbeseitigungsanlage zuführen. 55965-84-9 Reaktionsmasse aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1)

* Die Sicherheitskennzeichnung der Produkte erfolgt in erster Linie gemäß GHS-Verordnung der EU.

** Gefährliche Substanz

Tabelle 3 cobas® Buffer Negative Control Kit

Bei 2–8 °C lagern.

(P/N 09051953190)

Kitkomponente	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -warnungen
Puffer-Negativkontrolle (Buffer-NC)	Tris-Puffer, EDTA, 0,002 % Poly-rA-RNA (synthetisch), < 0,1 % Natriumazid	16 ml (16 × 1 ml)	Nicht zutreffend

cobas® omni-Reagenzien für die Probenvorbereitung

Tabelle 4 cobas® omni Reagenzien für die Probenvorbereitung*

Reagenzien	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -warnungen**
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Bei 2–8 °C lagern. (P/N 06997546190)	Magnetische Glaspartikel, Tris-Puffer, 0,1 % Methyl-4-hydroxybenzoat, < 0,1 % Natriumazid	480 Tests	Nicht zutreffend
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Bei 2–8 °C lagern. (P/N 06997511190)	Tris-Puffer, 0,1 % Methyl-4-hydroxybenzoat, < 0,1 % Natriumazid	4 × 875 ml	Nicht zutreffend
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Bei 2–8 °C lagern. (P/N 06997538190)	42,56 % (Gew.-%) Guanidinthiocyanat**, 5 % (Massenvol.-%) Polidocanol**, 2 % (Massenvol.-%) Dithiothreitol**, Dihydro-Natriumcitrat	4 × 875 ml	 GEFAHR H302: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden. H411: Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. EUH032: Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase. EUH071: Wirkt ätzend auf die Atemwege. P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz/Gehörschutz tragen. P303 + P361 + P353: BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen. P304 + P340 + P310: BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen. P305 + P351 + P338 + P310: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen. P391: Verschüttete Mengen aufnehmen. 593-84-0 Guanidinthiocyanat 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-Dimercaptobutan-2,3-diol
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Bei 15–30 °C lagern. (P/N 06997503190)	Natriumcitratdihydrat, 0,1 % Methyl-4-Hydroxybenzoat	4,2 l	Nicht zutreffend

* Diese Reagenzien sind nicht Bestandteil des cobas® DPX-Testkits. Siehe Liste der zusätzlich benötigten Materialien (Tabelle 8 und Tabelle 9).

** Die Sicherheitskennzeichnung der Produkte erfolgt in erster Linie gemäß GHS-Verordnung der EU.

*** Gefährliche Substanz

Lagerung und Handhabung der Reagenzien

Reagenzien müssen wie in Tabelle 5, Tabelle 6 und Tabelle 7 angegeben gelagert und gehandhabt werden.

Reagenzien, die sich nicht in einem cobas® 5800/6800/8800 System befinden, bei der in Tabelle 5 angegebenen Temperatur lagern.

Tabelle 5 Reagenzlagerung (wenn sich das Reagenz nicht im System befindet)

Reagenz	Lagertemperatur
cobas® DPX – 192	2–8 °C
cobas® DPX 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

Handhabung der Reagenzien für das cobas® 5800 System

Reagenzien im cobas® 5800 System werden bei angemessenen Temperaturen aufbewahrt und ihr Verfallsdatum wird vom System überwacht. Das System lässt die Verwendung der Reagenzien nur zu, wenn alle in Tabelle 6 angegebenen Bedingungen erfüllt sind. Das System verhindert automatisch die Verwendung von abgelaufenen Reagenzien. Tabelle 6 enthält die Bedingungen für die Reagenzhandhabung, die vom cobas® 5800 System geprüft werden.

Tabelle 6 Bedingungen für die Haltbarkeit der Reagenzien, die vom cobas® 5800 System geprüft werden

Reagenz	Verfallsdatum des Kits	Haltbarkeit nach dem Öffnen des Kits	Anzahl der Läufe, für die dieses Kit verwendet werden kann	Haltbarkeit im Gerät (kumulative Zeit im Gerät außerhalb der Kühlung)
cobas® DPX – 192	Datum nicht überschritten	90 Tage ab erstem Gebrauch	Max. 40 Läufe	Max. 36 Tage**
cobas® DPX Control Kit	Datum nicht überschritten	Nicht zutreffend*	Nicht zutreffend	Max. 36 Tage**
cobas® Buffer Negative Control Kit	Datum nicht überschritten	Nicht zutreffend*	Nicht zutreffend	Max. 36 Tage**
cobas® omni Lysis Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden**	Nicht zutreffend	Nicht zutreffend
cobas® omni MGP Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden**	Nicht zutreffend	Nicht zutreffend
cobas® omni Specimen Diluent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden**	Nicht zutreffend	Nicht zutreffend
cobas® omni Wash Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden**	Nicht zutreffend	Nicht zutreffend

* Reagenzien für den Einmalgebrauch.

** Zeit ab dem erstmaligen Laden des Reagenzes in das cobas® 5800 System.

Handhabung der Reagenzien für die cobas® 6800/8800 Systeme

Reagenzien in den cobas® 6800/8800 Systemen werden bei angemessenen Temperaturen aufbewahrt und ihr Verfallsdatum wird vom System überwacht. Das System lässt die Verwendung der Reagenzien nur zu, wenn alle in Tabelle 7 angegebenen Bedingungen erfüllt sind. Das System verhindert automatisch die Verwendung von abgelaufenen Reagenzien. Tabelle 7 enthält die Bedingungen für die Reagenzhandhabung, die von den cobas® 6800/8800 Systemen geprüft werden.

Tabelle 7 Bedingungen für die Haltbarkeit der Reagenzien, die von den cobas® 6800/8800 Systemen geprüft werden

Reagenz	Verfallsdatum des Kits	Haltbarkeit nach dem Öffnen des Kits	Anzahl der Läufe, für die dieses Kit verwendet werden kann	Haltbarkeit im Gerät (kumulative Zeit im Gerät außerhalb der Kühlung)
cobas® DPX – 192	Datum nicht überschritten	90 Tage ab erstem Gebrauch	Max. 40 Läufe	Max. 40 Stunden**
cobas® DPX Control Kit	Datum nicht überschritten	Nicht zutreffend*	Nicht zutreffend	Max. 8 Stunden**
cobas® Buffer Negative Control Kit	Datum nicht überschritten	Nicht zutreffend*	Nicht zutreffend	Max. 10 Stunden**
cobas® omni Lysis Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden**	Nicht zutreffend	Nicht zutreffend
cobas® omni MGP Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden**	Nicht zutreffend	Nicht zutreffend
cobas® omni Specimen Diluent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden**	Nicht zutreffend	Nicht zutreffend
cobas® omni Wash Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden**	Nicht zutreffend	Nicht zutreffend

* Reagenzien für den Einmalgebrauch.

** Zeit ab dem erstmaligen Laden des Reagenzes in die cobas® 6800/8800 Systeme.

Zusätzlich benötigte Materialien für das cobas® 5800 System

Tabelle 8 Material und Verbrauchsmaterialien zur Verwendung auf dem **cobas® 5800 System**

Material	P/N
cobas® omni Processing Plate 24	08413975001
cobas® omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas® omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
CORE Tips mit Filter, 1 ml	04639642001
CORE Tips mit Filter, 300 µl	07345607001
cobas® omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Beutel für Festabfälle bzw. Beutel für Festabfälle mit Einsatz	07435967001 bzw. 08030073001

Zusätzlich benötigte Materialien für die cobas® 6800/8800 Systeme

Tabelle 9 Material und Verbrauchsmaterialien zur Verwendung auf den **cobas® 6800/8800 Systemen**

Material	P/N
cobas® omni Processing Plate	05534917001
cobas® omni Amplification Plate	05534941001
cobas® omni Pipette Tips	05534925001
cobas® omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Beutel für Festabfälle	07435967001
Beutel für Festabfälle mit Einsatz	08030073001

Benötigte Geräte und Software

Das **cobas® DPX**-Analysenpaket für das **cobas® 5800** System muss auf dem **cobas® 5800** System installiert werden. Die **x800 Data Manager**-Software für das **cobas® 5800** System wird mit dem System bereitgestellt. Bei Bedarf muss die **cobas® Synergy** Software installiert werden.

Die **cobas® 6800/8800** Software und das **cobas® DPX**-Analysenpaket müssen auf dem Instrument (bzw. den Instrumenten) installiert sein. Der IG-Server (Instrument Gateway) ist Bestandteil des Systems. Bei Bedarf muss die **cobas® Synergy** Software installiert werden.

Tabelle 10 Ausstattung

Ausstattung	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System (mit beweglicher Plattform)	05524245001 und 06379672001
cobas® 6800 System (feststehend)	05524245001 und 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Probenzufuhrmodul für die cobas® 6800/8800 Systeme	06301037001
Geräte und Software für Pipettierung und Pooling	P/N
Elektronische Lizenz für die cobas® Synergy Software (nur für das cobas® 5800 System)	09311246001
cobas® p 680 Instrument	06570577001
Elektronische Lizenz für die cobas® Synergy Software (nur für cobas® 6800/8800 Systeme) (optional)	09311238001
Hamilton Microlab® STAR IVD	04640535001
Hamilton Microlab® STARlet IVD	04872649001

Zusätzliche Informationen finden Sie in der Benutzerunterstützung des **cobas® 5800** Systems bzw. der **cobas® 6800/8800** Systeme. Weitere Informationen zu Primär- und Sekundärröhrchen, die auf den Systemen verwendet werden können, enthält die Benutzerunterstützung des **cobas® p 680** Instruments sowie die Benutzerunterstützung zur **cobas® Synergy** Software.

Hinweis: Eine ausführliche Bestellliste für Probenracks, Racks für gestopfte Spitzen und Racktrays, die auf den Geräten verwendet werden können, ist beim Kundendienst von Roche Diagnostics vor Ort erhältlich.

Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Wie bei allen Testverfahren ist gute Laborpraxis eine unerlässliche Voraussetzung für die uneingeschränkte Leistung dieses Tests. Aufgrund der hohen Sensitivität dieses Tests ist besonders darauf zu achten, dass die Reagenzien und Amplifikationsgemische nicht kontaminiert werden.

- Nur zur Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum bestimmt.
- Alle Proben sind als potenziell infektiös und gemäß den Vorschriften für sicheres Arbeiten im Labor wie in „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“ und dem CLSI-Dokument M29-A4 beschrieben zu behandeln.^{55,56} Dieses Verfahren darf nur von Personal angewandt werden, das mit dem **cobas® DPX**-Test, den **cobas® 5800/6800/8800** Systemen und dem **cobas® p 680** Instrument (für die **cobas® 6800/8800** Systeme) oder dem Hamilton Microlab® STAR/STARlet IVD in Verbindung mit der **cobas® Synergy** Software vertraut sowie in der Handhabung infektiöser Materialien geschult ist.
- Alle von Menschen gewonnenen Materialien sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen unter Anwendung genereller Vorsichtsmaßnahmen gehandhabt werden. Wenn Material verschüttet wurde, betroffenes Areal unverzüglich mit einer frisch zubereiteten Lösung aus 0,6%igem Natriumhypochlorit in destilliertem oder entionisiertem Wasser desinfizieren oder die jeweiligen Laborverfahren beachten.
- Das **cobas® DPX** Control Kit enthält aus menschlichem Blut gewonnenes Plasma. Das Ausgangsmaterial wurde mit einem zugelassenen Antikörpertest geprüft und erwies sich als nicht-reaktiv auf IgG- und IgM-Antikörper gegen B19. PCR-Tests an normalem Humanplasma blieben negativ für HAV-RNA und Konzentrationen von B19-DNA, die entweder nicht nachweisbar oder zu niedrig waren, um die Funktionalität der DPX-Positivkontrollen zu beeinträchtigen. Mit keiner der bekannten Testmethoden kann jedoch eine Übertragung von Infektionserregern durch humane Blutprodukte ausgeschlossen werden.
- Vollblut nicht einfrieren.
- Es wird empfohlen, sterile Einwegpipetten und nukleasefreie Pipettierspitzen zu verwenden. Nur die mitgelieferten oder die als erforderlich angegebenen Verbrauchsmaterialien verwenden, um eine optimale Leistung des Tests zu gewährleisten.
- Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) sind auf Anfrage beim zuständigen Kundendienst von Roche Diagnostics erhältlich.
- Alle Verfahren und Vorschriften sind sorgfältig einzuhalten, um eine korrekte Durchführung des Tests sicherzustellen. Jede Abweichung von den Verfahren und Vorschriften kann sich auf die optimale Leistung des Tests auswirken.
- Eine Vermischung der Plasmaschicht mit Zellen durch äußere Einwirkung oder Diffusion nach dem Zentrifugieren kann zu einer höheren Rate ungültiger Ergebnisse führen.
- Es kann zu falsch-positiven Ergebnissen kommen, wenn während der Handhabung und Bearbeitung der Proben eine Probenverschleppung nicht vermieden wird.
- Schwerwiegende Vorkommnisse, die bei Verwendung dieses Tests auftreten, müssen den zuständigen Behörden und dem Hersteller gemeldet werden.

Umgang mit Reagenzien

- Alle Reagenzien, Kontrollen und Proben sind gemäß der guten Laborpraxis zu handhaben, um eine Verschleppung der Proben und Kontrollen zu vermeiden.
- Alle Reagenzkassetten, Diluenten, Lysereagenzien und Waschreagenzien vor der Verwendung visuell auf auslaufende Flüssigkeit überprüfen. Liegen Anzeichen für undichte Stellen vor, das betreffende Material nicht für den Test verwenden.
- **cobas® omni** Lysis Reagent enthält die potenziell gefährliche Chemikalie Guanidinthiocyanat. Haut, Augen und Schleimhäute vor Kontakt mit Reagenzien schützen. Bei Kontakt sofort mit reichlich Wasser abspülen, um Verätzungen zu vermeiden.
- **cobas® DPX**-Testkits, **cobas® omni** MGP Reagent und **cobas® omni** Specimen Diluent enthalten Natriumazid als Konservierungsstoff. Haut, Augen und Schleimhäute vor Kontakt mit Reagenzien schützen. Bei Kontakt sofort mit reichlich Wasser abspülen, um Verätzungen zu vermeiden. Verschüttete Reagenzien vor dem Aufwischen zunächst mit Wasser verdünnen.
- **cobas® omni** Lysis Reagent enthält Guanidinthiocyanat und darf nicht in Kontakt mit Natriumhypochloritlösung (Bleichmittel) gebracht werden. Dieses Gemisch kann ein hochgiftiges Gas erzeugen.
- Sämtliche Materialien, die mit Proben und Reagenzien in Berührung gekommen sind, gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

Gute Laborpraxis

- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- In den Arbeitsbereichen des Labors nicht essen, trinken oder rauchen.
- Beim Umgang mit Proben und Reagenzien sind Laborhandschuhe, Laborkittel und Schutzbrille zu tragen. Um Kontamination zu vermeiden, müssen die Handschuhe zwischen der Handhabung von Proben und **cobas® DPX**-Kits sowie **cobas® omni** Reagenzien jeweils gewechselt werden. Darauf achten, dass die Handschuhe beim Umgang mit den Proben und Kontrollen nicht kontaminiert werden.
- Nach Gebrauch der Proben und Kitreagenzien sowie nach dem Ausziehen der Handschuhe gründlich die Hände waschen.
- Alle Arbeitsflächen im Labor gründlich mit einer frisch hergestellten Lösung aus 0,6%igem Natriumhypochlorit in destilliertem oder entionisiertem Wasser reinigen und desinfizieren. Anschließend die Arbeitsflächen mit 70%igem Ethanol abwischen.
- Wenn Flüssigkeiten auf dem **cobas® 6800/8800** System verschüttet wurden, die Oberflächen gemäß den Anweisungen im Benutzerhandbuch der **cobas® 6800/8800** Systeme reinigen und dekontaminieren.
- Wenn Flüssigkeiten auf dem **cobas® 5800** Instrument verschüttet wurden, die Oberflächen der Geräte gemäß den Anweisungen in der Benutzerunterstützung des **cobas® 5800** Systems gründlich reinigen und dekontaminieren.

Entnahme, Transport, Lagerung und Pooling von Proben

Hinweis: Alle Proben und Kontrollen sind wie potenzielle Überträger von Infektionserregern zu behandeln.

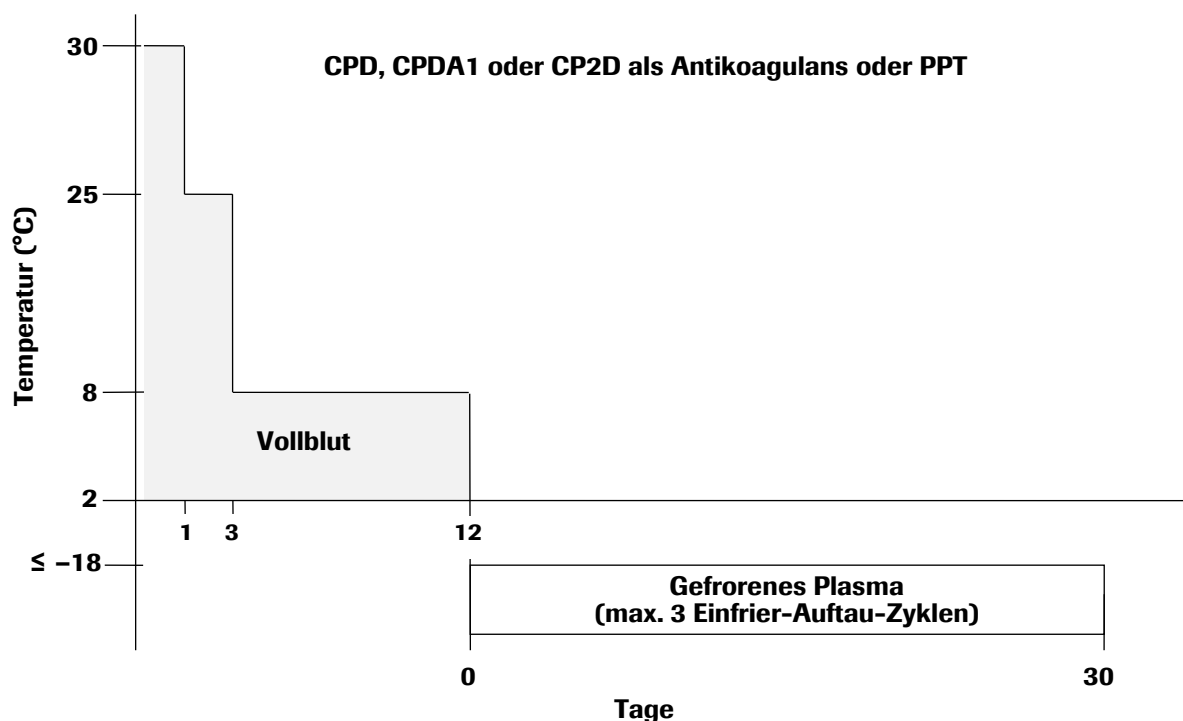
Alle Spenderproben bei den angegebenen Temperaturen lagern.

Erhöhte Umgebungstemperaturen wirken sich auf die Probenstabilität aus.

Proben lebender Spender

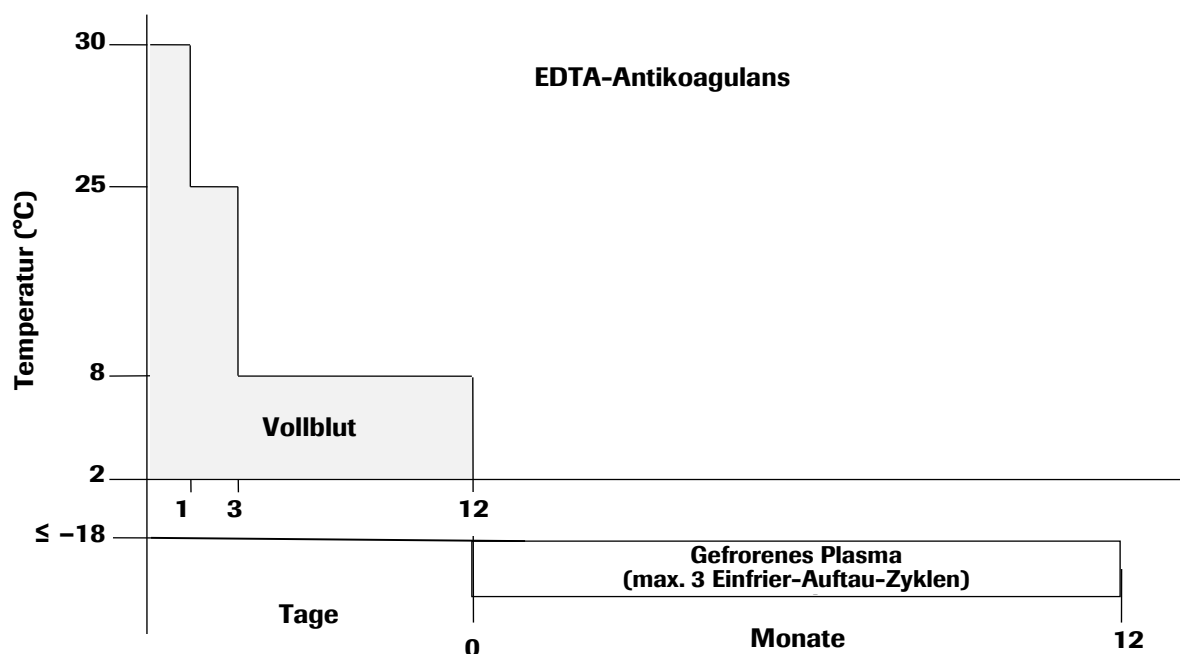
- Mit dem **cobas® DPX**-Test können Plasmaproben verwendet werden, die in den Antikoagulanzen EDTA, CPD, CPDA1, CP2D und 4 % Natriumcitrat entnommen wurden. Bezüglich Handhabung und Zentrifugierung die Anweisungen des Probenröhrchen/-beutel-Herstellers beachten.
- Blut, das in EDTA-Antikoagulans, Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) entnommen wurde, kann bei Bedarf vor dem Laden, optionalen Pooling-Verfahren oder erneuten Testen zusätzlich 5 Minuten lang bei $600 \times g$ zentrifugiert werden.
- In Röhrchen mit CPD, CPDA1 oder CP2D als Antikoagulans oder BD PPT™-Röhrchen (Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes) gesammeltes Blut kann unter folgenden Bedingungen bis zu 12 Tage lang gelagert werden:
 - Die Proben müssen innerhalb von 72 Stunden nach der Entnahme zentrifugiert werden.
 - Bei Lagerung über 8 °C können die Proben 72 Stunden bei maximal 25 °C und während dieser 72 Stunden 24 Stunden bei maximal 30 °C gelagert werden.
 - Anderenfalls werden Proben bei 2–8 °C gelagert. Von den Zellen abgetrenntes Plasma kann zudem maximal 30 Tage bei ≤ -18 °C gelagert werden und darf dreimal eingefroren und wieder aufgetaut werden. Siehe Abbildung 1.

Abbildung 1 Lagerbedingungen für Spenderproben

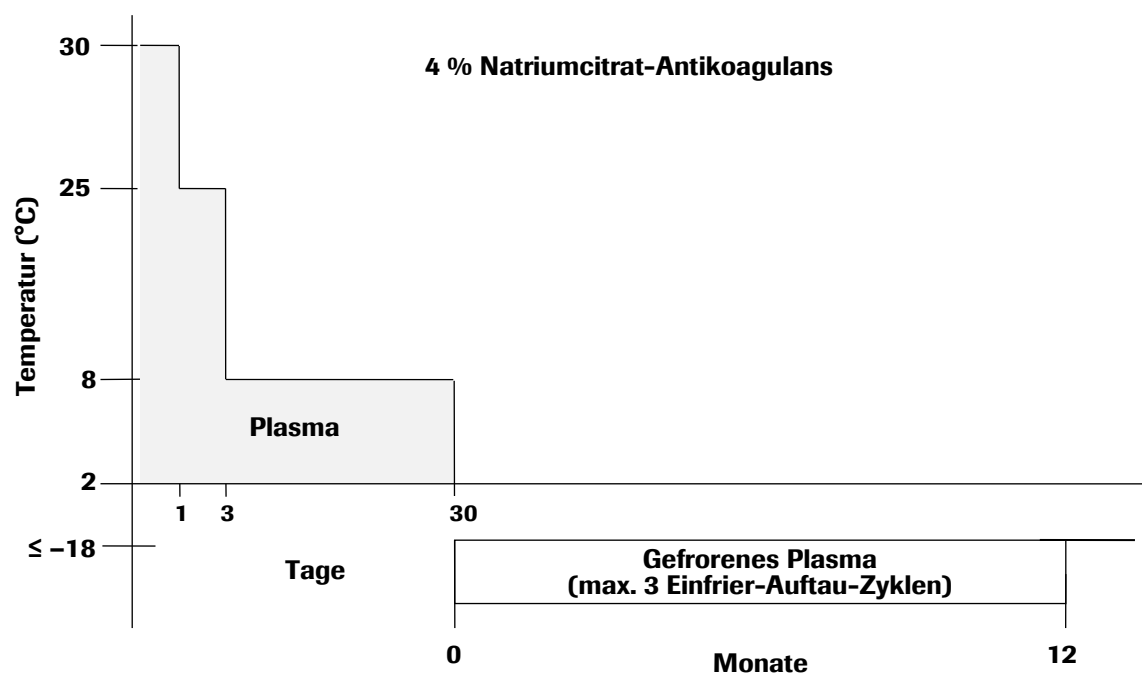


- In EDTA-Antikoagulans gesammeltes Blut kann unter den folgenden Bedingungen bis zu 12 Tage lang gelagert werden:
 - Die Proben müssen innerhalb von 72 Stunden nach der Entnahme zentrifugiert werden.
 - Bei Lagerung über 8 °C können die Proben 72 Stunden bei maximal 25 °C und während dieser 72 Stunden 24 Stunden bei maximal 30 °C gelagert werden.
 - Anderenfalls werden Proben bei 2–8 °C gelagert. Von den Zellen abgetrenntes Plasma kann zudem maximal 12 Monate bei ≤ –18 °C gelagert werden und darf dreimal eingefroren und wieder aufgetaut werden. Siehe Abbildung 2.

Abbildung 2 Lagerbedingungen für Spenderproben



- Plasma in 4 % Natriumcitrat-Antikoagulans kann maximal 30 Tage bei 2 bis 8 °C aufbewahrt werden.
 - Bei Lagerung über 8 °C können die Proben 72 Stunden bei maximal 25 °C und während dieser 72 Stunden 24 Stunden bei maximal 30 °C gelagert werden.
 - Anderenfalls werden Proben bei 2–8 °C gelagert. Von den Zellen abgetrenntes Plasma kann zudem maximal 12 Monate bei ≤ –18 °C gelagert werden und darf dreimal eingefroren und wieder aufgetaut werden (siehe Abbildung 3).
- Wenn Proben versandt werden sollen, sind sie gemäß den geltenden nationalen und internationalen Vorschriften für den Transport von Proben und Krankheitserregern zu verpacken und zu beschriften.

Abbildung 3 Lagerbedingungen für Proben in 4 % Natriumcitrat-Antikoagulans

Gebrauchsanweisung

Automatisches Pipettieren und Pooling von Proben (optional)

Das **cobas®** p 680 Instrument oder die **cobas® Synergy** Software mit dem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD können als optionale Komponente der **cobas®** 6800/8800 Systeme zum automatischen Pipettieren und Pooling von Aliquots mehrerer Primärproben in eine gepoolte Probe verwendet werden.

Die **cobas® Synergy** Software mit dem Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD kann als Zubehör des **cobas®** 5800 Systems zum automatischen Pipettieren und Pooling von Aliquots mehrerer Primärproben in eine gepoolte Probe verwendet werden.

Weitere Informationen hierzu enthalten die Benutzerunterstützung des **cobas®** p 680 Instruments und die Benutzerunterstützung zur **cobas® Synergy** Software.

Festlegen des Cut-off-Werts für Parvovirus B19

cobas® 5800 System

Das **cobas®** 5800 System zeigt den B19V-Titer in der Benutzeroberfläche der **cobas®** 5800 Software an. Der Cut-off-Wert zum Erstellen des zugehörigen qualitativen Ergebnisses kann jedoch nur in der **cobas® Synergy** Software festgelegt werden. Informationen dazu sind der Benutzerunterstützung der **cobas® Synergy** Software zu entnehmen.

cobas® 6800/8800 Systeme

Der Supervisor des Labors bestimmt den Cut-off-Wert für den B19V-Titer über die Einstellung des Cut-off-Werts für Pools aus einer Probe. Die Software weist anhand dieses eingegebenen Werts das Ergebnis „B19V < Cut-off“ oder „B19V ≥ Cut-off“ zu (Tabelle 13). Das Ergebnis wird auf der Grundlage des eingegebenen Cut-off-Werts und der Pool-Größe automatisch berechnet.

So legen Sie den Cut-off-Wert für den B19V-Titer fest:

Der DPX-B19V-Cut-off-Wert kann in der Benutzeroberfläche unter „Verwaltung -> Einstellungen -> Aufarbeitungseinstellungen -> Roche-Tests“ aufgerufen werden. Der Cut-off-Wert kann im DPX- und DPX-B19-Analysenpaket eingestellt werden, indem Sie unter „Einstellungen“ auf die Schaltfläche „Bearbeiten“ klicken.

Bei Verwendung der **cobas® Synergy** Lösung:

In Kombination mit dem DPX-S- und DPX-B19-S-Analysenpaket sind die endgültigen B19- und DPX-Testergebnisse nur in der **cobas® Synergy** Software verfügbar, nicht auf den **cobas®** 6800/8800 Systemen.

Legen Sie den Cut-off-Wert für den B19V-Titer (je Pool-Größe, in IE/ml) gemäß der Beschreibung in der Benutzerunterstützung zur **cobas® Synergy** Software fest. Es wird empfohlen, den Cut-off-Wert in der **cobas®** 6800/8800 Software auf 1 zu setzen.

Hinweise zum Verfahren

- Die **cobas® DPX**-Testreagenzien, das **cobas® DPX Control Kit**, das **cobas® Buffer Negative Control Kit** und die **cobas® omni** Reagenzien nach dem Verfallsdatum nicht mehr verwenden.
- Verbrauchsmaterialien nicht wiederverwenden. Sie sind ausschließlich zum Einmalgebrauch vorgesehen.
- Informationen zur ordnungsgemäßen Wartung enthält die Benutzerunterstützung des **cobas® 5800 Systems**.
- Informationen zur ordnungsgemäßen Wartung enthält die Benutzerunterstützung der **cobas® 6800/8800 Systeme**.
- Einzelheiten zu den optionalen Pooling-Verfahren und der ordnungsgemäßen Wartung der Geräte finden Sie in der Benutzerunterstützung zur **cobas® Synergy Software**.
- Ungültige Ergebnisse können durch verschiedene Faktoren bedingt sein, u. a. durch Probeneigenschaften, Störsubstanzen und präanalytische Arbeitsabläufe.

Durchführung des cobas® DPX-Tests auf dem cobas® 5800 System

Der Testablauf ist in der Benutzerunterstützung des **cobas® 5800 Systems** ausführlich beschrieben. In Abbildung 4 ist der Ablauf zusammenfassend dargestellt. Einzelheiten zu den optionalen Pooling-Verfahren finden Sie in der Benutzerunterstützung zur **cobas® Synergy Software**.

Abbildung 4 cobas® DPX-Testablauf auf dem cobas® 5800 System

1	Pipettierung und Pooling
2	Laden von Probenracks in das System: • Probenracks in das System laden. • Tests manuell anfordern, wenn keine LIS-Anforderungen verfügbar sind.
3	Reagenzien und Verbrauchsmaterialien auf Anforderung des Systems nachfüllen: • Testspezifische Reagenzkassette(n) laden. • Kontroll-Miniracks laden. • Probenaufarbeitungsspitzen laden. • Elutionsspitzen laden. • Probenaufarbeitungsplatten laden. • Flüssigabfallplatten laden. • Amplifikationsplatten laden. • MGP-Kassette laden. • Diluent nachfüllen. • Lysereagenz nachfüllen. • Waschreagenz nachfüllen.
4	Den Lauf starten, indem Sie in der Benutzeroberfläche die Start-Schaltfläche manuell auswählen. Alle nachfolgenden Läufe starten automatisch, sofern sie nicht manuell verschoben werden.
5	Ergebnisse überprüfen.
6	Alle Probenröhrchen herausnehmen. Das Gerät reinigen: • Reagenzkassetten entnehmen. • Kontroll-Miniracks entnehmen. • Die Amplifikationsplattenschublade leeren. • Flüssigabfall entsorgen. • Festabfall entsorgen.

Durchführung des cobas® DPX-Tests auf den cobas® 6800/8800 Systemen

Der Testablauf ist in der Benutzerunterstützung der cobas® 6800/8800 Systeme ausführlich beschrieben; Einzelheiten zu optionalen Pooling-Verfahren finden Sie in der Benutzerunterstützung des cobas® p 680 Instruments und in der Benutzerunterstützung zur cobas® Synergy Software.

Abbildung 5 cobas® DPX-Testablauf auf den cobas® 6800/8800 Systemen

1	Pipettierung und Pooling
2	Auftrag erstellen.
3	Reagenzien und Verbrauchsmaterialien auf Anforderung des Systems nachfüllen: • Waschreagenz, Lyserieagenz und Diluent nachfüllen. • Probenaufarbeitungsplatten und Amplifikationsplatten nachfüllen. • Magnetische Glaspartikel nachfüllen. • Testspezifische Reagenzien nachfüllen. • Kontrollkassetten nachfüllen. • Tip-Racks nachfüllen. • Rack für gestopfte Spitzen wechseln.
4	Lauf starten: • Racks mit Proben laden. • Start-Schaltfläche in der Software wählen.
5	Ergebnisse prüfen und exportieren.
6	Verbrauchsmaterial entladen: • Amplifikationsplatten aus dem Analysenmodul entnehmen. • Leere Kontrollkassetten entnehmen. • Festabfall entsorgen. • Flüssigabfall entsorgen.

Ergebnisse

Das **cobas®** 5800 System und die **cobas®** 6800/8800 Systeme dienen zur automatischen Bestimmung der Konzentration von Parvovirus-B19-DNA in Spenderproben und Kontrollen. Die Konzentration von Parvovirus-B19-DNA wird in internationalen Einheiten pro Milliliter (IE/ml) angegeben. Außerdem dienen das **cobas®** 5800 System und die **cobas®** 6800/8800 Systeme zur automatischen Detektion von HAV-RNA in Proben und Kontrollen.

Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse auf dem **cobas®** 5800 System

Das **cobas®** 5800 System wird mit der Standardeinstellung ausgeliefert, bei der mit jedem Lauf eine Negativ- und die Positivkontrollen analysiert werden; es kann aber je nach Laborverfahren und/oder geltenden lokalen Vorschriften von einem Servicetechniker von Roche oder über den technischen Kundendienst von Roche auch so konfiguriert werden, dass die Kontrollen in größeren Abständen durchgeführt werden.

- Das **cobas®** 5800 System und/oder den Bericht auf Flags und entsprechende Ergebnisse kontrollieren, um die Gültigkeit des Batches zu überprüfen.
- Die zugehörigen Proben sind gültig, wenn für keine der drei Kontrollen Flags ausgegeben wurden.

Das **cobas®** 5800 System markiert Ergebnisse bei ausgefallenen Negativ- und Positivkontrollen automatisch als ungültig.

Kontrollergebnisse auf dem **cobas®** 5800 System

Die Ergebnisse der Kontrollen werden in der **cobas®** 5800 Software in der Anwendung „Kontrollen“ angezeigt.

- Kontrollen werden in der Spalte „Kontrollergebnis“ mit „Gültig“ gekennzeichnet, wenn alle Zielsequenzen der Kontrolle als gültig ausgegeben werden. Kontrollen werden in der Spalte „Kontrollergebnis“ mit „Ungültig“ gekennzeichnet, wenn alle oder mindestens eine Zielsequenz der Kontrolle als ungültig ausgegeben werden.
- Bei mit „Ungültig“ gekennzeichneten Kontrollen erscheint in der Spalte „Flags“ ein Hinweis. In der Detailansicht werden weitere Informationen dazu angezeigt, warum die Kontrolle als ungültig ausgegeben wurde und was der Flag bedeutet.
- Ist die Positivkontrolle ungültig, testen Sie die Positivkontrollen und alle zugehörigen Proben erneut. Ist die Negativkontrolle ungültig, testen Sie alle Kontrollen und alle zugehörigen Proben erneut.

Tabelle 11 Kontroll-Flags für auf dem **cobas®** 5800 System analysierte Negativ- und Positivkontrollen

Negativkontrolle	Flag	Ergebnis	Interpretation
(-) Ctrl	Ein Flag wird angezeigt	Invalid	Wenn das Ergebnis für (-) Ctrl ungültig ist, gilt der gesamte Batch als ungültig.
Positivkontrolle	Flag	Ergebnis	Interpretation
DPX D (+) C	Ein Flag wird angezeigt	Invalid	Ein ungültiges Ergebnis oder der berechnete Titer für Parvovirus B19 liegt nicht im Sollbereich oder das HAV-Ergebnis lautet nicht-reaktiv. Nur B19: Ein ungültiges Ergebnis infolge des entsprechenden QS oder der berechnete Titer für Parvovirus B19 liegt nicht im Sollbereich. Nur HAV: Ein ungültiges Ergebnis infolge der entsprechenden IC oder das HAV-Ergebnis lautet nicht-reaktiv. Wenn das Ergebnis für DPX D (+) C ungültig ist, gilt der gesamte Batch als ungültig.
DPX H (+) C	Ein Flag wird angezeigt	Invalid	Ungültiges Ergebnis oder der errechnete Titerwert für die hoch positive Kontrolle liegt nicht im Sollbereich. Wenn das Ergebnis für DPX H (+) C ungültig ist, gilt der gesamte Batch als ungültig.

Ist eine der Kontrollen ungültig, testen Sie die jeweilige(n) Kontrolle(n) und alle zugehörigen Proben erneut.

Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse auf den cobas® 6800/8800 Systemen

- In jedem Batch werden eine Negativkontrolle [(-) Ctrl] und zwei Positivkontrollen [DPX D (+) C und DPX H (+) C] mitgeführt.
- Die cobas® 6800/8800 Software und/oder den Bericht auf Flags und entsprechende Ergebnisse kontrollieren, um die Gültigkeit des Batches zu überprüfen.
- Der Batch ist gültig, wenn für keine der drei Kontrollen Flags ausgegeben werden.

Die cobas® 6800/8800 Software markiert Ergebnisse bei ausgefallenen Negativ- und Positivkontrollen automatisch als ungültig.

Kontrollergebnisse auf den cobas® 6800/8800 Systemen

Tabelle 12 Kontroll-Flags für Negativ- und Positivkontrollen

Negativkontrolle	Flag	Ergebnis	Interpretation
(-) Ctrl	Q02	Invalid	Wenn das Ergebnis für (-) Ctrl ungültig ist, gilt der gesamte Batch als ungültig.
Positivkontrolle	Flag	Ergebnis	Interpretation
DPX D (+) C	Q02	Invalid	Ein ungültiges Ergebnis oder der berechnete Titer für Parvovirus B19 liegt nicht im Sollbereich oder das HAV-Ergebnis lautet nicht-reaktiv. Nur B19: Ein ungültiges Ergebnis infolge des entsprechenden QS oder der berechnete Titer für Parvovirus B19 liegt nicht im Sollbereich. Nur HAV: Ein ungültiges Ergebnis infolge der entsprechenden IC oder das HAV-Ergebnis lautet nicht-reaktiv. Wenn das Ergebnis für DPX D (+) C ungültig ist, gilt der gesamte Batch als ungültig.
DPX H (+) C	Q02	Invalid	Ungültiges Ergebnis oder der errechnete Titerwert für die hoch positive Kontrolle liegt nicht im Sollbereich. Wenn das Ergebnis für DPX H (+) C ungültig ist, gilt der gesamte Batch als ungültig.

Wenn der Batch ungültig ist, muss der Test des gesamten Batches einschließlich der Proben und Kontrollen wiederholt werden.

Interpretation der Ergebnisse

Bei gültigen Batches die einzelnen Proben in der Software der cobas® 5800/6800/8800 Systeme und/oder im Bericht auf Flags kontrollieren. Die Ergebnisse sind wie folgt zu interpretieren:

- Ein gültiger Batch kann sowohl gültige als auch ungültige Spenderprobenergebnisse enthalten, je nachdem, welche Flags für die einzelnen Proben generiert wurden.
- Probenergebnisse sind nur gültig, wenn die entsprechenden Positivkontrollen und die Negativkontrollen des betreffenden Batches gültig sind.

Für jede Probe werden vier Parameter gleichzeitig gemessen: Parvovirus B19, HAV, Quantifizierungsstandard und die interne Kontrolle. Die Endergebnisse des cobas® DPX-Tests für die Proben werden von der Software ausgegeben. Spenderproben in einem ungültigen Pool müssen erneut getestet werden. Die Ergebnisse für die einzelnen Zielsequenzen werden in der cobas® 5800/6800/8800 Software angezeigt und sind wie weiter unten in Tabelle 13 beschrieben zu interpretieren: Zusätzlich wird bei cobas® 6800/8800 ein Gesamtergebnis angezeigt, das die Ergebnisse zu den beiden Ziel-Nukleinsäuresequenzen kombiniert.

Tabelle 13 Interpretation der Ergebnisse für die einzelnen Zielsequenzen

Ergebnis für Zielsequenz	Interpretation
HAV Non-Reactive	Kein Signal für die HAV-Zielsequenz detektiert, IC-Signal detektiert
HAV Reactive	Signal für die HAV-Zielsequenz detektiert, IC-Signal detektiert oder nicht detektiert
B19 Target Not Detected	Kein Signal für die B19-DNA-Zielsequenz detektiert und QS-Signal detektiert
B19 < Titer Min	B19 detektiert und der berechnete Titer liegt unterhalb der unteren Quantifizierungsgrenze des Tests
B19 > Titer Max	B19 wurde detektiert und der berechnete Titer liegt über der oberen Quantifizierungsgrenze des Tests. ^a
B19 Titer	B19-Titerergebnis: B19 detektiert und der berechnete Titer liegt zwischen der oberen und der unteren Quantifizierungsgrenze des Tests
B19 < Cut-off-Wert (trifft nicht auf cobas® 5800 ohne cobas® Synergy zu)	B19-Titer liegt unter dem vom Benutzer festgelegten Cut-off-Wert; Titer vorhanden Hinweis: cobas® p 680: Der B19-Cut-off-Wert wird in der Software der cobas® 6800/8800 Systeme angezeigt. cobas® Synergy : Der B19-Cut-off-Wert wird in der cobas® Synergy Software angezeigt.
B19 ≥ Cut-off-Wert (trifft nicht auf cobas® 5800 ohne cobas® Synergy zu)	B19-Titer liegt über dem vom Benutzer festgelegten Cut-off-Wert; Titer vorhanden Hinweis: cobas® p 680: Der B19-Cut-off-Wert wird in der Software der cobas® 6800/8800 Systeme angezeigt. cobas® Synergy : Der B19-Cut-off-Wert wird in der cobas® Synergy Software angezeigt.
Invalid	HAV-Zielsequenz und/oder interne Kontrolle erfüllen nicht die Gültigkeitskriterien. Ergebnisse, die nicht reaktiv auf HAV sind, werden als „Ungültig“ ausgegeben, wenn der B19-Titer > 10 ⁶ IE/ml ist. Kein Signal für den B19-QS detektiert und B19-Zielsequenz detektiert oder nicht detektiert

^a Wenn ein quantitatives Ergebnis gewünscht wird, die ursprüngliche Probe mit Parvovirus-B19-negativem EDTA-Plasma verdünnen und den Test wiederholen. Das dabei ermittelte Ergebnis mit dem Verdünnungsfaktor multiplizieren. Bei Verwendung der **cobas® Synergy** Software kann die Überprüfung der finalen Ergebnisberechnung auch durch die **cobas® Synergy** Software erfolgen.

Interpretation der Ergebnisse auf dem cobas® 5800 System

Die Ergebnisse der Proben werden im **cobas® 5800 System** angezeigt. Es wird empfohlen, die Ergebnisse in der **cobas® Synergy Software** zu überprüfen.

- Einem gültigen Kontrollbatch zugehörige Proben (wie in der Kontrollkonfiguration des Systems definiert) werden in der Spalte „Kontrollergebnis“ als „Gültig“ angezeigt. Einem fehlgeschlagenen Kontrollbatch zugehörige Proben werden in der Spalte „Kontrollergebnis“ als „Ungültig“ angezeigt.
- Wenn die zu einer Probe gehörigen Kontrollen ungültig sind, werden die Probenergebnisse mit einem der folgenden Flags versehen:
 - Q05D: Fehler bei der Ergebnisvalidierung infolge einer ungültigen Positivkontrolle
 - Q06D: Fehler bei der Ergebnisvalidierung infolge einer ungültigen Negativkontrolle
- Die Ergebniswerte in der Spalte „Ergebnisse“ zu den einzelnen Zielergebnissen einer Probe sind wie in Tabelle 13 oben dargestellt zu interpretieren.
 - Das **cobas® 5800 System** zeigt einzelne Zielergebnisse für die qualitative HAV- und quantitative B19-Analyse an. Ein von einem benutzerdefinierten Cut-off-Wert abhängiges B19-Ergebnis ist auf dem **cobas® 5800 System** nicht verfügbar und wird ausschließlich in der Ergebnisansicht der **cobas® Synergy Software** angezeigt.
 - Das Gesamtergebnis ist in der Benutzeroberfläche des **cobas® 5800 Systems** nicht einsehbar. Es wird ausschließlich in der Ergebnisansicht der **cobas® Synergy Software** angezeigt.
 - Weitere Informationen zu Probenergebnissen und Flags finden Sie in der Benutzerunterstützung des **cobas® 5800 Systems**.

Interpretation der Ergebnisse auf den cobas® 6800/8800 Systemen

Bei gültigen Batches die einzelnen Proben in der Software der **cobas® 6800/8800 Systeme** und/oder im Bericht auf Flags kontrollieren. Die Ergebnisse sind wie folgt zu interpretieren:

- Die Proben werden in der Spalte „Gültig“ mit „Ja“ gekennzeichnet, wenn für alle angeforderten Zielregionen gültige Ergebnisse erhalten wurden. Die Proben werden in der Spalte „Gültig“ mit „Nein“ gekennzeichnet, wenn ggf. zusätzliche Interpretationen und Maßnahmen erforderlich sind.
- Die Ergebniswerte zu den einzelnen Zielsequenzen einer Probe sind wie in Tabelle 13 oben dargestellt zu interpretieren.
- Weitere Informationen zu Probenergebnissen und Flags finden Sie in der Benutzerunterstützung der **cobas® 6800/8800 Systeme**.

Wiederholungsmessung für einzelne Proben

Bei Probenröhrchen, bei denen das endgültige Ergebnis für eine Zielsequenz ungültig ist, muss der Test ungeachtet der gültigen Ergebnisse anderer Zielsequenzen wiederholt werden. Das Ergebnis des wiederholten Tests für ein ungültiges HAV-Ergebnis aufgrund eines hohen B19-Titers ($> 10^6$ IE/ml) bleibt „Ungültig“. Bei Blut, das in EDTA-Antikoagulans, Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) entnommen wurde, kann eine zusätzliche 5-minütige Zentrifugation bei $600 \times g$ helfen, das wiederholte Auftreten ungültiger Ergebnisse zu reduzieren.

Verfahrenseinschränkungen

- Der **cobas® DPX**-Test ist ausschließlich für den Gebrauch mit dem **cobas® DPX Control Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit**, **cobas® omni MGP Reagent**, **cobas® omni Lysis Reagent**, **cobas® omni Specimen Diluent** und **cobas® omni Wash Reagent** auf den **cobas® 5800/6800/8800** Systemen validiert.
- Zuverlässige Ergebnisse hängen von der sachgemäßen Entnahme, Lagerung und Bearbeitung der Proben ab.
- Bei diesem Test kein heparinisiertes Plasma verwenden, da Heparin nachweislich die PCR hemmt.
- Die Detektion von B19-DNA und HAV-RNA hängt von der Anzahl der in der Probe enthaltenen Viruspartikel ab und kann durch Entnahmeverfahren, Lagerung und Handhabung der Proben, patientenbezogene Faktoren (Alter, Vorhandensein von Symptomen) und/oder das Infektionsstadium und die Pool-Größe beeinflusst werden.
- Mutationen in den hochkonservierten Regionen des viralen Genoms, das durch den **cobas® DPX**-Test abgedeckt wird, treten zwar selten auf, können jedoch die Primer- und/oder Sondenbindung beeinträchtigen und dadurch zur Unterquantifizierung oder Nichterkennung des Virus führen.
- Bevor Benutzer zwischen verschiedenen Verfahren wechseln, sollten sie aufgrund der inhärenten Unterschiede zwischen den Verfahren im eigenen Labor Studien zur Korrelation der Methoden durchführen, um die Unterschiede der Verfahren zu ermitteln. Außerdem sollten Benutzer stets die eigenen Richtlinien und Verfahren beachten.

Systemäquivalenz und -vergleich

Die Systemäquivalenz des **cobas® 5800** Systems und der **cobas® 6800/8800** Systeme wurde anhand von Äquivalenzstudien belegt.

Die in dieser Gebrauchsanweisung aufgeführten Ergebnisse basieren auf äquivalenten Leistungsmerkmalen für alle Systeme.

Nichtklinische Leistungsmerkmale für die cobas® 6800/8800 Systeme

Wichtigste Leistungsmerkmale – Proben von Lebendspendern

Nachweisgrenze (LoD)

Internationale WHO-Standards

Die Nachweisgrenze des cobas® DPX-Tests wurde sowohl für HAV-RNA als auch für Parvovirus-B19-DNA unter Verwendung internationaler WHO-Standards (HAV: NIBSC-Code 00/560; Parvovirus B19: NIBSC-Code 99/802) bestimmt.

Drei unabhängige Verdünnungsreihen jedes Virusstandards wurden mit gepooltem, virus-negativem Humanplasma, das in EDTA-Antikoagulans gesammelt wurde, hergestellt. Jede Verdünnungsreihe wurde mit drei verschiedenen Chargen des cobas® DPX-Reagenzkits mit ca. 21 Replikaten pro Charge getestet (insgesamt ca. 189 Replikate pro Konzentration). Um die Nachweisgrenze (LoD) sowie das obere und untere Bezugs-Konfidenzintervall von 95 % zu ermitteln, wurde eine PROBIT-Analyse der kombinierten Daten aller Replikate durchgeführt, die für die einzelnen Viren getestet wurden. In Tabelle 14 bis Tabelle 16 sind die Gesamtergebnisse dieser Untersuchung der Nachweisgrenze zusammengefasst.

Tabelle 14 Ergebnisse der PROBIT-Analysen zur Bestimmung der Nachweisgrenze unter Verwendung von Virusstandards in EDTA-Plasma

Analyt	Maßeinheit	LoD	Untere 95-%-Konfidenzgrenze	Obere 95-%-Konfidenzgrenze
HAV	IE/ml	1,1	0,9	1,3
Parvovirus B19	IE/ml	13,9	11,7	17,4

Tabelle 15 Zusammenfassung der Reaktivitätsraten für HAV in EDTA-Plasma

HAV-RNA-Konzentration (IE/ml)	Anzahl der reaktiven Proben	Anzahl gültiger Replikate	% reaktiv	Untere 95-%-Konfidenzgrenze (einseitig)
6	189	189	100 %	98,4 %
3	189	189	100 %	98,4 %
1,5	186	189	98,4 %	95,9 %
0,75	165	189	87,3 %	82,6 %
0,375	119	189	63,0 %	56,8 %

Tabelle 16 Zusammenfassung der Reaktivitätsraten für Parvovirus B19 in EDTA-Plasma

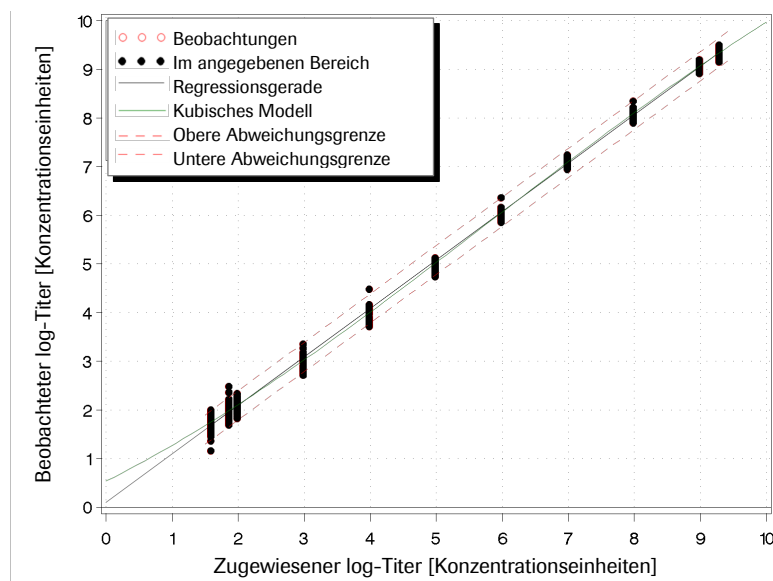
Konzentration von Parvovirus-B19-DNA (IE/ml)	Anzahl der reaktiven Proben	Anzahl gültiger Replikate	% reaktiv	Untere 95-%-Konfidenzgrenze (einseitig)
40	187	189	98,9 %	96,7 %
20	184	189	97,4 %	94,5 %
10	175	189	92,6 %	88,7 %
5	145	189	76,7 %	71,1 %
2,5	91	189	48,1 %	42,0 %

Linearitätsbereich der Parvovirus-B19-Quantifizierung

Die Linearitätsstudie zur Parvovirus-B19-Quantifizierung mit dem **cobas® DPX**-Test wurde unter Verwendung einer Verdünnungsreihe aus 12 Panelproben durchgeführt, die den vorgesehenen linearen Bereich für den vorherrschenden Parvovirus-B19-Genotyp 1 abdecken. Die Bewertung erfolgte gemäß CLSI-Richtlinie EP6-A. Es wurden drei Reagenzchargen auf drei **cobas® 6800/8800** Systemen von drei Anwendern mit insgesamt 16 Replikaten pro Panelprobe und Charge an 12 Testtagen analysiert.

Die Studie wurde unter Verwendung von drei Reagenzchargen durchgeführt. Die Studie ergab, dass der lineare Bereich von 40 IE/ml bis 1,00E+09 IE/ml (38,5 IE/ml bis 1,93E+09 IE/ml) reicht und die absolute Abweichung von der nichtlinearen Regression in EDTA-Humanplasma weniger als $\pm 0,3 \log_{10}$ beträgt (siehe Tabelle 6).

Abbildung 6 Bestimmung des linearen Bereichs für Parvovirus B19 in EDTA-Plasma



Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit des **cobas® DPX**-Tests wurde mit vier verschiedenen Systemen/Anwendern, unterschiedlicher Variabilität von Serie zu Serie und drei Reagenzchargen an drei verschiedenen Tagen bestimmt. Die Ergebnisse für die Reagenzchargen sind in Tabelle 17 zusammengefasst.

Tabelle 17 Charge-zu-Charge-Reproduzierbarkeit der Reagenzien

Analyt	Konzentration	Reagenz-charge	% reaktiv (reaktive/gültige Replikate)	Untergrenze des 95%-Konfidenzintervalls	Obergrenze des 95%-Konfidenzintervalls
HAV	2 × LoD	1	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		2	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
		3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
	1 × LoD	1	98,4 % (62/63)	91,5 %	100,0 %
		2	96,8 % (61/63)	89,0 %	99,6 %
		3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
	0,5 × LoD	1	79,4 % (50/63)	67,3 %	88,5 %
		2	90,5 % (57/63)	80,4 %	96,4 %
		3	92,1 % (58/63)	82,4 %	97,4 %

Präzision

Die Präzision des **cobas® DPX**-Tests wurde für Parvovirus B19 durch die Analyse einer Verdünnungsreihe einer Parvovirus-B19-positiven Probe in negativem EDTA-Plasma bestimmt. Dabei wurden an 12 Tagen unter Verwendung von drei Instrumenten und drei Anwendern 8 Verdünnungsstufen mit 48 Replikaten für jede Verdünnung über drei Chargen von **cobas® DPX**-Testreagenzien getestet. Alle Proben durchliefen das gesamte **cobas® DPX**-Testverfahren auf vollautomatisierten **cobas® 6800/8800** Systemen. Die hier angegebene Präzision spiegelt daher alle Aspekte des Testverfahrens wider. Die Ergebnisse sind in Tabelle 18 zusammengefasst.

Der **cobas® DPX**-Test zeigte für Parvovirus B19 eine hohe Präzision für drei Reagenzchargen, die über den Konzentrationsbereich von 1,00E+03 IE/ml bis 2,0E+09 IE/ml getestet wurden.

Tabelle 18 Laborinterne Präzision des **cobas® DPX**-Tests*

Nennkonzentration (IE/ml)	Zugewiesene Konzentration (IE/ml)	Ausgangsmaterial	EDTA-Plasma			
			Charge 1	Charge 2	Charge 3	Alle Chargen
			SD	SD	SD	SD gepoolt
2,00E+09	1,93E+09	Klinische Probe	0,08	0,05	0,04	0,06
1,00E+09	9,63E+08	Klinische Probe	0,05	0,06	0,04	0,05
1,00E+08	9,63E+07	Klinische Probe	0,04	0,07	0,04	0,05
1,00E+07	9,63E+06	Klinische Probe	0,04	0,04	0,03	0,04
1,00E+06	9,63E+05	Klinische Probe	0,12	0,04	0,04	0,08
1,00E+05	9,63E+04	Klinische Probe	0,06	0,05	0,02	0,05
1,00E+04	9,63E+03	Klinische Probe	0,06	0,12	0,04	0,08
1,00E+03	9,63E+02	Klinische Probe	0,05	0,09	0,04	0,06

* Titerdaten werden als log-normalverteilt betrachtet und nach der log₁₀-Transformation analysiert. In den Spalten zur Standardabweichung (SD) sind die log-transformierten Gesamttiter für die drei Reagenzchargen angegeben.

Genotyp-Subtypenerfassung – HAV

Die Leistung des **cobas**® DPX-Tests bei der Detektion von drei HAV-Genotypen wurde durch Testen von insgesamt 12 verschiedenen klinischen Proben, dem WHO-Standard für HAV (NIBSC-Code 00/560) und acht HAV-Kulturisolaten bekannten Genotyps bestimmt. Alle klinischen Proben und Kulturisolate wurden mit dem **cobas**® DPX-Test nach dem Verfahren des Kalibrator-Bracketings quantifiziert. Alle klinischen Proben wurden unverdünnt und nach Verdünnung mit normalem, virusnegativem (HAV) EDTA-Humanplasma auf das 3,6fache der Nachweisgrenze des **cobas**® DPX-Tests getestet. Alle acht Kulturisolate und der WHO-Standard für HAV wurden nach Verdünnung mit normalem, HAV-negativem EDTA-Humanplasma auf das 3,6fache der Nachweisgrenze des **cobas**® DPX-Tests getestet. Alle klinischen Proben und Kulturisolate wurden unverdünnt und/oder nach Verdünnung auf die 3,6fache Nachweisgrenze detektiert (Tabelle 19).

Tabelle 19 Klinische HAV-Proben und HAV-Kulturisolate

Genotyp	Klinische Proben		Kulturisolate
	% reaktiv (reaktiv/getestete Proben) unverdünnt	% reaktiv (reaktiv/getestete Proben) verdünnt auf 3,6 × LoD	% reaktiv (reaktiv/getestete Proben) verdünnt auf 3,6 × LoD
I A	100,0 % (11/11)	100,0 % (12/12)**	Nicht getestet*
I B	100,0 % (1/1)	100,0 % (1/1)	100,0 % (1/1)
II A	Nicht getestet*	Nicht getestet*	100,0 % (1/1)
II B	Nicht getestet*	Nicht getestet*	100,0 % (1/1)
III A	Nicht getestet*	Nicht getestet*	100,0 % (3/3)
III B	Nicht getestet*	Nicht getestet*	100,0 % (2/2)

* Unzureichendes Volumen für unverdünnten/verdünnten Test

** Einschließlich WHO-Standard für HAV (NIBSC-Code 00/560)

Genotypverifizierung für Parvovirus B19

Die Leistung des cobas® DPX-Tests für Genotypen des Parvovirus B19 wurde wie folgt evaluiert:

- Verifizierung der Nachweisgrenze für die Genotypen 1, 2 und 3
- Verifizierung des linearen Bereichs für die Genotypen 2 und 3

Verifizierung der Nachweisgrenze für die Genotypen 1 bis 3

Klinische Proben mit Parvovirus-B19-DNA wurden für drei verschiedene Genotypen (1, 2, 3a) mit EDTA-Plasma auf eine Konzentration verdünnt. Parvovirus-B19-Plasmid für Genotyp 3b wurde mit EDTA-Plasma auf eine Konzentration verdünnt. Die Reaktivitätsrate wurde anhand von 21 Replikaten bestimmt. Die Tests wurden mit einer Charge von cobas® DPX-Reagenzien durchgeführt. Die Ergebnisse für EDTA-Plasma sind in Tabelle 20 dargestellt. Diese Ergebnisse belegen, dass mit dem cobas® DPX-Test Parvovirus-B19-DNA von drei verschiedenen Genotypen in Konzentrationen von 10,3 IE/ml bis 17,4 IE/ml mit einer Reaktivitätsrate von 100 % nachgewiesen werden kann.

Tabelle 20 Subtypenerfassung von Parvovirus-B19-Genotypen

Genotyp	Konzentration	% reaktiv (reaktive/gültige Replikate)	Untergrenze des 95%-Konfidenzintervalls	Obergrenze des 95%-Konfidenzintervalls
1	17,4 IE/ml	100 % (21/21)	83,9 %	100,0 %
2	10,3 IE/ml	100 % (21/21)	83,9 %	100,0 %
3a	10,3 IE/ml	100 % (21/21)	83,9 %	100,0 %
3b	17,4 IE/ml	100 % (20/20)	83,2 %	100,0 %

Verifizierung des linearen Bereichs für die Genotypen 2 und 3a

Die zur Verifizierung der Genotypenlinearität des cobas® DPX-Tests verwendete Verdünnungsreihe umfasste sieben Panelproben, die den vorgesehenen linearen Bereich abdecken. Die Panelproben mit hohem Titer wurden aus einer Plasmid-DNA-Stammlösung mit hohem Titer hergestellt, wogegen die Panelproben mit niedrigem Titer aus dem ersten internationalen Referenz-Panel der WHO für Parvovirus-B19-Genotypen (NIBSC 09/110) angesetzt wurden. Das Linearitäts-Panel war auf eine Titerüberlappung von ca. 2 log₁₀ zwischen den beiden Materialquellen ausgelegt. Der lineare Bereich des cobas® DPX-Tests erstreckte sich von der unteren Quantifizierungsgrenze (40 IE/ml) bis zur oberen Quantifizierungsgrenze (1,00E+09 IE/ml) und umfasste einen medizinischen Entscheidungspunkt. Die Tests wurden mit einer Charge von cobas® DPX-Reagenzien durchgeführt. Es wurden 11 Replikate je Konzentration in EDTA-Plasma getestet. Der lineare Bereich des cobas® DPX-Tests konnte für beide Genotypen (2 und 3a) bestätigt werden. Die maximale Abweichung zwischen der linearen Regression und der nichtlinearen Regression war kleiner oder gleich 0,3 log₁₀.

Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität des **cobas®** DPX-Tests wurde bezüglich der Kreuzreaktivität evaluiert, indem ein Panel aus 27 Mikroorganismen mit 10^6 Partikeln, IE, Kopien oder CFU/ml getestet wurde (siehe Tabelle 21). Die Mikroorganismen wurden virusnegativem Poolplasma humanen Ursprungs zugesetzt und mit und ohne Zugabe von HAV oder Parvovirus B19 getestet, die in einer Konzentration der ca. 3fachen Nachweisgrenze (HAV) bzw. der 5fachen unteren Quantifizierungsgrenze (Parvovirus B19) des **cobas®** DPX-Tests zugegeben wurden. Mit dem **cobas®** DPX-Test wurden für alle Mikroorganismenproben ohne Zusatz von HAV oder Parvovirus B19 nicht-reaktive Ergebnisse und für alle Mikroorganismenproben mit Zusatz von HAV oder Parvovirus B19 reaktive Ergebnisse erhalten. Darüber hinaus lag der mittlere $\log_{10}$ -Titer bei allen positiven Parvovirus-B19-Proben, die potenziell kreuzreagierende Organismen enthielten, innerhalb von $\pm 0,5 \log_{10}$ Abstand zum mittleren $\log_{10}$ -Titer der betreffenden zugesetzten Kontrolle. Die getesteten Mikroorganismen zeigen keine Kreuzreaktivität mit dem **cobas®** DPX-Test.

Die getesteten Mikroorganismen stören den **cobas®** DPX-Test nicht.

Tabelle 21 Zur Bestimmung der analytischen Spezifität getestete Mikroorganismen

Viren	Flavivirus	Bakterien	Hefen
Adenovirus 5	West-Nil-Virus (WNV)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Chikungunya-Virus	Dengue-Virus Typ 1	<i>Propionibacterium acnes</i>	-
Cytomegalievirus (CMV)	Usutu-Virus	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Epstein-Barr-Virus (EBV)	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Hepatitis-B-Virus (HBV)	-	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-
Hepatitis-C-Virus (HCV)	-	<i>Streptococcus viridans</i>	-
Hepatitis-E-Virus (HEV)	-	-	-
Hepatitis-G-Virus (GBV-C)	-	-	-
Herpes-simplex-Virus Typ 1 (HSV-1)	-	-	-
Herpes-simplex-Virus Typ 2 (HSV-2)	-	-	-
Humanes Herpesvirus 6A (HHV-6)	-	-	-
Humanes Immundefizienz-Virus (Subtypen HIV-1M und HIV-2)	-	-	-
Humanes T-lymphotropes Virus Typ I (HTLV-I)	-	-	-
Humanes T-lymphotropes Virus Typ II (HTLV-II)	-	-	-
Influenza-Virus A	-	-	-
Varicella-Zoster-Virus (VZV)	-	-	-

Plasmaproben von jeder der anderen in Tabelle 22 aufgeführten Erkrankungen wurden mit und ohne Zugabe von HAV oder Parvovirus B19 getestet, die in einer Konzentration der ca. 3fachen Nachweisgrenze (HAV) bzw. der 5fachen unteren Quantifizierungsgrenze (Parvovirus B19) des **cobas®** DPX-Tests zugegeben wurden. Der **cobas®** DPX-Test ergab für die Proben aller Erkrankungen ohne Zugabe von HAV oder Parvovirus B19 nicht-reaktive Ergebnisse. Der **cobas®** DPX-Test ergab für die Proben aller Erkrankungen mit Zugabe von HAV oder Parvovirus B19 reaktive Ergebnisse. Darüber hinaus lag der mittlere $\log_{10}$ -Titer bei allen positiven Parvovirus-B19-Proben, die potenziell kreuzreagierende Organismen enthielten, innerhalb von $\pm 0,5 \log_{10}$ Abstand zum mittleren $\log_{10}$ -Titer der betreffenden zugesetzten Kontrolle. Diese Erkrankungen führten zu keiner Störung des **cobas®** DPX-Tests.

Tabelle 22 Zur Bestimmung der analytischen Spezifität getestete Erkrankungen

Erkrankung		
Adenovirus Typ 5	Hepatitis-C-Virus	Humanes T-Zell-lymphotropes Virus Typ I
Zytomegalievirus	Hepatitis-E-Virus	Humanes T-Zell-lymphotropes Virus Typ II
Dengue-Virus	Herpes-simplex-Virus Typ 1	West-Nil-Virus
Epstein-Barr-Virus	Herpes-simplex-Virus Typ 2	-
Hepatitis-B-Virus	Humanes Immundefizienz-Virus (HIV-1M)	-

Analytische Spezifität – Störsubstanzen

Endogene Störsubstanzen

Plasmaproben mit abnormal hohen Konzentrationen von Triglyceriden (bis 33 g/l), Hämoglobin (bis 2 g/l), unkonjugiertem Bilirubin (bis 0,2 g/l), konjugiertem Bilirubin (bis 0,2 g/l), Albumin (bis 60 g/l) oder Human-DNA (bis 1,8 mg/l) wurden mit und ohne Zugabe von HAV und Parvovirus B19 getestet, die in einer Konzentration der ca. 3fachen Nachweisgrenze (HAV) bzw. der 5fachen unteren Quantifizierungsgrenze (Parvovirus B19) des **cobas® DPX**-Tests zugegeben wurden. Diese endogenen Substanzen wirkten sich nicht störend auf die Sensitivität, Quantifizierung oder Spezifität des **cobas® DPX**-Tests aus.

Exogene Störsubstanzen

Normales, virus-negatives EDTA-Humanplasma mit abnormal hohen Medikamentenkonzentrationen (Tabelle 23) wurde mit und ohne Zugabe von HAV und Parvovirus B19 getestet, die in einer Konzentration der ca. 3fachen Nachweisgrenze (HAV) bzw. der 5fachen unteren Quantifizierungsgrenze (Parvovirus B19) des **cobas® DPX**-Tests zugegeben wurden. Diese exogenen Substanzen wirkten sich nicht störend auf die Sensitivität, Quantifizierung oder Spezifität des **cobas® DPX**-Tests aus.

Tabelle 23 Getestete klinische Proben mit Medikamenten

Medikament	Konzentration
Acetaminophen	1324 µmol/l
Acetylsalicylsäure	3620 µmol/l
Ascorbinsäure	342 µmol/l
Atorvastatin	600 µg-Äq./l
Fluoxetin	11,2 µmol/l
Ibuprofen	2425 µmol/l
Loratadin	0,78 µmol/l
Nadolol	3,88 µmol/l
Naproxen	2170 µmol/l
Paroxetin	3,04 µmol/l
Phenylephrin-HCl	491 µmol/l
Sertralin	1,96 µmol/l

Korrelation

Leistungsbewertung des **cobas® DPX**-Tests im Vergleich zum **cobas® TaqScreen DPX**-Test

Zum Vergleich der Leistung des **cobas® DPX**-Tests mit der des **cobas® TaqScreen DPX**-Tests wurden verschiedene Plasmaproben getestet, die mittels NAT positiv auf HAV (84 Proben), positiv auf Parvovirus B19 (100 Proben) und negativ auf sowohl HAV als auch Parvovirus B19 (100 Proben) getestet wurden.

Die negativen Proben zeigten eine Spezifität von 100 %, da mit beiden Tests alle 100 Proben nicht reaktiv waren.

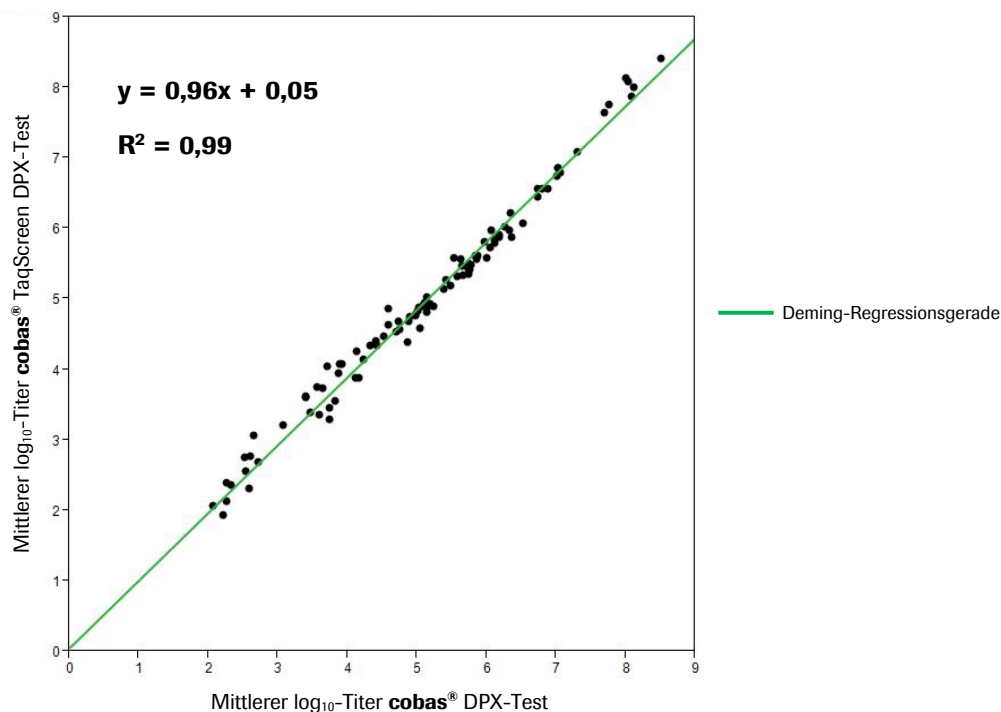
Bei den HAV-positiven Proben wurde für alle 84 Proben zwischen dem **cobas® DPX**-Test und dem **cobas® TaqScreen DPX**-Test Übereinstimmung erzielt (Tabelle 24). Dies entspricht einer positiven prozentualen Übereinstimmung von 100 %.

Tabelle 24 Korrelation zwischen HAV-positiven und HAV-negativen Proben

Verfahren		HAV-Ergebnisse	
cobas® TaqScreen DPX	cobas® DPX	Positive Proben	Negative Proben
Nicht reaktiv	Nicht reaktiv	0	100
Reaktiv	Nicht reaktiv	0	0
Nicht reaktiv	Reaktiv	0	0
Reaktiv	Reaktiv	84	0
Gesamt		84	100
McNemar-Test, p-Wert (zweiseitig, $\alpha = 0,05$)		1,00	1,00

Die Parvovirus-B19-positiven Proben wurden mit den **cobas® DPX**- und **cobas® TaqScreen DPX**-Tests in Doppelbestimmungen getestet. Es wurde eine Deming-Regressionsanalyse durchgeführt. Die mittlere Titerabweichung der mit den beiden Tests getesteten Proben betrug $0,15 \log_{10}$. Im Titerbereich von $1,0E+03$ bis $1,0E+06$ IE/ml betrug die mittlere Titerabweichung der mit den beiden Tests getesteten Proben $0,14 \log_{10}$.

Die Ergebnisse der Deming-Regression sind in Abbildung 7 dargestellt.

Abbildung 7 Regressionsanalyse des **cobas® DPX**-Tests im Vergleich zum **cobas® TaqScreen DPX**-Test anhand von 100 Parvovirus-B19-positiven Proben

Gesamtsystemausfall

Zur Ermittlung der Gesamtsystemausfallrate des **cobas**® DPX-Tests wurden 100 Replikate von EDTA-Plasma getestet, das mit HAV und Parvovirus B19 versetzt wurde. Diese Proben wurden mit einer Zielsequenzkonzentration der ca. 3fachen Nachweisgrenze und in 1er-Pools (unverdünnt) getestet. Die Studie wurde unter Verwendung des **cobas**® 8800 Systems in Kombination mit dem **cobas**® p 680 Instrument (Pipettierung und Pooling) durchgeführt.

Die Studie ergab, dass alle Replikate reaktiv auf Parvovirus B19 waren, was einer Gesamtsystemausfallrate von 0 % entspricht. Das exakte zweiseitige 95-%-Konfidenzintervall betrug 0 % für die Untergrenze und 3,62 % für die Obergrenze [0 %: 3,62 %].

Die Studie ergab, dass 99 der 100 Replikate reaktiv auf HAV waren, was einer Gesamtsystemausfallrate von 1 % entspricht. Das exakte zweiseitige 95-%-Konfidenzintervall betrug 0 % für die Untergrenze und 5,45 % für die Obergrenze [0 %: 5,45 %].

Kreuzkontamination

Zur Ermittlung der Kreuzkontaminationsrate des **cobas**® DPX-Tests wurden 239 Replikate des Negativkontrollpuffers und 223 Replikate einer Probe mit einem hohen Parvovirus-B19-Titer von 1,00E+08 IE/ml getestet. Die Studie wurde auf dem **cobas**® 8800 System durchgeführt. Es wurden insgesamt fünf Läufe mit Positiv- und Negativproben in Schachbrettkonfiguration durchgeführt.

Alle 239 Replikate des Negativkontrollpuffers waren nicht-reaktiv, was einer Kreuzkontaminationsrate von 0 % entspricht. Das exakte zweiseitige 95-%-Konfidenzintervall betrug 0 % für die Untergrenze und 1,53 % für die Obergrenze [0 %: 1,53 %].

Klinische Leistung

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit des **cobas® DPX**-Tests wurde durch Testen des folgenden aus 16 Proben bestehenden Panels ermittelt: 2 HAV-negative und für Parvovirus B19 unter der unteren Quantifizierungsgrenze liegende Plasmaproben, sowie 14 positive Plasmaproben, von denen jeweils zwei Proben bei jeder der 3 Konzentrationen (Konzentrationen von ungefähr der 0,5fachen, der 1,0fachen und der 3,0fachen Nachweisgrenze des **cobas® DPX**-Tests für HAV) HAV-positiv waren und jeweils zwei Proben bei jeder der 4 Konzentrationen (von 10^3 bis 10^6 IE/ml) positiv für Parvovirus B19 waren.

Dabei führten Anwender in allen drei **cobas® DPX** Testzentren an fünf Tagen Tests mit 3 Chargen **cobas® DPX**-Reagenzien durch und erzielten so pro Tag zwei gültige Batches. Pro Konzentration wurden zwei Replikate getestet, so dass sich bis zu 180 Tests pro Panelproben-Virus bei jeder der drei HAV-Konzentrationen und jeder der vier Parvovirus-B19-Konzentrationen ergaben.

Alle gültigen Batches und Testergebnisse für HAV wurden analysiert, indem jeweils der Prozentsatz der reaktiven Testergebnisse für jede Panelprobe sowie der Prozentsatz der nicht-reaktiven Ergebnisse für die Negativkontrolle des Panels berechnet wurde (Tabelle 25). Diese Studie belegt, dass **cobas® DPX** über die Variablen hinweg (zwischen Chargen, zwischen Testorten/Geräten, zwischen Tagen, zwischen Batches und innerhalb eines Batches) bei jeder der drei getesteten HAV-Konzentrationen reproduzierbare Ergebnisse liefert.

Tabelle 25 HAV-Testergebnisse, gruppiert nach Testort/Gerät, Charge, Tag und Batch (positive Panelproben)

				Anzahl reaktiver Tests/Gesamtanzahl gültiger Ergebnisse											
HAV-Konzentration	Mittlerer Ct	Ct SD	Ct VK%	Charge			Testort/Gerät			Tag			Batch		
				ID	Reaktiv/Gültig	%	ID	Reaktiv/Gültig	%	ID	Reaktiv/Gültig	%	ID	Reaktiv/Gültig	%
0,5 × LoD	37,50	0,799	2,1	1	53/60	88,3	1	48/60	80,0	1	30/36	83,3	1	76/90	84,4
				2	48/60	80,0	2	51/60	85,0	2	33/36	91,7	2	77/90	85,6
				3	52/60	86,7	3	54/60	90,0	3	31/36	86,1			
										4	26/36	72,2			
										5	33/36	91,7			
1,0 × LoD	37,04	0,763	2,1	1	57/59	96,6	1	55/60	91,7	1	34/36	94,4	1	88/89	98,9
				2	58/60	96,7	2	59/59	100,0	2	35/35	100,0	2	85/90	94,4
				3	58/60	96,7	3	59/60	98,3	3	36/36	100,0			
										4	34/36	94,4			
										5	34/36	94,4			
3,0 × LoD	35,95	0,725	2,0	1	60/60	100,0	1	60/60	100,0	1	36/36	100,0	1	90/90	100,0
				2	60/60	100,0	2	60/60	100,0	2	36/36	100,0	2	90/90	100,0
				3	60/60	100,0	3	60/60	100,0	3	36/36	100,0			
										4	36/36	100,0			
										5	36/36	100,0			

Hinweis: Ct = Zyklusschwellenwert

Alle gültigen Batches und Testergebnisse für Parvovirus B19 wurden analysiert, indem jeweils die Standardabweichung für jede Variable (Charge, Testort/Gerät, Tag, Batch und innerhalb eines Batches) sowie die Standardabweichung der Gesamtpräzision für jede Konzentration des Parvovirus B19 berechnet wurde (Tabelle 26). Diese Studie belegt, dass cobas® DPX über die Variablen hinweg (zwischen Chargen, Testorten/Geräten, Tagen, Batches und innerhalb eines Batches) bei jeder der vier getesteten Parvovirus B19-Konzentrationen reproduzierbare Ergebnisse liefert.

Tabelle 26 Testergebnisse für Parvovirus B19, gruppiert nach Testort/Gerät, Charge, Tag und Batch (positive Panelproben)

Erwartungs- wert der B19-DNA- Konzentra- tion (log ₁₀ IE/ml)	Erwartungs- wert der B19-DNA- Konzentra- tion (IE/ml)	Mittlere B19-DNA- Konzentra- tion (log ₁₀ IE/ml)	Mittelwert der Lognormal- verteilung der B19- DNA- Konzentra- tion (IE/ml) ^a	Anzahl Tests ^b	Charge	Testort/ Gerät	Tag	Batch	Innerhalb eines Batches	Gesamt- standard- abweichung der log ₁₀ - Konzentration von B19-DNA
3,000	1.000	3,09	1.252	176	0,0444	0,0092	0,0000	0,0000	0,0559	0,072
4,000	10.000	4,04	11.008	178	0,0348	0,0141	0,0248	0,0135	0,0543	0,072
5,000	100.000	5,04	111.745	179	0,0305	0,0221	0,0000	0,0265	0,0663	0,081
6,000	1.000.000	6,08	1.216.471	179	0,0248	0,0181	0,0166	0,0141	0,0718	0,081

^a Mittelwert der Lognormalverteilung = $10^{\hat{\mu} + \hat{\sigma}^2 \cdot 1.151}$, wobei Mittelwert und Standardabweichung Schätzungen aus den Random-Effects-Modellen für Varianzkomponenten sind.

^b Anzahl der Tests mit nachweisbarer Viruslast. Es wurden mindestens 180 Tests/Panelprobe geplant. Ungültige Tests wurden nicht wiederholt.

Weitere Informationen

Wichtigste Leistungsmerkmale des Tests

Probenart	Plasma*
Erforderliche Probenmenge	1000 µl
Verarbeitete Probenmenge	850 µl

* Teströhrchen können unterschiedliche Totvolumina aufweisen und mehr oder weniger Mindestvolumen erfordern. Für weitere Informationen wenden Sie sich an den zuständigen Servicemitarbeiter von Roche Diagnostics.

Symbole

Die folgenden Symbole werden bei der Kennzeichnung von Roche PCR-Diagnostikprodukten verwendet.

Tabelle 27 Symbole zur Kennzeichnung von Roche PCR-Diagnostikprodukten

Age/DOB Alter oder Geburtsdatum	Produkt nicht für eine patientennahe Testung geeignet	QS IU/PCR Quantifizierungsstandard zur Berechnung der Ergebnisse, in Internationalen Einheiten pro PCR-Reaktion
Zusatz-Software	Produkt nicht für Selbsttests geeignet	
Assigned Range [copies/mL] Sollbereich (Kopien/mL)	Vertrieb (Hinweis: ggf. Angabe von Land/ Region unter dem Symbol)	SN Seriennummer
Assigned Range [IU/mL] Sollbereich (IE/mL)	Nicht wiederverwenden	Site Zentrum, Labor
EC REP Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft	Frauen, weiblich	Procedure Standard Standardverfahren
BARCODE Barcode-Datenblatt	Nur zur Beurteilung der IVD-Leistung	STERILE EO Mit Ethylenoxid sterilisiert
LOT Chargenbezeichnung	GTIN Globale Artikelnummer GTIN	Im Dunkeln lagern
Biogefährdung	Import	Temperaturbegrenzung
REF Bestellnummer	IVD <i>In-vitro</i> -Diagnostikum	Testdefinitionsdatei
CE-Kennzeichnung für Konformität; dieses Produkt entspricht den geltenden Vorschriften für die CE-Kennzeichnung für <i>In-vitro</i> -Diagnostika.	LLR Unterer Grenzwert des Sollbereichs	Diese Seite oben
Collect Date Entnahmedatum	Männer, männlich	Procedure UltraSensitive Ultrasensitives Verfahren
Gebrauchsanweisung beachten	Hersteller	UDI Einmalige Produktkennung
Ausreichend für <n> Tests	CONTROL - Negativkontrolle	ULR Oberer Grenzwert des Sollbereichs
CONTENT Inhalt des Kits	Nicht steril	Urine Fill Line Fülllinie für Urin
CONTROL Kontrolle	Patientenname	Rx Only Für die USA: Vorsicht: In den USA darf dieses Produkt nach den gesetzlichen Vorschriften nur durch einen Arzt oder auf ärztliche Verschreibung abgegeben werden.
Herstellungsdatum	Patienten-ID	Verwendbar bis
Produkt für patientennahe Tests	Hier abziehen	
Produkt zur Eigenanwendung	CONTROL + Positivkontrolle	
	QS copies / PCR Quantifizierungsstandard zur Berechnung der Ergebnisse, in Kopien pro PCR-Reaktion.	

Technischer Support

Für technischen Support wenden Sie sich bitte an Ihre Roche-Vertretung vor Ort:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Hersteller und Importeur

Tabelle 28 Hersteller und Importeur



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

Hergestellt in den USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marken und Patente

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

Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Literatur

1. Blümel J, Burger R, Drosten C, et al. Parvovirus B19-Revised. *Transfus Med Hemother*. 2010;37:339-50.
2. Molenaar-de Backer MW, Lukashov VV, van Binnendijk RS, Boot HJ, Zaaijer HL. Global co-existence of two evolutionary lineages of parvovirus B19 1a, different in genome-wide synonymous positions. *PloS One*. 2012;7:e43206.
3. Servant A, Laperche S, Lallemand F, et al. Genetic diversity within human erythroviruses: identification of three genotypes. *J Virol*. 2002;76:9124-34.
4. Heegaard ED, Brown KE. Human parvovirus B19. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:485-505.
5. Vyse AJ, Andrews NJ, Hesketh LM, Pebody R. The burden of parvovirus B19 infection in women of childbearing age in England and Wales. *Epidemiol Infect*. 2007;135:1354-62.
6. Röhrer C, Gärtner B, Sauerbrei A, et al. Seroprevalence of parvovirus B19 in the German population. *Epidemiol Infect*. 2008;136:1564-75.
7. Valentin MN, Cohen PJ. Pediatric parvovirus B19: spectrum of clinical manifestations. *Cutis*. 2013;92:179-84.
8. Young NS, Brown KE. Parvovirus B19. *N Engl J Med*. 2004;350:586-97.
9. Oiwa H, Shimada T, Hashimoto M, et al. Clinical findings in parvovirus B19 infection in 30 adult patients in Kyoto. *Mod Rheumatol*. 2011;21:24-31.
10. Waza K, Inoue K, Matsumura S. Symptoms associated with parvovirus B19 infection in adults: a pilot study. *Intern Med*. 2007;46:1975-8.
11. Lassen J, Jensen AK, Bager P, et al. Parvovirus B19 infection in the first trimester of pregnancy and risk of fetal loss: a population-based case-control study. *Am J Epidemiol*. 2012;176:803-7.
12. Lamont RF, Sobel JD, Vaisbuch E, et al. Parvovirus B19 infection in human pregnancy. *BJOG*. 2011;118:175-86.
13. Sarfraz AA, Samuelsen SO, Bruu AL, Jennum PA, Eskild A. Maternal human parvovirus B19 infection and the risk of fetal death and low birthweight: a case-control study within 35 940 pregnant women. *BJOG*. 2009;116:1492-8.
14. Kleinman SH, Glynn SA, Lee TH, et al. Prevalence and quantitation of parvovirus B19 DNA levels in blood donors with a sensitive polymerase chain reaction screening assay. *Transfusion*. 2007;47:1756-64.
15. Thomas I, Di Giambattista M, Gérard C, et al. Prevalence of human erythrovirus B19 DNA in healthy Belgian blood donors and correlation with specific antibodies against structural and non-structural viral proteins. *Vox Sang*. 2003;84:300-7.
16. Candotti D, Etiz N, Parsyan A, Allain JP. Identification and characterization of persistent human erythrovirus infection in blood donor samples. *J Virol*. 2004;78:12169-78.
17. Plentz A, Hahn J, Knöll A, et al. Exposure of hematologic patients to parvovirus B19 as a contaminant of blood cell preparations and blood products. *Transfusion*. 2005;45:1811-5.

18. Lee TH, Kleinman SH, Wen L, et al. Distribution of parvovirus B19 DNA in blood compartments and persistence of virus in blood donors. *Transfusion*. 2011;51:1896-908.
19. Koppelman MH, Cuypers HT, Emrich T, Zaaier HL. Quantitative real-time detection of parvovirus B19 DNA in plasma. *Transfusion*. 2004;44:97-103.
20. Kleinman SH, Glynn SA, Lee TH, et al. A linked donor-recipient study to evaluate parvovirus B19 transmission by blood component transfusion. *Blood*. 2009;114:3677-83.
21. Wu C-G, Mason B, Jong J, et al. Parvovirus B19 transmission by a high-purity factor VIII concentrate. *Transfusion*. 2005;45:1003-10.
22. Saldanha J, Minor P. Detection of human parvovirus B19 DNA in plasma pools and blood products derived from these pools: implications for efficiency and consistency of removal of B19 DNA during manufacture. *Br J Haematol*. 1996;93:714-9.
23. Eis-Hübinger AM, Sasowski U, Brackmann HH, et al. Parvovirus B19 DNA is frequently present in recombinant coagulation factor VIII products. *Thromb Haemost*. 1996;76:1120.
24. Schmidt I, Blümel J, Seitz H, Willkommen H, Löwer J. Parvovirus B19 DNA in plasma pools and plasma derivatives. *Vox Sang*. 2001;81:228-35.
25. Mortimer PP, Luban NL, Kelleher JF, Cohen BJ. Transmission of serum parvovirus-like virus by clotting-factor concentrates. *Lancet*. 1983;2:482-4.
26. Azzi A, Ciappi S, Zakvrzewska K, et al. Human parvovirus B19 infection in hemophiliacs first infused with two high-purity, virally attenuated factor VIII concentrates. *Am J Hematol*. 1992;39:228-30.
27. Blümel J, Schmidt I, Effenberger W, et al. Parvovirus B19 transmission by heat-treated clotting factor concentrates. *Transfusion*. 2002;42:1473-81.
28. Koenigbauer UF, Eastlund T, Day JW. Clinical illness due to parvovirus B19 infection after infusion of solvent/detergent-treated pooled plasma. *Transfusion*. 2000;40:1203-6.
29. Santagostino E, Mannucci PM, Gringeri A, et al. Transmission of parvovirus B19 by coagulation factor concentrates exposed to 100 degrees C heat after lyophilization. *Transfusion*. 1997;37:517-22.
30. Geng Y, Wu CG, Bhattacharyya SP, et al. Parvovirus B19 DNA in Factor VIII concentrates: effects of manufacturing procedures and B19 screening by nucleic acid testing. *Transfusion*. 2007;47:883-9.
31. Martin A, Lemon SM. Hepatitis A virus: from discovery to vaccines. *Hepatology*. 2006;43:S164-72.
32. Matheny SC, Kingery JE. Hepatitis A. *Am Fam Physician*. 2012;86:1027-34.
33. Keefe EB. Hepatitis A and B superimposed on chronic liver disease: vaccine-preventable diseases. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2006;117:227-37.
34. Vaughan G, Goncalves Rossi LM, Forbi JC, et al. Hepatitis A virus: host interactions, molecular epidemiology and evolution. *Infect Genet Evol*. 2014;21:227-43.

35. Perkins HA, Busch MP. Transfusion-associated infections: 50 years of relentless challenges and remarkable progress. *Transfusion*. 2010;50:2080-99.
36. Gowland P, Fontana S, Niederhauser C, Taleghani BM. Molecular and serologic tracing of a transfusion-transmitted hepatitis A virus. *Transfusion*. 2004;44:1555-61.
37. Diwan AH, Stubbs JR, Carnahan GE. Transmission of hepatitis A via WBC-reduced RBCs and FFP from a single donation. *Transfusion*. 2003;43:536-40.
38. Normann A, Jung C, Vallbracht A, Flehmig B. Time course of hepatitis A viremia and viral load in the blood of human hepatitis A patients. *J Med Virol*. 2004;72:10-6.
39. Soucie JM, Robertson BH, Bell BP, McCaustland KA, Evatt BL. Hepatitis A virus infections associated with clotting factor concentrate in the United States. *Transfusion*. 1998;38:573-9.
40. Chudy M, Budek I, Keller-Stanislawski B, et al. A new cluster of hepatitis A infection in hemophiliacs traced to a contaminated plasma pool. *J Med Virol*. 1999;57:91-9.
41. Kishore J, Sen M. Parvovirus B19-induced thrombocytopenia and anemia in a child with fatal fulminant hepatic failure coinfecting with hepatitis A and E viruses. *J Trop Pediatr*. 2009;55:335-7.
42. Ozçay F, Bikmaz YE, Canan O, Ozbek N. Hepatitis A and parvovirus B19 infections in an infant with fulminant hepatic failure. *Turk J Gastroenterol*. 2006;17:148-50.
43. Dwivedi M, Manocha H, Tiwari S, Tripathi G, Dhole TN. Coinfection of parvovirus b19 with other hepatitis viruses leading to fulminant hepatitis of unfavorable outcome in children. *Pediatr Infect Dis J*. 2009;28:649-50.
44. Hughes JA, Fontaine MJ, Gonzalez CL, et al. Case report of a transfusion-associated hepatitis A infection. *Transfusion*. 2014;54:2202-6.
45. Jones S, Leighton K, Chapa J, et al. Prevalence of hepatitis A virus (HAV) and high-titer parvovirus B19 in recovered and source plasma donations. Poster SP395 presented at: ABB Annual Meeting and CTTXPO; 2013 October 12-15; Denver, CO. *Transfusion*. 2013;53(Suppl 2):211A.
46. Müller MM, Fraile MI, Hourfar MK, et al. Evaluation of two, commercial, multi-dye, nucleic acid amplification technology tests, for HBV/HCV/HIV-1/HIV-2 and B19V/HAV, for screening blood and plasma for further manufacture. *Vox Sang*. 2013;104:19-29.
47. U.S. Food and Drug Administration. Guidance for industry: nucleic acid testing (NAT) to reduce the possible risk of human parvovirus B19 transmission by plasma-derived products. Updated July 2009; Accessed: 09 September 2022. <https://www.fda.gov/files/vaccines%2C%20blood%20%26%20biologics/published/Guidance-for-Industry---Nucleic-Acid-Testing--to-Reduce-the-Possible-Risk-of-Parvovirus-B19-Transmission-by-Plasma-Derived-Products.pdf>.
48. Council of Europe. Human anti-D immunoglobulin (monograph 0557) (since 1/1/2004); Human anti-D immunoglobulin for intravenous administration (monograph 1527) (since 1/1/2004); Human plasma pooled and treated for virus inactivation (monograph 1646) (since 1/7/2004). In: *European Pharmacopoeia*. 6th Edition. Strasbourg, France: Council of Europe; 2011.

49. Council of Europe. Human plasma pooled and treated for virus inactivation (monograph 1646) (since 1/2011). In: *European Pharmacopoeia*. 6th Edition. Supplement 6.3. Strasbourg, France: Council of Europe; 2011.
50. 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.
51. 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.
52. 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.
53. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7.
54. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
55. Chosewood LC, Wilson DE, eds. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. US Department of Health and Human Services; 2009.
56. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*. 4th ed. M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2014.

Dokumentversion

Dokumentversionsübersicht	
Doc Rev. 2.0 12/2024	Im gesamten Dokument wurde an entsprechenden Stellen das cobas® 5800 Instrument hinzugefügt. Im gesamten Dokument wurden die Markenbezeichnungen und Registrierungsinformationen aktualisiert. Der Abschnitt Testprinzipien wurde aktualisiert. Der Abschnitt Handhabung der Reagenzien für das cobas® 5800 System wurde hinzugefügt. Der Abschnitt Zusätzlich benötigte Materialien für das cobas® 5800 System wurde hinzugefügt. Der Abschnitt Benötigte Geräte und Software wurde aktualisiert. Der Abschnitt Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung wurde aktualisiert. Der Abschnitt Gebrauchsanweisung wurde aktualisiert. Der Abschnitt Ergebnisse wurde aktualisiert und der Abschnitt Systemäquivalenz und -vergleich wurde hinzugefügt. Das Symbol „Rx Only“ wurde von der Titelseite entfernt. Die Symbolbezeichnungen auf der Symbolseite wurden im Zuge der Harmonisierung aktualisiert. Bei Fragen wenden Sie sich bitte an den Kundendienst von Roche Diagnostics vor Ort.

Unter dem folgenden Link finden Sie eine Zusammenfassung des Berichts zu Sicherheit und Leistung:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>