

cobas[®] EBV

Test pentru detectarea cantitativă a acizilor nucleici pentru utilizare cu sistemele cobas[®] 5800/6800/8800

Destinat diagnosticării *in vitro*

cobas[®] EBV

P/N: 09040943190

Pentru utilizare cu sistemul cobas[®] 5800

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

Pentru utilizare cu sistemele cobas[®] 6800/8800

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 08688214190 sau
P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190 sau
P/N: 09051953190

Cuprins

Domeniu de utilizare	4
Rezumatul și explicarea testului.....	4
Reactivi și materiale	7
Reactivi și controale cobas® EBV.....	7
Reactivi cobas® omni pentru prepararea probei.....	10
Condiții de stocare a reactivilor	11
Condiții de manipulare a reactivilor pentru sistemul cobas® 5800 sau sistemele cobas® 6800/8800.....	11
Materiale suplimentare necesare pentru sistemele cobas® 5800/6800/8800.....	12
Aparatură și aplicații software necesare	13
Precauții și exigențe de manipulare	14
Avertizări și precauții.....	14
Manipularea reactivilor	15
Bunele practici de laborator	15
Recoltarea, transportarea și păstrarea probelor	16
Probele	16
Instrucțiuni de utilizare.....	17
Note referitoare la procedură	17
Procesarea testului cobas® EBV pe sistemele cobas® 5800/6800/8800	17
Rezultate	20
Controlul calității și validitatea rezultatelor pe sistemul cobas® 5800 și pe sistemele cobas® 6800/8800 cu versiune software 2.0 sau ulterioară.....	20
Controlul calității și validitatea rezultatelor pe sistemele cobas® 6800/8800 cu versiune software 1.4.....	20
Marcajele controalelor pe sistemele cobas® 6800/8800 cu versiune software 1.4.....	21
Interpretarea rezultatelor pentru sistemele cobas® 5800/6800/8800	21
Interpretarea rezultatelor pe sistemul cobas® 5800 și sistemele cobas® 6800/8800 cu versiune software 2.0 sau ulterioară	22
Interpretarea rezultatelor pe sistemele cobas® 6800/8800 cu versiune software 1.4.....	22

Limitări procedurale	22
Evaluarea performanței non-clinice	23
Echivalența sistemelor	23
Caracteristici de performanță cheie.....	23
Limita de detecție (LoD).....	23
Interval liniar.....	24
Precizia — în cadrul laboratorului	25
Verificarea genotipului	26
Specificitate.....	26
Specificitate analitică	26
Specificitatea analitică — substanțe care interferează.....	27
Corelarea metodei.....	28
Eșec la nivelul întregului sistem.....	29
Contaminare încrucișată.....	29
Evaluarea performanței clinice	29
Reproductibilitatea cobas® EBV	29
Performanța cobas® EBV	30
Informații suplimentare	33
Componente de testare cheie.....	33
Simboluri	34
Asistență tehnică	35
Producător și importator.....	35
Mărci comerciale și brevete.....	35
Copyright.....	35
Referințe	36
Versiune document.....	37

Domeniu de utilizare

cobas® EBV este un test *in vitro* de amplificare a acidului nucleic pentru detectarea cantitativă a ADN-ului virusului Epstein-Barr (EBV) în plasma EDTA umană cu ajutorul sistemelor **cobas® 5800/6800/8800**.

cobas® EBV este destinat folosirii ca ajutor în diagnosticarea și gestionarea pacienților cu EBV care au suferit un transplant. La pacienții cu monitorizare continuă a EBV, pot să fie folosite măsurări în serie ale ADN-ului pentru a indica necesitatea potențialelor modificări ale tratamentului și pentru a evalua răspunsul viral la tratament.

Rezultatele provenite de la **cobas® EBV** trebuie să fie interpretate în contextul tuturor constatărilor relevante clinice și de laborator.

Rezumatul și explicarea testului

Informații de bază

Beneficiarii transplantului prezintă un risc crescut de a dezvolta numeroase infecții virale și bacteriene care foarte probabil vor genera efecte adverse privind starea de sănătate la populația de pacienții cu transplant în comparație cu populația sănătoasă generală. Acest risc crescut este atribuit parțial funcției diminuate a sistemului imunitar, cauzată de medicamentele imunosupresoare pe care pacienții cu transplant le primesc pentru a reduce probabilitatea de respingere a grefei.^{1,2}

EBV este un membru al familiei de virusuri herpetice. Este un virus cu acid dezoxiribonucleic (ADN) bicatenar în capsidă (~172 kb). Au fost definite două genotipuri principale de EBV, tipul 1 și tipul 2, în baza diferențelor genei EBNA-2. Infecțiile cu EBV la oameni sunt destul de frecvente; peste 90% dintre adulți sunt infectați, iar infecțiile latente persistă în timp. EBV cauzează mononucleoză infecțioasă într-un subset de adolescenți și adulți nou infectați și este asociată cu mai multe tipuri de cancer, inclusiv carcinom nazofaringian, limfom Burkitt și limfom Hodgkin. EBV poate că cauzeze boli limfoproliferative la persoanele cu imunodeficiență congenitală sau dobândită, inclusiv la beneficiarii de transplant și la pacienții cu virusul imunodeficienței umane/sindromul imunodeficienței dobândite (HIV/SIDA).³

În cazul beneficiarilor de transplant, EBV poate să cauzeze boli fie prin reactivarea virusului latent din limfocitele B de memorie, fie printr-o nouă infecție primară, în special la beneficiarii de transplant negativi la EBV care primesc grefe de la donatori pozitivi la EBV.³ Pentru acești pacienți, cea mai gravă boală legată de EBV este boala limfoproliferativă post-transplant (PTLD) care rezultă din proliferarea necontrolată a limfocitelor, de obicei limfocite B.⁴ În general, > 70% dintre cazurile de PTLD din rândul beneficiarilor de transplant sunt asociate unei infecții cu EBV. Cel mai mare risc de PTLD apare în primul an de la transplant și > 90% dintre cazurile de PTLD care apar în această perioadă sunt asociate EBV. Până la 20% dintre cazurile de PTLD care apar în primul an după transplant apar la pacienții negativi la EBV.^{4,5}

Printre factorii de risc pentru debutul timpuriu al PTLD se numără serostatusul negativ la EBV la transplant, vârsta mai mică, expunerea la anticorpii de depleție a limfocitelor și tipul de organ transplantat.^{5,6}

Identificarea timpurie a infecțiilor primare cu EBV și monitorizarea nivelului de ADN poate să susțină intervenția terapeutică promptă pentru a preveni evoluția către o boală legată de EBV. Orientările recomandă monitorizarea periodică a EBV folosind teste pentru detectarea cantitativă a acizilor nucleici (NAT), în special la beneficiarii de transplant care sunt negativi la EBV, la pacienții cu transplant cu risc ridicat.^{4,5} În timp ce pragul viral exact relevant din punct de vedere medical este încă subiect de dezbateri din cauza variabilității între analize, conceptul de prag critic pare valid și a fost

raportat în studii privind istoricul natural care arată corelația dintre nivelurile de ADN EBV mai mari și riscul crescut de dezvoltare a bolii EBV și a PTLD.^{4,5,7} Pentru testarea EBV, s-au folosit atât probe de plasmă, cât și probe de sânge integral, dar dovezile sugerează că plasma este mai specifică pentru detectarea PTLD.^{4,5,7,8}

Intervențiile terapeutice obișnuite pentru reducerea nivelurilor de ADN EBV și prevenirea debutului PTLD includ reducerea dozelor de medicamente imunosupresoare și tratamentul cu anticorpi de depleție a limfocitelor B.⁷ Terapia preventivă de reducere a nivelurilor de ADN EBV reușește la majoritatea pacienților, deși până la 20% dintre pacienți pot încă să dezvolte PTLD, în special cei care au peste un an post-transplant.⁷

Cele mai multe teste de laborator pentru detectarea cantitativă a EBV nu sunt standardizate, ceea ce a condus la variabilitatea, între laboratoare și între analize, a rezultatelor nivelului de ADN și exclude compararea nivelurilor de ADN generate de diferite laboratoare și teste.⁷ Pentru a aborda această problemă, OMS a creat standardul internațional pentru detectarea cantitativă a EBV, ceea ce a permis raportarea testelor standardizate în UI/ml.⁹ Evaluarea formală a reproductibilității și validității nivelurilor de ADN EBV este esențială pentru a asigura rezultate uniforme ale laboratoarelor, pentru a îmbunătăți gestionarea clinică a pacienților cu risc crescut de apariție a unor boli legate de EBV și a PTLD.

Motivul pentru testarea NAT

Serologiile EBV ale donatorului și beneficiarului sunt stabilite înainte de transplant pentru a ajuta la stabilirea riscului pentru un pacient cu transplant de complicații asociate EBV, dar acestea nu sunt suficient de sensibile sau precise pentru a monitoriza pacienții după transplant. Metodele de cultură pentru EBV sunt lente și au o valoare predictivă redusă în acest context. Detectarea directă a ADN EBV prin PCR în timp real oferă în mod potențial un interval dinamic vast, precizie, înaltă sensibilitate și specificitate.

Explicarea testului

cobas® EBV este un test cantitativ care este procesat pe sistemele **cobas®** 5800/6800/8800. **cobas®** EBV permite detectarea și determinarea cantitativă a ADN-ului EBV în plasma EDTA a pacienților infectați. Încărcătura virală este determinată cantitativ față de un standard de determinare cantitativă a ADN non-EBV (DNA-QS) care este introdus în fiecare probă în timpul prelucrării probei. DNA-QS funcționează și pentru a monitoriza întregul proces de pregătire a probei și amplificare PCR. Testul utilizează, de asemenea, trei controale externe: un control pozitiv cu titru ridicat, un control pozitiv cu titru scăzut și un control negativ. Controalele externe pozitive cu titru ridicat și cu titru scăzut sunt realizate prin diluarea materialului inițial cu un titru a cărui trasabilitate este posibilă conform primului standard internațional al OMS pentru EBV (cod NIBSC: 09/260). Fiecare lot de kituri de amplificare/detectare este calibrat pentru ca trasabilitatea sa să fie posibilă conform primului standard internațional al OMS pentru EBV (cod NIBSC: 09/260).

Principiile procedurii

Procedura **cobas**® EBV se bazează pe o preparare complet automatizată a probelor (extracția și purificarea acidului nucleic), urmată de amplificare și detectare PCR. Sistemul **cobas**® 5800 este conceput ca instrument unic integrat. Sistemele **cobas**® 6800/8800 sunt alcătuite dintr-un modul de alimentare cu probe, un modul de transfer, un modul de procesare și un modul analitic. Gestionarea automată a datelor este efectuată de aplicația software a sistemului **cobas**® 5800 sau **cobas**® 6800/8800 care alocă rezultate ale testului pentru toate testele fie ca țintă nedetectată, ADN EBV detectat < LLoQ (limita inferioară de cuantificare), ADN EBV detectat > ULoQ (limita superioară de cuantificare), fie ca o valoare din intervalul liniar $LLoQ < x < ULoQ$. Rezultatele pot fi consultate direct pe ecranul sistemului, pot fi exportate sau pot fi imprimate sub formă de raport.

Acidul nucleic din probele pacienților și moleculele DNA-QS lambda adăugate sunt extrase simultan. Pe scurt, acidul nucleic viral este eliberat prin adăugarea proteinazei și a reactivului de lizare la probă. Acidul nucleic eliberat se leagă de suprafața de dioxid de siliciu a particulelor de sticlă magnetice adăugate. Substanțele nelegate și impuritățile, precum proteinele denaturate, reziduurile celulare și potențialii inhibitori PCR sunt îndepărtate în etapele ulterioare cu reactiv de spălare, iar acidul nucleic purificat este eluat din particulele de sticlă cu soluție tampon de eluție la temperaturi ridicate.

Amplificarea selectivă a acidului nucleic țintă din probă este obținută prin folosirea abordării specifice a virusului cu țintă dublă din regiunile foarte bine conservate ale EBV aflate în gena EBNA-1 a EBV și gena BMRF a EBV. Amplificarea selectivă a DNA-QS este realizată prin utilizarea de primeri sens și antisens specifici secvenței care sunt selectați să nu prezinte omologie cu genomul EBV. Pentru amplificare, se utilizează o enzimă ADN polimerază termostabilă. Secvențele țintă și DNA-QS sunt amplificate simultan utilizând un profil de amplificare PCR universal cu pași de temperatură predefiniți și număr de cicluri predefinit. Reactivul master mix include deoxiuridină trifosfat (dUTP), în loc de deoxitimidină trifosfat (dTTP), încorporată în ADN-ul nou-sintetizat (amplicon).¹⁰⁻¹² Orice amplicon contaminant din ciclurile PCR anterioare este distrus de enzima AmpErase, inclusă în mixul PCR, în timpul încălzirii din prima etapă termică a ciclului. Cu toate acestea, ampliconul nou-format nu este eliminat, deoarece enzima AmpErase este inactivată în urma expunerii la temperaturi de peste 55 °C.

Master mixul **cobas**® EBV conține două sonde de detecție specifice secvențelor țintă EBV și una pentru DNA-QS. Sondele sunt marcate cu coloranți raportor fluorescenți specifici țintei care permit detectarea simultană a țintei EBV și a DNA-QS în două canale țintă diferite.^{13, 14} Semnalul fluorescent al sondelor intacte este suprimat de colorantul de anihilare. În timpul etapei de amplificare PCR, hibridizarea sondei la șabloanele ADN monocatenar specifice duce la scindare prin activitatea 5'-3' nucleazică a ADN-polimerazei, ceea ce contribuie la separarea colorantului raportor de colorantul de anihilare și la generarea unui semnal fluorescent. În urma fiecărui ciclu PCR, se amplifică în paralel numărul tot mai mare de sonde scindate și semnalul cumulativ al colorantului raportor. Detectarea și diferențierea în timp real a produselor PCR se realizează prin măsurarea fluorescenței coloranților raportor eliberați pentru țintele virale și DNA-QS.

Reactivi și materiale

Reactivi și controale cobas® EBV

Materialele furnizate pentru cobas® EBV se regăsesc în Tabelul 1. Materiale necesare, dar nefurnizate se regăsesc în Tabelul 2 – Tabelul 4 și Tabelul 8 – Tabelul 9.

Reactivii și controalele sigilate se păstrează conform recomandărilor din Tabelul 1 și Tabelul 4.

Tabelul 1 cobas® EBV

cobas® EBV

A se păstra la 2–8 °C

casetă cu 192 de teste (P/N 09040943190)

Componente kit	Ingrediente reactiv	Cantitate per kit 192 de teste
Soluție proteinază (PASE)	Soluție tampon Tris, < 0,05% EDTA, clorură de calciu, acetat de calciu, 8% proteinază, glicerol EUH210: Fișa cu date de securitate disponibilă la cerere. EUH208: Conține subtilizină din <i>Bacillus subtilis</i> . Poate provoca o reacție alergică.	22,3 ml
Standard de cuantificare a ADN-ului (DNA QS)	Soluție tampon Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% construcție ADN non-EBV care conține o regiune de legare a primerului non-EBV și a sondei unice (ADN neinfecțios), < 0,002% ARN poli rA (sintetic), < 0,1% azidă de sodiu	21,2 ml
Soluție tampon de eluție (EB)	Tampon Tris, 0,2% metil-4 hidroxibenzoat	21,2 ml
Reactiv Master Mix 1 (MMX-R1)	Acetat de mangan, hidroxid de potasiu, < 0,1% azidă de sodiu	7,5 ml
Master mix EBV Reactiv 2 (EBV MMX-R2)	Soluție tampon tricină, acetat de potasiu, < 18% dimetil sulfoxid, glicerol, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% primeri în amonte și aval EBV, < 0,01% primeri sens și antisens ai standardului de cuantificare, < 0,01% sonde oligonucleotidice marcate fluorescent specifice pentru EBV și standardul de cuantificare EBV, < 0,01% aptamer oligonucleotidă, < 0,01% ADN polimerază Z05D, < 0,10% enzimă AmpErase (uracil-N-glicozilază) (microbiană), < 0,1% azidă de sodiu	9,7 ml

Tabelul 2 cobas® EBV/BKV Control Kit**cobas® EBV/BKV Control Kit**

A se păstra la 2–8 °C

Pentru utilizare cu sistemul **cobas®** 5800 și cu sistemele **cobas®** 6800/8800 cu versiune software 2.0 sau ulterioară (P/N 09040951190)Pentru utilizare cu sistemele **cobas®** 6800/8800 cu versiune software 1.4 (P/N 08688214190 sau P/N 09040951190)

Componente kit	Ingrediente reactiv	Cantitate per kit	Simbol de siguranță și avertizare*
EBV/BKV Control pozitiv reduc (EBV/BKV L(+))C)	< 0,001% ADN EBV sintetic (plasmidă) încapsulat în proteină capsidă bacteriofagă lambda, plasmă umană normală, ADN EBV nedetectabil prin metode PCR < 0,1% conservant ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  AVERTISMENT H317: Poate provoca o reacție alergică a pielii. H412: Nociv pentru viața acvatică, cu efecte pe termen lung. P261: Evitați să inspirați praful/fumul/gazul/ceața/vaporii/spray-ul. P273: Evitați dispersarea în mediu. P280: A se purta mănuși de protecție. P333 + P313: În caz de iritare a pielii sau de erupție cutanată: Consultați medicul. P362 + P364: Scoateți îmbrăcămintea contaminată și spălați-o înainte de reutilizare. P501: Eliminați conținutul/recipientul într-o unitate autorizată de colectare a deșeurilor. 55965-84-9 Masă de reacție a: 5-cloro-2-metil-4-izotiazolină-3-onă și 2-metil-2H-izotiazol-3-onă (3:1).
EBV/BKV Control pozitiv ridicat (EBV/BKV H(+))C)	< 0,001% ADN EBV sintetic (plasmidă) încapsulat în proteină capsidă bacteriofagă lambda, plasmă umană normală, ADN EBV nedetectabil prin metode PCR < 0,1% conservant ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  AVERTISMENT H317: Poate provoca o reacție alergică a pielii. H412: Nociv pentru viața acvatică, cu efecte pe termen lung. P261: Evitați să inspirați praful/fumul/gazul/ceața/vaporii/spray-ul. P273: Evitați dispersarea în mediu. P280: A se purta mănuși de protecție. P333 + P313: În caz de iritare a pielii sau de erupție cutanată: Consultați medicul. P362 + P364: Scoateți îmbrăcămintea contaminată și spălați-o înainte de reutilizare. P501: Eliminați conținutul/recipientul într-o unitate autorizată de colectare a deșeurilor. 55965-84-9 Masă de reacție a: 5-cloro-2-metil-4-izotiazolină-3-onă și 2-metil-2H-izotiazol-3-onă (3:1).

* Eticheta de siguranță a produsului respectă în primul rând ghidul UE GHS.

** Substanță periculoasă sau amestec periculos.

Tabelul 3 cobas® Buffer Negative Control Kit**cobas® Buffer Negative Control Kit**

A se păstra la 2–8 °C

Pentru utilizare cu sistemul cobas® 5800 și cu sistemele cobas® 6800/8800 cu versiune software 2.0 sau ulterioară (P/N 09051953190)

Pentru utilizare cu sistemele cobas® 6800/8800 cu versiune software 1.4 (P/N 07002238190 sau P/N 09051953190)

Componente kit	Ingrediente reactiv	Cantitate per kit
cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)	Tampon Tris, <0,1% azidă de sodiu, EDTA, 0,002% Poli rA ARN (sintetic)	16 ml (16 × 1 ml)

Reactivi cobas® omni pentru prepararea probei

Tabelul 4 Reactivii cobas® omni pentru prepararea probei

Reactivi	Ingrediente reactiv	Cantitate per kit	Simbol de siguranță și avertizare*
cobas® omni MGP Reagent (MGP) A se păstra la 2–8 °C (P/N 06997546190)	Particule de sticlă magnetice, tampon Tris, 0,1% metil-4 hidroxibenzoat, < 0,1% azidă de sodiu	480 de teste	Nu se aplică
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) A se păstra la 2–8 °C (P/N 06997511190)	Tampon Tris, 0,1% metil-4 hidroxibenzoat, < 0,1% azidă de sodiu	4 × 875 ml	Nu se aplică
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) A se păstra la 2–8 °C (P/N 06997538190)	43% (m/m) guanidină-tiocianat**, 5% (m/v) polidocanol**, 2% (m/v) ditiotreititol**, citrat de sodiu dihidrat	4 × 875 ml	 PERICOL H302 + H332: Nociv în caz de înghițire sau inhalare. H314: Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor. H411: Toxic pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. EUH032: În contact cu acizi, degajă un gaz foarte toxic. P273: Evitați dispersarea în mediu. P280: A se purta mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/echipament de protecție a feței/protecție a auzului. P303 + P361 + P353: ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA (sau părul): Scoateți imediat toată îmbrăcăminte contaminată. Clătiți pielea cu apă. P304 + P340 + P310: ÎN CAZ DE INHALARE: Transportați persoana la aer liber și mențineți-o într-o poziție confortabilă pentru respirație. Sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ/un medic. P305 + P351 + P338 + P310: ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: Clătiți cu atenție cu apă timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți. Sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ/un medic. P391: Colectați scurgerile de produs. 593-84-0 Guanidină tiocianat 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutan-2,3-diol
cobas® omni Wash Reagent (WASH) A se păstra la 15–30 °C (P/N 06997503190)	Citrat de sodiu dihidrat, 0,1% metil-4 hidroxibenzoat	4,2 l	Nu se aplică

* Eticheta de siguranță a produsului respectă în primul rând ghidul UE GHS.

** Substanță periculoasă sau amestec periculos.

Condiții de stocare a reactivilor

Reactivii se păstrează și se manipulează conform specificațiilor din Tabelul 5, Tabelul 6 și Tabelul 7.

Când reactivii nu sunt încărcăți în sistemul **cobas® 5800** sau în sistemele **cobas® 6800/8800**, păstrați-i la temperatura corespunzătoare specificată în Tabelul 5.

Tabelul 5 Stocarea reactivilor (când reactivul nu este în sistem)

Reactiv	Temperatura de păstrare
cobas® EBV	2–8 °C
cobas® EBV/BKV Control Kit	2–8 °C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2–8 °C
cobas® omni Lysis Reagent	2–8 °C
cobas® omni MGP Reagent	2–8 °C
cobas® omni Specimen Diluent	2–8 °C
cobas® omni Wash Reagent	15–30 °C

Condiții de manipulare a reactivilor pentru sistemul **cobas® 5800** sau sistemele **cobas® 6800/8800**

Reactivii încărcăți în sistemul **cobas® 5800** sau în sistemele **cobas® 6800/8800** sunt păstrați la temperaturi corespunzătoare, iar expirarea acestora este monitorizată și impusă de sistem. Sistemul permite ca reactivii să fie utilizați doar dacă sunt îndeplinite toate condițiile de manipulare a reactivilor menționate în Tabelul 6, Tabelul 7 și Tabelul 8. Sistemul împiedică în mod automat utilizarea reactivilor expirați. Informațiile privind stabilitatea rămasă a kitului desigilat și numărul de utilizări ale kitului, pentru reactivii specifici analizei, pot fi accesate prin intermediul interfeței cu utilizatorul a sistemului.

Tabelul 6 Condiții de expirare a reactivilor monitorizate și impuse de sistemul **cobas® 5800**

Reactiv	Stabilitatea kitului desigilat	Numărul de utilizări ale kitului	Stabilitatea în aparat
cobas® EBV	90 de zile de la prima utilizare	40	36 de zile de la încărcare
cobas® EBV/BKV Control Kit	Flacon de unică folosință*	8	36 de zile de la încărcare
cobas® Buffer Negative Control Kit	Flacon de unică folosință	16	36 de zile de la încărcare

Tabelul 7 Condiții de expirare a reactivilor monitorizate și impuse de sistemele **cobas® 6800/8800**

Reactiv	Stabilitatea kitului desigilat	Numărul de utilizări ale kitului	Stabilitate la bord (în afara frigiderului)
cobas® EBV	90 de zile de la prima utilizare	40	40 de ore
cobas® EBV/BKV Control Kit	Flacon de unică folosință	8	8 de ore
cobas® Buffer Negative Control Kit	Flacon de unică folosință	16	10 de ore

Tabelul 8 prezintă stabilitatea kitului desigilat de reactivi **cobas® omni**. Înaintea fiecărei procesări, sistemul verifică stabilitatea kitului desigilat și asigură un volum de umplere suficient. Prin urmare, acești reactivi nu au alocate niciun număr de utilizări ale kitului și nicio stabilitate la bord.

Tabelul 8 Condiții de expirare a reactivilor **cobas® omni** monitorizate și impuse de sistemele **cobas® 5800/6800/8800**

Reactiv	Stabilitatea kitului desigilat
cobas® omni Lysis Reagent	30 de zile de la încărcare
cobas® omni MGP Reagent	30 de zile de la prima utilizare
cobas® omni Specimen Diluent	30 de zile de la încărcare
cobas® omni Wash Reagent	30 de zile de la încărcare

Materiale suplimentare necesare pentru sistemele **cobas® 5800/6800/8800**

Tabelul 9 Materiale de utilizat cu sistemele **cobas® 5800/6800/8800**

Materiale	P/N
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190

Tabelul 10 Consumabile de utilizat cu sistemul **cobas® 5800***

Materiale
cobas® omni Processing Plate 24
cobas® omni Liquid Waste Plate 24
cobas® omni Amplification Plate 24
Vârf CORE TIPS cu filtru, 1 ml
Vârf CORE TIPS cu filtru, 300 µl
cobas® omni Liquid Waste Container
Sac de deșeuri solide sau sac de deșeuri solide cu inserție
Suport în S pentru tuburi, cu 16 poziții, complet
Suport stativ cu 5 poziții

* Pentru numerele de componente, consultați Asistența pentru utilizatori a sistemului **cobas® 5800**

Tabelul 11 Consumabile de utilizat cu sistemele **cobas®** 6800/8800*

Materiale
cobas® omni Processing Plate
cobas® omni Amplification Plate
cobas® omni Pipette Tips
cobas® omni Liquid Waste Container
Sac de deșeuri solide și recipient pentru deșeuri solide sau sac de deșeuri solide cu inserție și sertar pentru kit

* Pentru numerele de componente, consultați Asistența pentru utilizatori a sistemelor **cobas®** 6800/8800

Aparatură și aplicații software necesare

Software-ul **cobas®** 5800, software-ul **cobas®** 6800/8800 și pachetul de analiză **cobas®** EBV (ASAP) pentru sistemele **cobas®** 5800/6800/8800 trebuie să fie instalate.

Pentru sistemul **cobas®** 5800 și sistemele **cobas®** 6800/8800 cu versiune software 2.0 sau ulterioară, software-ul x800 Data Manager și PC-ul (sau serverul) vor fi furnizate împreună cu sistemul.

Pentru sistemele **cobas®** 6800/8800 cu versiunea software 1.4, serverul Instrument Gateway (IG) va fi furnizat împreună cu sistemul.

Tabelul 12 Aparatură

Echipamente	P/N
Sistemul cobas® 5800	08707464001
Sistemul cobas® 6800	05524245001 și 09575154001
Sistemul cobas® 8800	05412722001 și 09575146001
Modulul de alimentare cu probe pentru sistemele cobas® 6800/8800	06301037001 și 09936882001

Consultați Asistența pentru utilizatori aferentă sistemului **cobas®** 5800 sau aferentă sistemelor **cobas®** 6800/8800 pentru informații suplimentare.

Notă: Contactați reprezentantul local Roche dacă doriți o listă detaliată de comandă cu tuburile pentru probe primare și secundare, rackurile pentru probe, rackurile pentru tuburi cu vârfuri coagulate și tăvile pentru rackuri compatibile cu aparatele.

Precauții și exigențe de manipulare

Avertizări și precauții

La fel ca în cazul oricărei proceduri a testului, bunele practici de laborator sunt esențiale pentru efectuarea corectă a acestui test. Datorită nivelului ridicat de sensibilitate al acestui test, trebuie avută grijă ca reactivii și amestecurile de amplificare să nu se contamineze.

- Destinat exclusiv utilizării pentru diagnosticare *in vitro*.
- **cobas® EBV** nu a fost evaluat în ceea ce privește folosirea ca test de screening pentru prezența EBV în sânge sau produse derivate din sânge.
- Toate probele de la pacienți trebuie tratate ca prezentând risc de contaminare, respectând bunele practici de laborator, așa cum este prevăzut de ghidul Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Biosiguranța în laboratoarele de microbiologie și biomedicale) și în Documentul CLSI M29-A4.^{15, 16} Această procedură trebuie efectuată doar de către personal cu experiență în manipularea materialelor infecțioase și în utilizarea sistemelor **cobas® EBV** și **cobas® 5800/6800/8800**.
- Toate materialele de proveniență umană trebuie considerate ca având potențial infecțios și trebuie manipulate conform procedurilor universale de precauție. Dacă se produc scurgeri, dezinfectați imediat folosind o soluție proaspăt preparată de sodiu sau hipoclorit de sodiu 0,5% în apă distilată sau deionizată sau respectați procedurile corespunzătoare impuse de instituție.
- **cobas® EBV/BKV Control Kit** conține plasmă derivată din sânge uman. Materialul sursă a fost testat prin metode PCR și a indicat urme acceptabile de niveluri reduse de ADN EBV. Nicio metodă de testare cunoscută nu poate să ofere asigurarea completă că produsele derivate din sânge uman nu transmit agenți infecțioși.
- **Nu congelați sânge integral sau orice probă stocată în tuburile primare.**
- Utilizați doar consumabile furnizate sau specificate pentru a asigura o funcționare optimă a testului.
- La cerere, reprezentantul local Roche poate furniza Fișa cu date de securitate (SDS).
- Respectați îndeaproape procedurile și ghidurile furnizate pentru a vă asigura că testul este efectuat corect. Orice deviere de la proceduri și ghiduri poate afecta funcționarea în condiții optime a testului.
- E posibil să se producă rezultate fals pozitive în cazul în care contaminarea încrucișată a probelor nu este controlată în mod corespunzător în timpul manipulării și procesării lor.
- Dacă lichidul care conține clorhidrat de guanidină este vărsat, curățați cu detergent de laborator adecvat și cu apă. Dacă se produce o scurgere de agenți cu potențial infecțios, **MAI ÎNTÂI** curățați zona afectată cu detergent de laborator și cu apă, apoi cu soluție de sodiu sau hipoclorit de potasiu 0,5%.
- Deoarece > 90% dintre adulți sunt purtători cronici de EBV care pot să producă până la 10⁸ copii EBV/ml în salivă și având în vedere înalta sensibilitate a analizei, este important să implementați măsuri adecvate de control al contaminării în laboratoare.¹⁷
- Informați autoritatea locală competentă și producătorul cu privire la incidentele grave rezultate în urma utilizării acestui test.

Manipularea reactivilor

- Manipulați toți reactivii, toate controalele și probele în conformitate cu bunele practici de laborator pentru a preveni contaminarea încrucișată a probelor și controalelor.
- Înainte de utilizare, inspectați vizual fiecare casetă de reactivi, diluant, reactiv de liză și de spălare pentru a vă asigura că nu există semne de scurgeri. Dacă observați semne de scurgeri, nu utilizați materialul în procedura de testare.
- **cobas® omni** Lysis Reagent conține guanidină tiocianat, o substanță cu potențial periculos. Evitați contactul dintre reactivi și piele, ochi, respectiv membranele mucoase. În cazul în care se produce un astfel de contact, spălați-vă cu apă din abundență, deoarece, în caz contrar, se pot produce arsuri.
- Kiturile de teste **cobas® EBV**, **cobas® omni** MGP Reagent și **cobas® omni** Specimen Diluent conțin azidă de sodiu cu rol de conservant. Evitați contactul dintre reactivi și piele, ochi, respectiv membranele mucoase. În cazul în care se produce un astfel de contact, spălați-vă cu apă din abundență, deoarece, în caz contrar, se pot produce arsuri. Dacă reactivii sunt vărsați, diluați cu apă înainte de a șterge cu o cârpă.
- Evitați contactul dintre **cobas® omni** Lysis Reagent, care conține guanidină tiocianat, și soluția de hipoclorit de sodiu sau potasiu. Amestecul poate degaja un gaz foarte toxic.
- Eliminați toate materialele care au intrat în contact cu probele și reactivii în conformitate cu reglementările naționale, regionale și locale.

Bunele practici de laborator

- Nu pipetați cu gura.
- Consumul de alimente, băuturi, precum și fumatul sunt interzise în spațiile de lucru desemnate.
- Purtați mănuși de laborator, halat de laborator și ochelari de protecție în timpul manipulării probelor și reactivilor. Mănușile trebuie să fie schimbate între manevrarea probelor și a kiturilor **cobas® EBV**, controlului pozitiv redus EBV/BKV (EBV/BKV L(+))C), controlului pozitiv ridicat EBV/BKV (EBV/BKV H(+))C), **cobas®** Buffer Negative Control (BUF (-)) C) și reactivilor **cobas® omni** pentru a preveni contaminarea. Evitați contaminarea mănușilor în timpul manipulării probelor și controalelor.
- Spălați-vă bine pe mâini după ce manipulați probele și reactivii kitului și după ce îndepărtați mănușile.
- Curățați și dezinfectați temeinic toate suprafețele de lucru din laborator cu o soluție proaspăt preparată de hipoclorit de sodiu sau potasiu 0,5% în apă distilată sau deionizată. În continuare, ștergeți suprafețele cu etanol 70%.
- Dacă se produc scurgeri pe instrumentul **cobas® 5800** sau **cobas® 6800/8800**, urmați instrucțiunile din Asistența pentru utilizatori aferentă sistemelor **cobas® 5800** sau **cobas® 6800/8800** pentru a curăța și a decontamina în mod corespunzător suprafața instrumentului (instrumentelor).

Recoltarea, transportarea și păstrarea probelor

Notă: Manipulați toate probele și controalele ca și cum ar putea transmite agenți infecțioși.

Depozitați toate probele la temperaturile specificate.

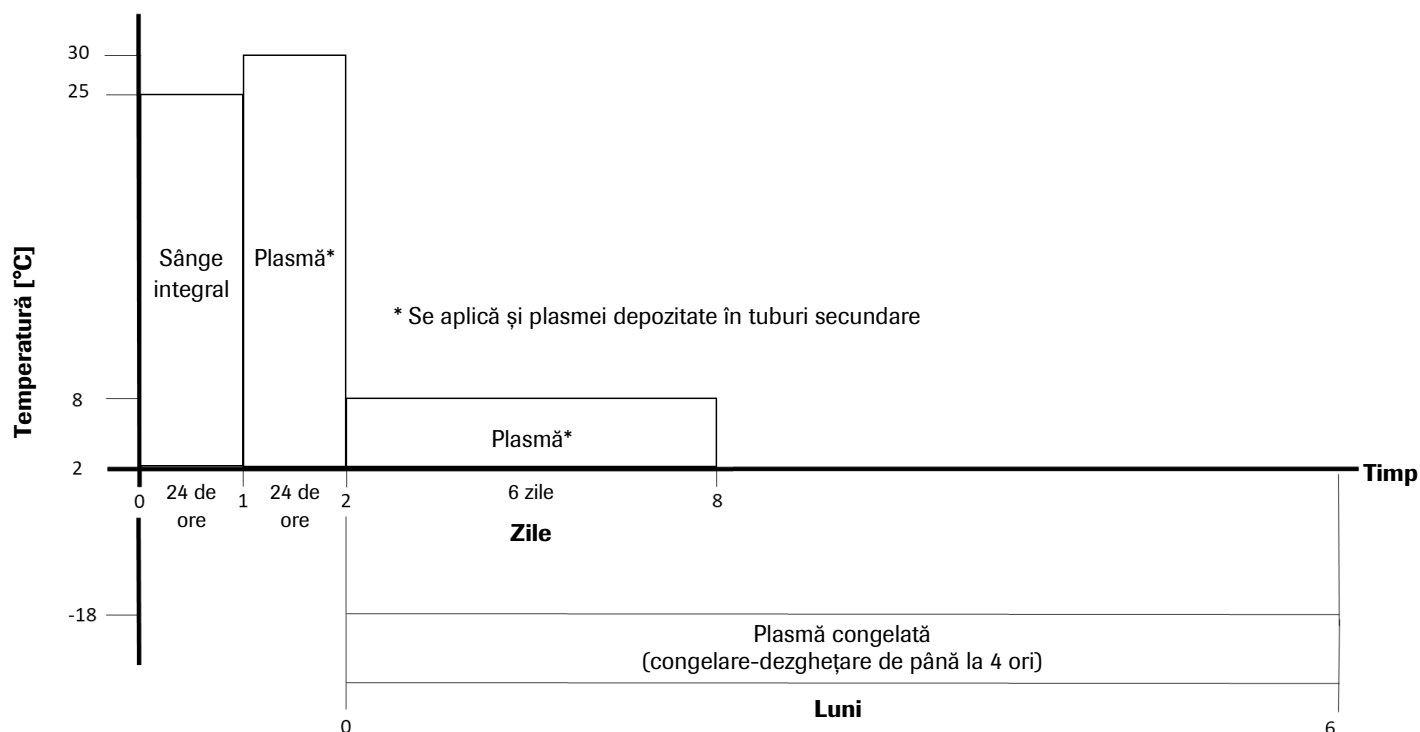
Stabilitatea probei este afectată de temperaturile ridicate.

La folosirea probelor congelate în tuburi secundare, lăsați probele la temperatura camerei (15–30 °C) până la decongelarea completă, apoi amestecați rapid (de exemplu, agitați în vortex timp de 3–5 secunde) și centrifugați pentru a colecta tot volumul probei din partea de jos a tubului.

După centrifugare, dacă există posibilitatea ca celulele să ajungă din nou în suspensie în plasmă, luați în calcul recentrifugarea înainte de procesarea aparatului.

Probele

- Sângele integral trebuie să fie recoltat în tuburi pentru prepararea plasmei BD Vacutainer® PPT™ pentru metodele de testare pentru diagnosticul molecular sau în tuburi sterile utilizând EDTA ca anticoagulant. Respectați instrucțiunile producătorului eprubetei de recoltare a probei. Consultați Figura 1.
- Sângele integral recoltat tuburile pentru prepararea plasmei BD Vacutainer® PPT™ pentru metodele de testare pentru diagnosticul molecular sau în tuburi sterile utilizând EDTA ca anticoagulant poate fi păstrat și/sau transportat timp de cel mult 24 de ore la 2–25 °C. Centrifugarea trebuie să fie efectuată în conformitate cu instrucțiunile producătorului.
- La separare, probele de plasmă pot să fie depozitate 24 de ore la 2–30 °C în tuburi primare sau secundare, urmată de:
 - Depozitarea în tuburi primare sau secundare până la 6 zile la 2–8 °C.
 - Depozitarea în tuburi secundare până la 6 luni la ≤ -18 °C.
- Probele de plasmă sunt stabile până la patru cicluri de înghețare/dezghețare atunci când sunt congelate la ≤ -18 °C.

Figura 1 Condițiile de depozitare a probelor

- Dacă probele trebuie să fie expediate, acestea ar trebui să fie ambalate și etichetate în conformitate cu regulile aplicabile naționale și/sau internaționale privind transportul probelor și agenților etiologici.

Instrucțiuni de utilizare

Note referitoare la procedură

- Nu utilizați reactivii **cobas® EBV**, **cobas® EBV/BKV Control Kit**, **cobas® Buffer Negative Control Kit** sau reactivii **cobas® omni** după datele lor respective de expirare.
- A nu se reutiliza consumabilele. Acestea sunt de unică folosință.
- Testul **cobas® EBV** poate să fie realizat cu un volum minim al probei de 350 µl din care sunt procesați 200 µl.

Procesarea testului **cobas® EBV** pe sistemele **cobas® 5800/6800/8800**

- Funcționarea instrumentului este descrisă în detaliu în Asistența pentru utilizatori aferentă sistemului **cobas® 5800** sau aferentă sistemelor **cobas® 6800/8800**.
- Consultați Asistența pentru utilizatori aferentă sistemului **cobas® 5800** sau cea aferentă sistemelor **cobas® 6800/8800** pentru întreținerea corespunzătoare a instrumentelor.
- Asigurați-vă că etichetele cu coduri de bare ale probelor de pe tuburile cu probe sunt vizibile prin deschiderile de pe partea laterală a rackurilor pentru probe RD5 sau MPA. Consultați Asistența pentru utilizatori aferentă sistemului **cobas® 5800** sau cea aferentă sistemelor **cobas® 6800/8800** pentru specificațiile adecvate privind codurile de bare și informații suplimentare despre încărcarea eprubetelor pentru probe.

Figura 2 Procedura de testare **cobas®** EBV pentru sistemul **cobas®** 5800

1	Conectați-vă la sistem
2	Încărcați probele în sistem: • Încărcați rackurile pentru probe în sistem • Sistemul le pregătește automat • Ordonăți testele
3	Reumpleți reactivii și consumabilele conform indicațiilor sistemului: • Încărcați caseta(ele) de reactivi specifici testului • Încărcați mini-rackurile pentru controale • Încărcați vârfurile de procesare • Încărcați vârfurile de eluție • Încărcați plăcile de procesare • Încărcați plăcile pentru deșeuri lichide • Încărcați plăcile de amplificare • Încărcați caseta MGP • Reumpleți diluantul probei • Reumpleți reactivul de liză • Reumpleți reactivul de spălare
4	Porniți secvența de rulare alegând butonul Start processing (Pornire procesare) de pe interfața cu utilizatorul; toate secvențele de rulare ulterioare vor porni automat dacă nu sunt amânate manual
5	Consultați și exportați rezultatele
6	Scoateți și acoperiți cu capac toate eprubetele de probă care îndeplinesc cerințele de volum minim, dacă acestea sunt necesare pentru utilizare ulterioară Curățați instrumentul: • Descărcați mini stativale cu control goale • Descărcați caseta(ele) goală(e) cu reactivi specifici testului • Goliți sertarul plăcii de amplificare • Eliminați deșeurile lichide • Eliminați deșeurile solide

Figura 3 Procedura de testare **cobas®** EBV pe sistemele **cobas®** 6800/8800

1	Conectați-vă la sistem Apăsăți Start pentru a pregăti sistemul Ordonăți testele
2	Reumpleți reactivii și consumabilele conform indicațiilor sistemului: • Încărcați caseta de reactivi specifici testului • Încărcați casetele de control • Încărcați vârfurile pipetei • Încărcați plăcile de procesare • Încărcați reactivul MGP • Încărcați plăcile de amplificare • Reumpleți diluantul probei • Reumpleți reactivul de liză • Reumpleți reactivul de spălare
3	Încărcați probele în sistem: • Încărcați rackurile pentru probe și rackurile de vârfuri coagulate pe modulul de alimentare cu probe • Confirmați că probele au fost acceptate în modulul de transfer
4	Porniți secvența de rulare selectând butonul Pornire manuală din interfața cu utilizatorul sau utilizați funcția de pornire automată setată la 120 de minute sau după completarea lotului
5	Consultați și exportați rezultatele
6	Scoateți și acoperiți cu capac toate eprubetele de probă care îndeplinesc cerințele de volum minim, dacă acestea sunt necesare pentru utilizare ulterioară Curățați instrumentul: • Descărcați casetele de control goale • Goliți sertarul plăcii de amplificare • Eliminați deșeurile lichide • Eliminați deșeurile solide

Rezultate

Sistemele **cobas**® 5800/6800/8800 stabilesc automat concentrația de ADN EBV pentru probe și controale. Concentrația de ADN EBV este exprimată în unități internaționale pe milimetru (UI/ml).

Controlul calității și validitatea rezultatelor pe sistemul **cobas**® 5800 și pe sistemele **cobas**® 6800/8800 cu versiune software 2.0 sau ulterioară

- Un **cobas**® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] și două **cobas**® EBV/BKV Positive Control, un control pozitiv redus [EBV/BKV L (+) C] și un control pozitiv ridicat [EBV/BKV H (+) C] sunt procesate cel puțin o dată la 72 de ore și cu fiecare lot de kituri nou. Controalele pozitive și/sau negative pot fi programate mai frecvent pe baza procedurilor de laborator și/sau a regulamentelor locale.
- Rezultatele controalelor sunt prezentate în aplicația „Controls” (Controale).
- În aplicația software și/sau în raport, verificați dacă există marcaje pentru a asigura validitatea rezultatelor testelor corespunzătoare (consultați Asistența pentru utilizatori a x800 Data Manager pentru „Lista codurilor de marcaje”).
- Controalele sunt marcate ca „Valid” în coloana „Control result” (Rezultat control) dacă ținta respectivă a controlului este raportată ca fiind validă. Controalele sunt marcate ca „Invalid” (Nevalid) în coloana „Control result” (Rezultat control) dacă ținta respectivă a controlului este raportată ca fiind nevalidă.
- Controalele marcate ca „Invalid” prezintă un marcaj în coloana „Flags” (Marcaje). Mai multe informații privind motivul pentru care controlul este raportat ca fiind nevalid, inclusiv informațiile despre marcaje sunt prezentate în vizualizarea detaliată.
- Dacă unul dintre controale este nevalid, este necesară repetarea testării tuturor controalelor și a tuturor probelor asociate.

Validarea rezultatelor este efectuată automat de software-ul instrumentului pe baza rezultatelor controalelor.

NOTĂ: Sistemul **cobas**® 5800 și sistemele **cobas**® 6800/8800 cu versiunea software 2.0 sau ulterioară vor fi livrate cu setarea standard de procesare a unui set de controale (pozitive și negative) cu fiecare procesare, dar pot fi configurate cu o programare mai puțin frecventă de până la 72 de ore pe baza procedurilor de laborator și/sau a regulamentelor locale. Contactați inginerul de service Roche și/sau serviciul de asistență tehnică pentru clienți Roche pentru informații suplimentare.

Controlul calității și validitatea rezultatelor pe sistemele **cobas**® 6800/8800 cu versiune software 1.4

- Un **cobas**® Buffer Negative Control [(-) Ctrl] și două **cobas**® EBV/BKV Positive Control, un control pozitiv redus [EBV/BKV L (+) C] și un control pozitiv ridicat [EBV/BKV H (+) C] sunt procesate cu fiecare lot.
- În aplicația software și/sau în raport, verificați dacă există marcaje și rezultate asociate cu acestea pentru a vă asigura că lotul este valid.
- Toate marcajele sunt descrise în Asistența pentru utilizatori aferentă sistemelor **cobas**® 6800/8800.
- Lotul este valid dacă nu apare niciun marcaj în dreptul vreunui control. Dacă lotul este nevalid, este necesară repetarea testării întregului lot.

Validarea rezultatelor este efectuată automat de software-ul instrumentului pe baza rezultatelor controalelor.

Marcajele controalelor pe sistemele cobas® 6800/8800 cu versiune software 1.4

Tabelul 13 Marcajele controalelor pentru controalele negative și pozitive

Control negativ	Marcaj	Rezultat	Interpretare
(-) Ctrl	Q02 (Lot de control cu erori)	Invalid	Un rezultat nevalid sau rezultatul titrului calculat pentru controlul negativ nu este negativ.
Control pozitiv	Marcaj	Rezultat	Interpretare
EBV/BKV L (+) C	Q02 (Lot de control cu erori)	Invalid	Un rezultat nevalid sau rezultatul titrului calculat pentru controlul pozitiv redus nu este în intervalul atribuit.
EBV/BKV H (+) C	Q02 (Lot de control cu erori)	Invalid	Un rezultat nevalid sau rezultatul titrului calculat pentru controlul pozitiv ridicat nu este în intervalul atribuit.

Interpretarea rezultatelor pentru sistemele cobas® 5800/6800/8800

Pentru un lot valid, verificați fiecare probă individuală pentru marcaje în aplicația software a sistemului **cobas® 5800** și a sistemelor **cobas® 6800/8800** și/sau în rapoarte. Rezultatul interpretării trebuie să fie mereu după cum urmează:

- Un lot valid poate include rezultate valide și nevalide ale probei.

Tabelul 14 Rezultatele țintă pentru interpretarea rezultatelor țintă individuale

Rezultate	Interpretare
Target Not Detected	ADN-ul EBV nu a fost detectat. Raportați rezultatele ca „EBV nedetectat”.
< Titer Min ^a	Titrul calculat este sub limita inferioară de cuantificare (LLoQ) a testului. Raportați rezultatele ca „EBV detectat, mai mic decât (titrul min.)”. Titrul minim = 35,0 UI/ml
Titru	Titrul calculat este în intervalul liniar al testului — mai mare sau egal cu titrul min. și mai mic sau egal cu titrul max. Raportați rezultatele ca „(Titru) EBV detectat”.
> Titer Max ^b	Titrul calculat este peste limita superioară de cuantificare (ULoQ) a testului. Raportați rezultatele ca „EBV detectat, mai mare decât (titrul max.)”. Titrul max. = 1,0E+08 UI/ml

^a Rezultatele probei < Titer Min (ținta detectată < LLoQ) trebuie interpretată în contextul altor date clinice și nu trebuie să reprezinte baza unică pentru deciziile de tratament.

^b Rezultatul probei > Titer Max se referă la probele pozitive la EBV detectate cu titruri peste limita superioară de cuantificare (ULoQ). Dacă se dorește un rezultat cantitativ, proba originală trebuie să fie diluată cu plasmă umană EDTA negativă la EBV, iar testul trebuie să fie repetat. Multiplicați rezultatul raportat cu factorul de diluție.

Interpretarea rezultatelor pe sistemul cobas® 5800 și sistemele cobas® 6800/8800 cu versiune software 2.0 sau ulterioară

Rezultatele probelor sunt prezentate în software, în aplicația „Results” (Rezultate) a acestuia.

Pentru un lot valid de control, verificați fiecare probă în parte pentru a vedea dacă există marcaje în aplicația software și/sau în raport. Rezultatul interpretării trebuie să fie mereu după cum urmează:

- Probele asociate cu un lot valid de controale sunt prezentate drept „Valid” (Validă) în coloana „Control result” (Rezultatul controlului) dacă toate rezultatele țintă de control sunt raportate ca fiind valide. Probele asociate cu un lot nereușit de controale sunt prezentate drept „Invalid” (Nevalidă) în coloana „Control result” dacă toate rezultatele țintă de control sunt raportate ca fiind nevalide.
- Dacă controalele asociate ale unui rezultat de probă sunt nevalide, un marcaj specific va fi adăugat la rezultatul probei după cum urmează:
 - Q05D: Eșec de validare a rezultatului din cauza unui control pozitiv nevalid.
 - Q06D: Eșec de validare a rezultatului din cauza unui control negativ nevalid.
- Valorile din coloana „Results” (Rezultate) pentru rezultatul țintă al probei individuale trebuie interpretate așa cum se prezintă în Tabelul 14 de mai sus.
- Dacă una sau mai multe ținte de probă sunt marcate ca „Invalid” (Nevalid), aplicația software afișează un marcaj în coloana „Flags” (Marcaje). Mai multe informații privind motivul pentru care proba (probele) țintă este (sunt) raportată (raportate) ca fiind nevalidă (nevalide), inclusiv informații privind marcajul sunt prezentate în vizualizarea detaliată.

Interpretarea rezultatelor pe sistemele cobas® 6800/8800 cu versiune software 1.4

Pentru loturile valide, verificați fiecare probă pentru marcaje în aplicația software cobas® 6800/8800 și/sau în raport.

Rezultatul interpretării trebuie să fie mereu după cum urmează:

- Probele sunt marcate cu „Yes” (Da) în coloana „Valid” dacă toate rezultatele țintă necesare au raportat rezultate valide. Probele marcate cu „No” (Nu) din coloana „Valid” pot necesita interpretare și măsuri suplimentare.
- Valorile pentru rezultatul țintă al probei individuale trebuie interpretate așa cum se prezintă în Tabelul 14 de mai sus.

Limitări procedurale

- cobas® EBV a fost evaluat doar pentru utilizarea în combinație cu cobas® EBV/BKV Control Kit, cobas® Buffer Negative Control Kit, cobas® omni MGP Reagent, cobas® omni Lysis Reagent, cobas® omni Specimen Diluent și cobas® omni Wash Reagent pentru utilizarea cu sistemele cobas® 5800/6800/8800.
- Fiabilitatea rezultatelor depinde de prelevarea, păstrarea și manipularea în condiții optime ale probelor.
- Acest test a fost validat pentru a fi folosit numai cu plasma EDTA. Testarea altor tipuri de probe cu cobas® EBV poate duce la rezultate incorecte. Măsurările încărcăturii virale a plasmelor nu sunt direct compatibile cu cele din alte tipuri de probe.
- Cuantificarea ADN-ului EBV poate fi afectată de metodele de prelevare a probelor, de factori legați de pacienți (adică, vârsta, prezența simptomelor) și/sau stadiul infecției.

- La fel ca în cazul tuturor testelor moleculare, mutațiile în regiunile țintă ale **cobas® EBV** pot afecta legarea primerilor și/sau sondelor, ceea ce poate cauza sub-cuantificarea virusului sau eșecul de a detecta prezența virusului.
- Din cauza diferențelor inerente între tehnologii, se recomandă ca, înainte de a trece de la o tehnologie la alta, utilizatorii să efectueze studii de corelare a metodelor în cadrul laboratoarelor lor pentru a înregistra diferențele între tehnologii. Utilizatorii trebuie să respecte politicile/procedurile impuse de instituție.
- **cobas® EBV** nu este destinat folosirii ca test de screening pentru prezența EBV în sânge sau produse derivate din sânge.

Evaluarea performanței non-clinice

Echivalența sistemelor

Echivalența sistemelor **cobas® 5800**, **cobas® 6800** și **cobas® 8800** a fost demonstrată prin studii de performanță. Datele prezentate în aceste instrucțiuni de utilizare susțin performanțe echivalente pentru toate sistemele.

Caracteristici de performanță cheie

Limita de detecție (LoD)

Standard internațional OMS

Limita detectării **cobas® EBV** a fost stabilită prin analiza seriilor de diluții pentru Primul standard internațional OMS pentru virusul Epstein-Barr pentru tehnicile de amplificare a acidului nucleic (Primul standard internațional OMS EBV) obținut din NIBSC (NIBSC 09/260), în plasmă EDTA umană negativă la EBV. Paneluri de șase niveluri de concentrație plus unul gol au fost testate cu trei loturi de reactivi **cobas® EBV**, rulări, zile, operatori și aparate multiple.

Rezultatele pentru plasma EDTA sunt indicate în Tabelul 15 – Tabelul 17. Studiul demonstrează că în lotul cel mai puțin sensibil, concentrația pentru care se așteaptă o rată de succes de 95% prin PROBIT este de 18,8 UI/ml cu un interval de încredere de 95% între 14,5 și 27,5 UI/ml în plasma EDTA. Concentrația cea mai scăzută cu o rată de succes $\geq 95\%$ este de 20,0 UI/ml în plasma EDTA.

Tabelul 15 Limita de detecție în plasma EDTA, lotul 1

Concentrația titlului de intrare (ADN EBV UI/ml)	Număr de replicări valide	Număr de rezultate pozitive	Rată de succes în %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	62	98,4
20,0	63	61	96,8
10,0	63	53	84,1
5,0	63	37	58,7
2,5	63	26	41,3
0,0	63	0	0,0
LoD după PROBIT la o rată de succes 95%	18,8 UI/ml 95% interval de încredere: 14,5–27,5 UI/ml		

Tabelul 16 Limita de detecție în plasma EDTA, lotul 2

Concentrația titlului de intrare (ADN EBV UI/ml)	Număr de replicări valide	Număr de rezultate pozitive	Rată de succes în %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	58	92,1
5,0	63	35	55,6
2,5	63	20	31,8
0,0	63	0	0,0
LoD după PROBIT la o rată de succes 95%	12,4 UI/ml 95% interval de încredere: 10,0–17,0 UI/ml		

Tabelul 17 Limita de detecție în plasma EDTA, lotul 3

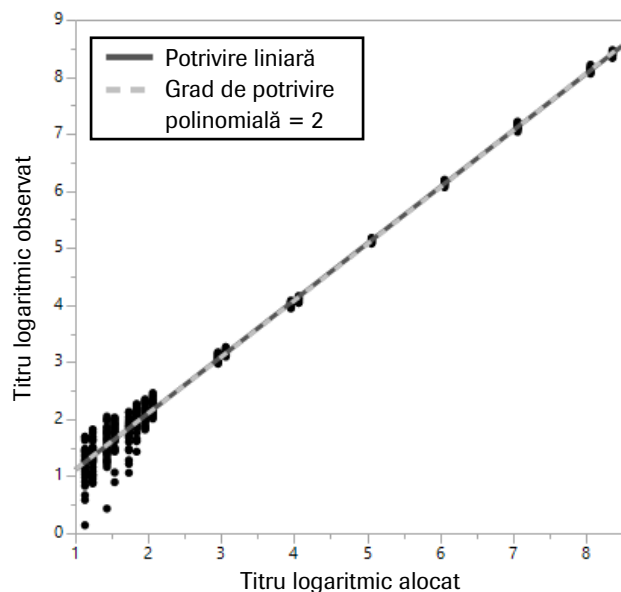
Concentrația titlului de intrare (ADN EBV UI/ml)	Număr de replicări valide	Număr de rezultate pozitive	Rată de succes în %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	63	100,0
20,0	63	62	98,4
10,0	63	48	76,2
5,0	63	38	60,3
2,5	63	26	41,3
0,0	63	0	0,0
LoD după PROBIT la o rată de succes 95%	18,6 UI/ml 95% interval de încredere: 14,4–27,1 UI/ml		

Interval liniar

Linearitatea cobas® EBV a fost evaluată folosind o serie de diluție constând din 17 membri ai panelului cu ADN al genotipului 1 EBV acoperind întregul interval liniar al testului. O soluție de ADN lambda cu un titru ridicat a fost folosită pentru a prepara 11 membri ai panelului acoperind întregul interval liniar. Un probe clinic a fost folosit pentru a pregăti 6 membri ai panelului acoperind nivelurile intermediar și inferior ale intervalului liniar.

Fiecare membru al panoului a fost testat în 36 de replicări în cadrul a trei loturi de reactivi cobas® EBV și rezultatele studiului sunt prezentate în Figura 4.

cobas® EBV a demonstrat că este liniar între $1,40 \times 10^1$ UI/ml și $2,30 \times 10^8$ UI/ml și prezintă o abatere absolută de la regresia neliniară care se potrivește mai bine de mai puțin sau egal cu $\pm 0,1 \log_{10}$ în plasmă umană EDTA (consultați Figura 4). În intervalul liniar, acuratețea testului a fost în limita $\pm 0,2 \log_{10}$.

Figura 4 Determinarea intervalului liniar în plasma EDTA

Precizia — în cadrul laboratorului

Precizia **cobas® EBV** a fost stabilită prin analiza seriilor de diluții ale ADN-ului EBV cu titru ridicat (genotip 1) în plasma EDTA negativă la EBV. Șase niveluri de diluție au fost testate în 72 de replicări pentru fiecare nivel în cadrul a trei loturi de reactivi **cobas® EBV** folosind trei aparate și trei operatori în 12 zile. Fiecare probă a trecut prin întreaga procedură **cobas® EBV** pe sistemele complet automatizate **cobas® 6800/8800**. Astfel, precizia raportată aici reprezintă toate aspectele procedurii testului. Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 18.

cobas® EBV a indicat o precizie ridicată pentru trei loturi de reactivi testați în cadrul intervalului de concentrație între $1,08 \times 10^2$ UI/ml și $5,40 \times 10^7$ UI/ml.

Tabelul 18 Precizia în cadrul laboratorului a **cobas® EBV**

Concentrație nominală [UI/ml]	Concentrație alocată [UI/ml]	Plasmă EDTA			
		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Toate loturile
		SD	SD	SD	SD agregat
$5,00 \times 10^7$	$5,40 \times 10^7$	0,03	0,04	0,04	0,04
$1,00 \times 10^6$	$1,08 \times 10^6$	0,02	0,03	0,02	0,02
$1,00 \times 10^5$	$1,08 \times 10^5$	0,02	0,02	0,03	0,02
$1,00 \times 10^4$	$1,08 \times 10^4$	0,04	0,02	0,03	0,03
$1,00 \times 10^3$	$1,08 \times 10^3$	0,05	0,05	0,05	0,05
$1,00 \times 10^2$	$1,08 \times 10^2$	0,17	0,18	0,15	0,17

Verificarea genotipului

Performanța **cobas**® EBV pe genotipul 2 EBV a fost evaluată prin:

- Verificarea limitei de detecție
- Verificarea intervalului liniar

Verificarea limitei de detecție pentru genotipul 2

ADN-ul EBV pentru genotipul 2 a fost diluat la trei niveluri de concentrație diferite în plasma EDTA negativă la EBV. Determinarea ratei de succes a fost efectuată cu 63 de replicări pentru fiecare nivel. Testarea s-a desfășurat cu trei loturi de reactivi **cobas**® EBV, rulări, zile, operatori și aparate multiple. Potrivit rezultatelor, **cobas**® EBV a detectat ADN EBV pentru genotipul 2 la o concentrație de 18,8 UI/ml cu o rată de succes $\geq 95\%$.

Verificarea intervalului liniar pentru genotipul 2

Seria de diluție folosită în verificarea studiului de linearitate a genotipurilor pentru **cobas**® EBV a constatat din opt membri ai panelului acoperind intervalul liniar al testului. Testarea a fost efectuată cu trei loturi de reactiv **cobas**® EBV, 12 replicări pe nivel au fost testate în plasmă EDTA.

Intervalul liniar al **cobas**® EBV a fost verificat pentru genotipul 2.

Specificitate

Specificitatea **cobas**® EBV a fost determinată prin analiza probelor de plasmă EDTA negativă la EBV de la donatori individuali. O sută una probe de plasmă EDTA au fost testate cu trei loturi de reactivi **cobas**® EBV. Toate probele au fost testate negative la ADN EBV. În panelul testului, specificitatea **cobas**® EBV a fost 100% (limită inferioară a intervalului de încredere de 95% unilateral a fost de 97,08%).

Specificitate analitică

Specificitatea analitică a **cobas**® EBV a fost evaluată prin diluarea unui panou de microorganisme la o concentrație de $1,00\text{E}+06$ unități/ml (celule/ml, CFU/ml, IFU/ml, CCU/ml) pentru bacterii și levuri și între $3,00\text{E}+05$ și $1,00\text{E}+06$ unități/ml (UI/ml, copii/ml, celule/ml, TCID₅₀/ml) pentru virusuri cu plasmă EDTA pozitivă la ADN EBV și negativă la ADN EBV. Organismele specifice testate sunt enumerate în Tabelul 19. Fiecare membru al panelului a fost evaluat cu **cobas**® EBV. S-a demonstrat că niciunul dintre patogenii ne-EBV nu interferează cu performanța testului.

Tabelul 19 Microorganisme testate pentru reactivitate încrucișată

Virusuri	Bacterii	Levuri
Adenovirus tip 5	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Poliomavirus BK	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Citomegalovirus	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Virusul hepatitei B	<i>Clostridium perfringens</i>	-
Virusul hepatitei C	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
Virusul Herpes Simplex de tip 1	<i>Escherichia coli</i>	-
Virusul Herpes Simplex de tip 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
Virusul herpetic uman de tip 6	<i>Listeria monocytogenes</i>	-
Virusul herpetic uman de tip 7	<i>Mycobacterium avium</i>	-
Virusul herpetic uman de tip 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
Virusul imunodeficienței umane 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Virusul imunodeficienței umane 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Papilomavirus uman	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
Virusul JC	<i>Salmonella enterica</i>	-
Parvovirus B19 Virusul simian 40	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Virusul Varicella-Zoster	-	-

Specificitatea analitică — substanțe care interferează

Niveluri ridicate de trigliceride (33,0 g/l), bilirubină conjugată (0,2 g/l), bilirubină neconjugată (0,2 g/l), albumină (60,0 g/l), hemoglobină (2,0 g/l) și ADN uman (2 mg/l) au fost testate în prezența și în absența ADN-ului EBV.

S-a demonstrat că interferențele endogene testate nu interferează cu performanța de testare a cobas® EBV.

În plus, compușii de medicamente enumerați în Tabelul 20 au fost testați la de trei ori C_{max} în prezența și absența ADN-ului EBV.

S-a demonstrat că toate substanțele care pot să interfereze nu interferează cu performanța de testare.

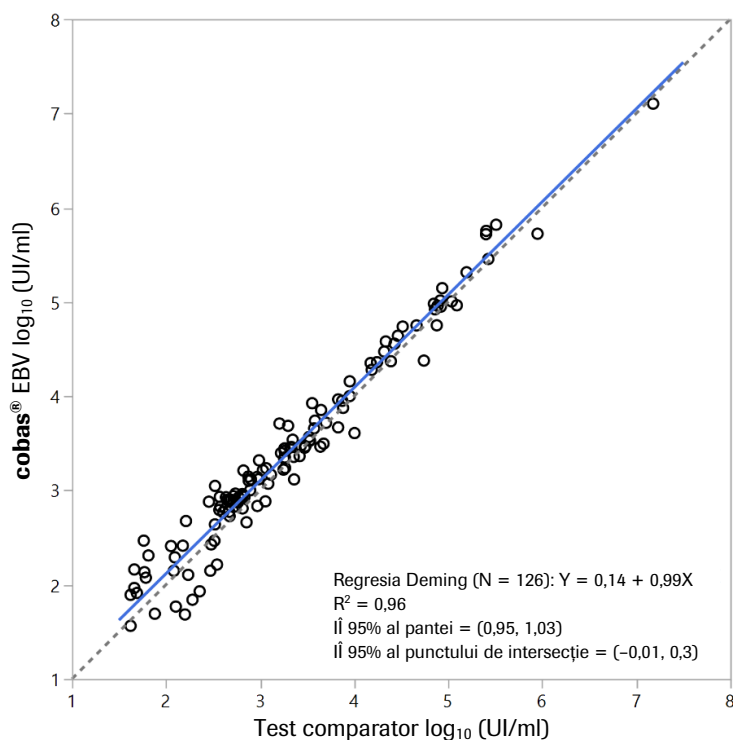
Tabelul 20 Compușii de medicamente testați pentru interferența cu cuantificarea ADN-ului EBV de către cobas® EBV

Clasa de medicamente	Numele medicamentului generic	
Antimicrobian	Cefotetan	Sulfametoxazol
	Clavulanat de potasiu	Disodiu ticarcilină
	Fluconazol	Trimetoprim
	Piperacilină	Vancomicină
	Tazobactam sodiu	Micafungin
Compuși pentru tratarea virusurilor herpetice	Ganciclovir	Cidofovir
	Valganciclovir	Foscarnet
	Aciclovir	Letermovir
Medicamente imunosupresoare	Azatioprină	Prednison
	Ciclosporină	Sirolimus
	Everolimus	Tacrolimus
	Micofenolat mofetil	Acid micofenolic

Corelarea metodei

Performanța cobas® EBV a fost evaluată în raport cu un test comparator, prin analizarea probelor de plasmă EDTA de la pacienți infectați cu EBV. Probele de plasmă EDTA, din intervalul de cuantificare al ambelor teste, au fost testate ca replicări unice. A fost desfășurată analiza de regresie Deming.

Rezultatele regresiei Deming sunt prezentate în Figura 5.

Figura 5 Analiza regresiei cobas® EBV față de un test comparator

Eșec la nivelul întregului sistem

Rata de eșec a întregului sistem pentru **cobas® EBV** a fost determinată prin testarea a 100 de replicări de plasmă EDTA la care s-a adăugat un specimen clinic pozitiv la EBV. Aceste probe au fost testate la o concentrație de $3 \times \text{LoD}$.

Rezultatele acestui studiu au indicat că toate replicările au fost valide și pozitive pentru ținta EBV, rezultând o rată de eșec la nivelul întregului sistem de 0% (un interval de încredere superior unilateral de 95% de 2,95%).

Contaminare încrucișată

Rata de contaminare încrucișată pentru **cobas® EBV** a fost stabilită prin testarea a 240 de replicări ale unei probe matrice negative la EBV și a 225 de replicări ale unei probe de EBV cu titru ridicat la aproximativ $2,00\text{E}+07$ UI/ml. În total, au fost efectuate cinci rulări cu probe pozitive și negative într-o configurație de tip grilă.

Toate cele 240 de replicări ale probei negative au fost negative, rezultând într-o rată de contaminare încrucișată de 0% (interval de încredere superior unilateral de 95% de 1,24%).

Evaluarea performanței clinice

Reproductibilitatea **cobas® EBV**

Reproductibilitatea **cobas® EBV** a fost evaluată pentru factori (lotul reactivului, centrul de testare, zilele lotului și de testare) care ar putea să afecteze rezultatele raportate în testarea clinică de rutină. Evaluarea a fost efectuată la 3 centre de testare, folosind 3 loturi de reactivi, cu un panel de probe pozitive și negative, rezultând un număr total de 270 teste (fără a include controalele). Paneelele au fost realizate din plasmă EDTA care a fost EBV VCA IgG negativă și au fost testate pentru EBV cu un protocol de eliberare NAT pentru plasmă la care s-a adăugat un standard internațional OMS EBV, un supernatant de cultură de celule EBV sau fagemid lambda cu ADN EBV. Doi operatori din fiecare centru au testat fiecare lot de reactivi timp de 5 zile. Au fost efectuate două rulări (1 rulare = 1 lot; 1 lot = 1 panel + 3 controale) per operator în fiecare zi și au fost efectuate 3 replicări ale fiecărei componente a panelului pentru fiecare rulare. Rezultatele evaluării sunt rezumate în Tabelul 21.

Tabelul 21 Procentul atribuibil al varianței totale (%TV), abaterea standard (SD) a preciziei totale și CV (%) lognormală a concentrației de ADN EBV ($\log_{10}$ UI/ml) după membrul de panou pozitiv

Concentrația de ADN EBV estimată ($\log_{10}$ UI/ml)	Concentrația medie observată ^a de ADN EBV ($\log_{10}$ UI/ml)	Numărul de teste ^b	Lot %TV ^c (CV%) ^d	Centru %TV ^c (CV%) ^d	Zi/operator %TV ^c (CV%) ^d	Lot %TV ^c (CV%) ^d	În cadrul lotului %TV ^c (CV%) ^d	Precizia totală SD ^e	Precizia totală CV (%) ^d
2,02	2,09	270	11% (11,97)	2% (5,30)	0% (0,00)	3% (6,34)	84% (34,25)	0,158	37,56
3,70	3,68	270	43% (10,07)	15% (5,92)	0% (0,00)	16% (6,23)	26% (7,81)	0,067	15,43
4,70	4,68	270	39% (8,54)	10% (4,24)	0% (0,00)	24% (6,63)	28% (7,18)	0,059	13,70
5,70	5,50	268	7% (11,39)	58% (34,36)	0% (0,00)	21% (20,18)	15% (17,08)	0,191	46,16
7,70	7,76	270	27% (8,63)	15% (6,52)	0% (0,88)	13% (6,01)	45% (11,26)	0,073	16,83

^a Calculată folosind procedura SAS MIXED.

^b Numărul de teste valide cu nivel ADN detectabil.

^c %TV = contribuția procentuală a varianței totale.

^d CV % = coeficientul de variație ca procent lognormal = $\sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

^e Calculat folosind variabilitatea totală din procedura SAS MIXED.

Notă: Acest tabel include numai rezultatele cu nivel ADN detectabil. SD = abatere standard; CV = coeficient de variație; EBV = virus Epstein Barr.

cobas® EBV a demonstrat o reproductibilitate clinică acceptabilă la concentrația comparativă respectivă. În plus, sistemul a detectat 100% din 3 × probe LLoQ. Sistemele **cobas® 6800** și **cobas® 8800** au în comun un sistem modular și au prezentat echivalență la folosirea **cobas® EBV**. Toate limitele de încredere 95% (CL) estimate pentru diferența dintre 2 măsurări de la același subiect au fost de cel mult $\pm 0,53 \log_{10}$ UI/ml, indicând faptul că testul poate să evalueze modificări în nivelurile ADN EBV care se consideră a fi semnificative clinic.

Dintre cele 270 de teste valide pentru membrii de panou negativi, efectuate cu sistemele **cobas® 6800/8800**, 14 probe (5,19%) au prezentat o detectare < pozitivitatea LLoQ. Rezultatele nu au fost asociate cu un anumit aparat/centru sau lot de reactivi. Secvențierea Heminested PCR și a ADN-ului a confirmat prezența ADN-ului EBV în aceste probe.

Performanța cobas® EBV

Performanța clinică a **cobas® EBV** a fost evaluată în continuare la trei centre de testare prin măsurarea nivelurilor de ADN EBV în probe clinice (pure și diluate) de la pacienți infectați și neinfecți cu EBV și probe de plasmă EDTA prelucrate la care s-a adăugat virus EBV cultivat, în comparație cu un test bine-stabilit pentru acid nucleic dezvoltat în laborator (LDT) (comparator EBV LDT). Dintre toate probele testate cu **cobas® EBV** și testul EBV comparator, a existat un total de 464 de probe (439 de probe clinice pure sau diluate de la 72 subiecți cu transplant și 25 de probe prelucrate) care au fost valide în ambele teste și evaluabile pentru analiza de concordanță clinică.

Tabelul 22 Analiza de concordanță între cobas® EBV și comparatorul LDT pe rezultatele legate de nivelul ADN EBV pentru toate probele

cobas® EBV (log ₁₀ UI/ml)	Comparator EBV LDT (log ₁₀ UI/ml) Target Not Detected	Comparator EBV LDT (log ₁₀ UI/ml) < LLoQ (< 2)	Comparator EBV LDT (log ₁₀ UI/ml) Între 2 și < 2,6	Comparator EBV LDT (log ₁₀ UI/ml) Între 2,6 și < 3,2	Comparator EBV LDT (log ₁₀ UI/ml) Între 3,2 și 3,8	Comparator EBV LDT (log ₁₀ UI/ml) > 3,8	Total
Target Not Detected	95	17	17	0	0	0	129
< LLoQ (< 2)	39	46	75	11	0	0	171
Între 2 și < 2,6	1	2	16	37	6	0	62
Între 2,6 și < 3,2	1	0	5	15	30	1	52
Între 3,2 și 3,8	0	0	0	0	9	11	20
> 3,8	0	0	0	0	1	29	30
Total	136	65	113	63	46	41	464
Concordanța coloanei (%)	(134/136) 98,5%	(65/65) 100%	(96/113) 85,0%	(52/63) 82,5%	(40/46) 87,0%	(40/41) 97,6%	-
(Scor Î 95%) ^a	(94,8%, 99,6%)	(94,4%, 100%)	(77,2%, 90,4%)	(71,4%, 90,0%)	(74,3%, 93,9%)	(87,4%, 99,6%)	-

Notă: LLoQ = limita inferioară de cuantificare a comparatorului EBV LDT (100 UI/ml).

Abaterea standard a comparatorului EBV LDT estimată la 0,3 log₁₀ UI/ml (studiu de precizie analitică EBV LDT).

Perechile de probe evaluabile pentru analiza concordanței clinice au fost incluse în acest tabel.

^a Independența presupusă între toate probele.

Î = interval de încredere.

Secvențierea ADN pe probe reprezentative de la subiecți cu o abatere consecventă a rezultatelor cu mai mult de 1 log₁₀ UI/ml a nivelului de ADN nu a indicat nepotriviri de secvență pentru orice ținte de primer sau sondă pentru testul cobas® EBV.

Rezultatele discordante au fost definite ca cele care se află la peste un pătrățel distanță de diagonală (indicat prin umbrire). Pentru Target Not Detected după concordanța coloanei LDT, celulele cobas® EBV ținută nedetectată și < LLoQ (< 2) au fost combinate. Motivul adăugării celulelor < LLoQ și TND adiacente pentru coloana TND este acela că diferența dintre TND și < LLoQ nu este semnificativă clinic și că acestea se află analitic la capătul inferior al intervalului de măsurare, ceea ce poate să fie influențat de o eroare aleatorie.

Dintre cele 43 de probe negative EBV LDT de comparație colectate pentru estimarea concordanței procentuale negative (CPN) cu cobas® EBV, 41 de probe au fost negative după cobas® EBV astfel CPN a fost 95,4% cu Î exact 95% de între 84,2% și 99,4%. Cele două probe negative EBV LDT au fost pozitive (< LLoQ) după cobas® EBV și seropozitive pentru EBV VCA IgG și EBNA-1 IgG după testarea serologică suplimentară.

Concordanța între cobas® EBV și comparatorul EBV LDT a fost evaluată și folosind diferite praguri clinice.

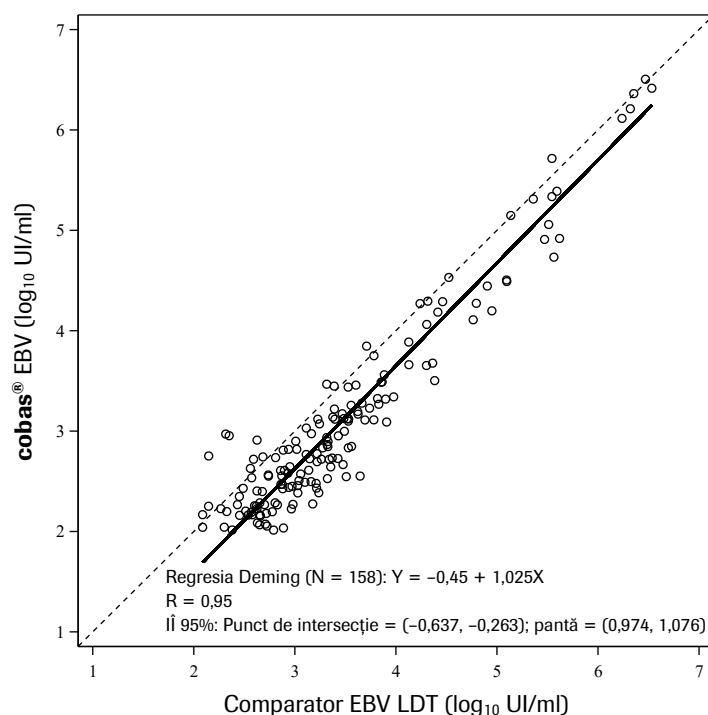
Tabelul 23 Rezumatul concordanței **cobas®** EBV și comparatorului EBV LDT folosind diferite praguri pentru toate probele

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

^a LLoQ = limita inferioară de cuantificare a comparatorului EBV LDT (100 UI/ml)

^b ÎI = interval de încredere

Din toate probele testate cu **cobas®** EBV care au fost pozitive la EBV cu testul EBV comparator, a existat un total de 158 (139 de probe clinice pure sau diluate de la 28 subiecți cu transplant și 19 probe prelucrate) care au fost evaluabile pentru analiza de corelație la trei centre de testare.

Figura 6 Corelația între **cobas®** EBV și comparatorul EBV LDT pentru toate probele: Grafic de regresie liniară Deming al nivelurilor de ADN (log₁₀ UI/ml)

Analiza suplimentară a graficului de comparație pentru diferențele de nivel ADN a indicat o diferență sistematică între ambele teste care este uniformă în intervalul liniar de suprapunere. ÎI 95% al punctului de intersecție al liniei ajustate în graficele de comparație a fost între -0,456 și 0,104, ceea ce se situează în limita $\pm 0,6$ log₁₀ UI/ml (± 2 ori abaterea standard de precizie analitică a comparatorului EBV LDT).

În plus, decalajul mediu a fost estimat la $-0,364 \log_{10} \text{ UI/ml}$ și diferența sistematică între cele două teste a fost $0,352 \log_{10} \text{ UI/ml}$ și $-0,376 \log_{10} \text{ UI/ml}$ pentru probele cu niveluri ADN de 3 și respectiv $4 \log_{10} \text{ UI/ml}$.

Informații suplimentare

Componente de testare cheie

Tip de probă	Plasmă EDTA
Cantitate minimă de probă necesară	350 μl *
Volum de procesare a probei	200 μl
Sensibilitate analitică	18,8 UI/ml
Interval liniar	Între 35,0 UI/ml și $1\text{E}+08 \text{ UI/ml}$
Specificitate	100%
Genotipuri detectate	Genotipuri EBV 1 și 2

* A fost identificat un volum mort de 150 μl pentru tuburile secundare **cobas® omni**. Este posibil ca alte tuburi folosite pentru testare să aibă un volum mort diferit și să necesite un volum minim mai mic sau mai mare. Pentru informații suplimentare, contactați reprezentantul departamentului de Service & Customer Support Roche.

Simboluri

Următoarele simboluri sunt utilizate pe etichetele produselor de diagnostic Roche PCR.

Tabelul 24 Simboluri utilizate pe etichetele produselor de diagnostic Roche PCR

 Vârsta sau data nașterii	 Dispozitiv nedestinat testării în proximitatea pacientului	 Copii UI per reacție PCR, utilizați Unitățile Internaționale (UI) QS per reacție PCR pentru calcularea rezultatelor.
 Software auxiliar	 Dispozitiv nedestinat autotestării	 Număr de serie
 Interval atribuit (copii/mL)	 Distribuitor (Notă: Țara/regiunea aplicabilă poate fi indicată sub simbol.)	 Centru
 Interval atribuit (UI/mL)	 A nu se reutiliza	 Procedură standard
 Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană	 Feminin	 Sterilizat cu oxid de etilenă
 Fișa de date cu coduri de bare	 Exclusiv pentru evaluarea performanței IVD	 A se păstra la întuneric
 Codul lotului	 Cod articol internațional (Global Trade Item Number)	 Limită de temperatură
 Riscuri biologice	 Importator	 Fișier de definire a testului
 Număr de catalog	 Dispozitiv medical de diagnostic <i>in vitro</i>	 Cu această parte în sus
 Marcajul de conformitate CE; acest dispozitiv este conform cu cerințele aplicabile pentru marcajul CE aferent unui dispozitiv medical destinat diagnosticării <i>in vitro</i> .	 Limita inferioară a intervalului atribuit	 Procedură ultrasensibilă
 Data colectării	 Masculin	 Identificator unic dispozitiv
 Consultați instrucțiunile de utilizare	 Producător	 Limita superioară a intervalului atribuit
 Conține o cantitate suficientă pentru <n> teste	 Control negativ	 Linie de umplere urină
 Conținut kit	 Nesteril	 Pentru SUA: Atenție: Legea federală permite vânzarea acestui dispozitiv numai de către sau la comanda unui medic.
 Control	 Nume pacient	 Folosiți până la data de
 Data fabricării	 Număr pacient	
 Dispozitiv destinat testării în proximitatea pacientului	 Dezlipiți aici	
 Dispozitiv de autotestare	 Control pozitiv	
	 Copii QS per reacție PCR, utilizați copii QS per reacție PCR pentru calcularea rezultatelor.	

Asistență tehnică

Pentru asistență tehnică, vă rugăm să contactați reprezentanța locală din regiunea dvs.:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Producător și importator

Tabelul 25 Producător și importator



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



Fabricat în SUA

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Mărci comerciale și brevete

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

Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referințe

1. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplant recipients: a global perspective. Preface. *Bone Marrow Transplant*. 2009;44:453-5. PMID: 19861977.
2. Green M. Introduction: Infections in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:3-8. PMID: 23464993.
3. Cohen JL. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med*. 2000;343:481-92. PMID: 10944566.
4. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, et al. Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematologica*. 2016;101:803-11. PMID: 27365460.
5. Allen UD, Preiksaitis JK. Epstein-Barr virus and posttransplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:107-20. PMID: 23465004.
6. San-Juan R, Comoli P, Caillard S, et al. Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20 Suppl 7:109-18. PMID: 24475976.
7. Nijland ML, Kersten MJ, Pals ST, Bemelman FJ, Ten Berge IJ. Epstein-Barr virus-positive posttransplant lymphoproliferative disease after solid organ transplantation: Pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, and management. *Transplant Direct*. 2016;2:e48. PMID: 27500242.
8. Tsai DE, Douglas L, Andreadis C, et al. EBV PCR in the diagnosis and monitoring of posttransplant lymphoproliferative disorder: Results of a two-arm prospective trial. *Am J Transplant*. 2008;8:1016-24. PMID: 18312608.
9. Fryer JF, Heath AB, Wilkinson DE, Minor PD. A collaborative study to establish the 1st WHO International Standard for Epstein-Barr virus for nucleic acid amplification techniques. *Biologicals*. 2016;44:423-33. PMID: 27461128.
10. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8. PMID: 2227421.
11. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93. PMID: 7845459.
12. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: Structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78. PMID: 7697717.
13. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7. PMID: 1368485.
14. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. PMID: 8908518.
15. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline, 4th ed. CLSI Document M29-A4. Wayne, PA: CLSI, 2014.
17. Hadinoto V, Shapiro M, Sun CC, Thorley-Lawson DA. The dynamics of EBV shedding implicate a central role for epithelial cells in amplifying viral output. *PLoS Pathog*. 2009;5:e1000496. PMID: 19578433.

Versiune document

Informații versiune document	
Doc Rev. 4.0 12/2024	S-au adăugat informații despre versiunea software 2.0 a sistemului pentru sistemele cobas® 6800/8800. S-a adăugat codul NIBSC: 09/260 pentru standardul internațional al OMS. S-a actualizat afișarea exemplelor de rezultate pe sistemele cobas® 6800/8800 cu versiune software 1.4. S-au eliminat numerele de componente (P/N) ale consumabilelor, se face trimitere la informații detaliate despre consumabile în Asistența pentru utilizatori aferentă sistemului cobas® 5800 și cea aferentă sistemelor cobas® 6800/8800. A fost eliminat simbolul Rx Only de pe prima pagină. A fost actualizată pagina cu simbolurile armonizate. Contactați reprezentantul local Roche dacă aveți orice fel de întrebări.

Rezumatul raportului privind siguranța și performanța poate fi găsit accesând următorul link:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.