

cobas[®] Babesia

Test kwasu nukleinowego do użytku z cobas[®] 6800/8800 Systems

Do stosowania w diagnostyce in vitro

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

Spis treści

Zastosowanie	4
Podsumowanie oraz objaśnienie testu	4
Odczynniki i materiały	7
Odczynniki i kontrole do testu cobas® Babesia	7
Odczynniki cobas omni do przygotowywania próbek	10
Wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania odczynników	11
Wymagane materiały dodatkowe.....	12
Wymagane urządzenia i oprogramowanie	12
Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania.....	13
Ostrzeżenia i środki ostrożności	13
Użytkowanie odczynników	14
Dobra praktyka laboratoryjna	14
Pobieranie, transport i przechowywanie próbek	15
Próbki pochodzące od żywych dawców	15
Instrukcja użytkowania.....	17
Automatyczne pipetowanie i pulowanie próbek (opcjonalne)	17
Uwagi proceduralne.....	17
Wykonywanie testu cobas® Babesia.....	18
Wyniki	19
Kontrola jakości i ważność wyników	19
Interpretacja wyników	20
Ograniczenia metody.....	20
Niekliniczna ocena wiarygodności	21
Najważniejsze parametry działania testu	21
Granica wykrywalności (LoD).....	21
Weryfikacja genotypu.....	23
Swoistość analityczna	23
Kontaminacja pomiędzy próbkami	24
Błąd całego systemu	24

Ocena klinicznej skuteczności testu 25

Czułość kliniczna 25

Swoistość kliniczna 25

Wyniki badań pojedynczych próbek 25

Pule wyników 6 testów 27

Odtwarzalność 29

Dodatkowe informacje..... 32

Najważniejsze cechy testu 32

Oznaczenia 33

Wytwórca i dystrybutorzy 34

Znaki towarowe i patenty 34

Copyright..... 34

Piśmiennictwo 35

Wersja dokumentu..... 37

Zastosowanie

Test cobas® Babesia do stosowania w systemach cobas® 6800 i cobas® 8800 jest jakościowym testem przesiewowym *in vitro* do oznaczania kwasów nukleinowych stosowanym w celu bezpośredniego wykrywania DNA i RNA pierwotniaków *Babesia* (*B. microti*, *B. duncani*, *B. divergens* i *B. venatorum*) w próbkach krwi pełnej od indywidualnych ludzkich dawców, w tym od dawców krwi pełnej i składników krwi oraz innych żyjących dawców. Test ten jest przeznaczony również do wykonywania badań przesiewowych u dawców narządów i tkanek w sytuacji, w której próbki są uzyskiwane od dawcy z zachowaną akcją serca. Przesiewowo można badać próbki krwi od wszystkich dawców w postaci pojedynczych próbek lub w uzyskanych z alikwotów poszczególnych próbek pulach.

Test ten nie jest testem diagnostycznym do badania zakażenia pierwotniakami *Babesia*.

Test ten nie jest przeznaczony do stosowania z próbkami krwi pępowinowej.

Test ten nie jest przeznaczony do stosowania w badaniach próbek pobranych od nieżywych dawców.

Podsumowanie oraz objaśnienie testu

Informacje podstawowe

Babesia to pasożytnicze pierwotniaki zakażające erytrocyty (RBC) i mogące wywoływać chorobę zwaną babeszjozą. Babeszjozę można leczyć antybiotykami i lekami przeciw pasożytniczymi. Brak jest obecnie dostępnej szczepionki.¹

Większość przypadków babeszjozy przebiega bezobjawowo, a ewentualnie występujące objawy mogą obejmować objawy grypopodobne (gorączka, dreszcze, poty, ból głowy, ból mięśni, ból stawów) oraz niedokrwistość hemolityczną lub trombocytopenię. Babeszjoza stanowi potencjalne zagrożenie życia w przypadku pacjentów starszych niż 50 lat lub u pacjentów z asplenią, osłabieniem układu odpornościowego (np. z powodu choroby nowotworowej, chłoniaka lub zespołu nabytego upośledzenia odporności [AIDS]), chorobami towarzyszącymi, takimi jak choroby wątroby lub nerek. U takich pacjentów z osłabieniem układu odpornościowego babeszjoza może prowadzić do wystąpienia niewydolności wielonarządowej, zespołu rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (DIC) oraz śmierci.¹

Zidentyfikowano ponad sto gatunków *Babesia*. Cztery gatunki *Babesia* wywołują chorobę u ludzi: *B. microti*, *B. duncani*, *B. divergens* i *B. venatorum*. Zwykle drogą przenoszenia *Babesia* jest ukąszenie kleszcza (*Ixodes* spp.), lecz pierwotniaki *Babesia* mogą być również przenoszone w trakcie przetoczeń lub z matki na dziecko w trakcie ciąży lub porodu. Kleszcze *Ixodes* spp. przenoszące *Babesia* występują na całym świecie.² Ogromna większość przypadków choroby spowodowanych transfuzją oraz przypadków klinicznych w USA spowodowana jest przez *Babesia microti*, a około 2% zgłaszanych przypadków wywołane jest przez *Babesia duncani*.³ *Ixodes ricinus* to gatunek dominujący w Europie, a *I. persulcataus* i *I. ovatus* to dominujące gatunki kleszczy *Ixodes* w Azji.² Do dnia dzisiejszego przypadki babeszjozy wynikające z przetoczeń odnotowano wyłącznie w USA i Kanadzie.⁴ Zakażenie pierwotniakami *Babesia* jest jednym z najczęstszych zakażeń związanych z przetoczeniami w USA.^{5,6} Zakażenia pierwotniakami *Babesia* u ludzi zgłaszano na terenie Australii,¹ Austrii,⁷ Belgii,⁸ Boliwii,⁹ Chin,¹⁰⁻¹² Czarnogóry,¹ Czech,¹ Egiptu,¹ Finlandii,¹ Francji,¹³ Gwinei Równikowej,¹ Hiszpanii,¹⁶ Meksyku,¹⁴ Niemiec,¹ Norwegii,¹⁵ Polski,¹ Portugalii,¹ RPA,¹ Szwajcarii¹ i Włoch.¹

Babeszjoza może być przenoszona na obszarach, które nie są uznawane za szczególnie zagrożone przenoszeniem tego pasożyta, ponieważ dawcy krwi mogą podróżować do obszarów endemicznych. Dawcy krwi mogą nie wiedzieć tego, że są nosicielami pasożyta, może u nich występować parazytemia bezobjawowa i mogą zakażać przez okres co najmniej jednego roku. Oprócz tego pasożyt zachowuje żywotność w produktach krwiopochodnych. Większość przypadków związanych z transfuzją dotyczy erytrocytów (dotyczy to również jednostek ubogoleukocytarnych lub napromienionych), natomiast niewielka liczba przypadków miała miejsce w związku z przetoczeniem płytek pochodzących z krwi pełnej. Prospektywne badania krwi z 89 153 donacji w obszarach endemicznych USA wykazały występowanie *Babesia* w 0,38% przypadków.¹⁷

Uzasadnienie badań NAT

Babesia jest na ogół przenoszona przez kleszcze, lecz możliwe jest również przeniesienie za pośrednictwem przetoczenia krwi.¹⁷ Klinicyści mogą nie rozpoznać babeszjozy spowodowanej przetoczeniem krwi ponieważ objawy kliniczne są nieswoiste, a szeroka dystrybucja produktów krwiopochodnych oznacza możliwość występowania przypadków poza obszarami charakteryzującymi się wysoką zachorowalnością na *Babesia* i poza miesiącami letnimi, na które przypada szczyt zachorowań na choroby przenoszone przez kleszcze.

Podobnie jak w przypadku innych chorób zakaźnych, w odniesieniu do których wykonywane są badania przesiewowe krwi od dawców, oddawana krew musi być badana przesiewowo czułym testem umożliwiającym wykrycie *Babesia* w sposób umożliwiający wykrycie i odrzucenie zakażonych jednostek. Test **cobas® Babesia** to czuła i swoista metoda wykrywania *Babesia*, która w związku z tym zapewnia większy poziom ochrony odbiorców produktów czy składników krwiopochodnych przed przenoszonym przez transfuzję zakażeniem *Babesia* i umożliwia w większym stopniu zwiększenie bezpieczeństwa podawania krwi.

Objaśnienie testu

Test **cobas® Babesia** to jakościowy test PCR używany do wykrywania DNA i RNA pierwotniaków *Babesia* z użyciem systemu **cobas® 6800** i **cobas® 8800**. Test **cobas® Babesia** wykrywa cztery gatunki pierwotniaków *Babesia*: *Babesia microti* (najczęściej występujący w USA), *Babesia duncani*, *Babesia divergens* (najczęściej występujący w Europie) oraz *Babesia venatorum*.

Zasady procedury

Test **cobas® Babesia** opiera się na całkowicie zautomatyzowanym przygotowaniu próbek (ekstrakcji i oczyszczaniu kwasów nukleinowych), po którym przeprowadzana jest amplifikacja i detekcja podczas reakcji PCR.

cobas® 6800/8800 System składa się z modułu podawania próbek, modułu transferu, modułu przetwarzania oraz modułu analitycznego. Automatyczne przetwarzanie danych prowadzone jest przez oprogramowanie **cobas® 6800/8800**, które przypisuje wynik testu (próbka niereaktywna, próbka reaktywna, wynik nieważny) do wszystkich analiz. Wyniki można analizować bezpośrednio na ekranie systemu lub wydrukować w postaci raportu.

Próbki należy badać pojedynczo lub opcjonalnie w puli składającej się z porcji poszczególnych próbek. Oprogramowania **cobas® Synergy** z urządzeniem Hamilton MICROLAB® STAR IVD (**cobas® Synergy Core**) można opcjonalnie użyć na etapie preanalitycznym, gdy będzie przeprowadzane pulowanie.

Krew pełną można pobierać do wyznaczonych probówek firmy Roche do pobierania krwi pełnej Roche Whole Blood Collection Tube. Alternatywnie krew pełną pobraną na EDTA można manualnie przenieść do probówki firmy Roche do pobierania krwi pełnej Roche Whole Blood Collection Tube. Probówka do pobierania krwi pełnej zawiera opatentowany dodatek umożliwiający lizę komórek zawartych w krwi pełnej, co powoduje uwolnienie i zakonserwowanie kwasów nukleinowych. Probówka zawierająca lizowaną krew pełną jest główną probówką analizatora, która będzie wykorzystywana przez system **cobas® 6800/8800** przy wykonywaniu uniwersalnych czynności dotyczących przygotowywania próbki.

Cząsteczki kontroli wewnętrznej (IC) Armored RNA dodawane są podczas uniwersalnego przygotowywania próbek i wykorzystywane są do przygotowania próbki oraz kontroli procesu amplifikacji/detekcji. W teście tym wykorzystywane są również dwie kontrole zewnętrzne: dodatnia i ujemna. Oprócz lizowania próbki i uwalniania kwasu nukleinowego, co ma miejsce w probówce głównej, przez dodanie do próbki i kontroli proteiny i odczynnika do lizy uwalniane są również kwasy nukleinowe. Uwolnione kwasy nukleinowe łączą się z silikonową powierzchnią szklanych cząstek magnetycznych, które są dodawane do próbki. Niezwiązane substancje i zanieczyszczenia, takie jak zdenaturowane białka, pozostałości komórek i potencjalne inhibitory reakcji PCR (np. hemoglobina), usuwane są na kolejnych etapach z użyciem odczynnika płuczącego, a oczyszczone kwasy nukleinowe są następnie w podwyższonej temperaturze mywane ze szklanych cząstek z użyciem buforu do elucji.

Wybiórcza amplifikacja docelowego kwasu nukleinowego z próbki dawcy osiągana jest poprzez zastosowanie swoistych dla starterów, wiodącego i odwrotnego, które są projektowane w obrębie wysoce konserwatywnych obszarów docelowego kwasu nukleinowego. Do odwrotnej transkrypcji oraz amplifikacji wykorzystywana jest termostabilna polimeraza DNA. Mastermiks zamiast trifosforanu deoksytymidyny (dTTP) zawiera trifosforan deoksyurydyny (dUTP), który jest wbudowywany do nowo syntetyzowanego DNA (amplikonu).^{18–20} Jakiegokolwiek zanieczyszczające amplikony z poprzednich reakcji PCR niszczone są podczas podgrzewania w pierwszym etapie cyklu termicznego dzięki aktywności enzymu AmpErase (uracylo-N-glikozylazy), który znajduje się w mieszaninie do reakcji PCR. Jednak nowo powstałe amplikony nie ulegają degradacji, gdyż enzym AmpErase jest inaktywowany w temperaturze przekraczającej 55°C.

Mastermiks **cobas®** Babesia zawiera sondy detekcyjne, które są swoiste wobec kwasu nukleinowego *Babesia* oraz kontroli wewnętrznej. Swoiste dla *Babesia* oraz kontroli wewnętrznej sondy detekcyjne są znakowane jednym z dwóch niepowtarzalnych barwników fluorescencyjnych, pełniących rolę barwnika reporterowego. Każda sonda jest również wyznakowana drugim barwnikiem pełniącym rolę wygaszacza. Fluorescencja dwóch swoistych barwników reporterowych mierzona jest przy określonych długościach fali, możliwa jest detekcja i rozróżnienie zamplifikowanych sekwencji docelowych pierwotniaków *Babesia* oraz IC.^{21, 22} W przypadku niezwiązania z sekwencją docelową sygnał fluorescencyjny nienaruszonych sond jest tłumiony przez barwnik wygaszający. Podczas amplifikacji PCR hybrydizacja sond do swoistych sekwencji jednoniciowej matrycy DNA powoduje rozszczepienie nici przez polimerazę DNA dzięki jej aktywności nukleolitycznej w kierunku 5' do 3', co powoduje rozdzielenie barwników reporterowych i wygaszających oraz wygenerowanie sygnału fluorescencyjnego. Z każdym cyklem PCR generowana jest zwiększająca się liczba rozszczepionych sond i jednocześnie wzrasta sumaryczny sygnał barwnika reporterowego. Ponieważ fluorescencja dwóch swoistych barwników reporterowych jest mierzona przy określonych długościach fali, możliwa jest równoczesna detekcja i rozróżnienie zamplifikowanych sekwencji docelowych pierwotniaków *Babesia* oraz kontroli wewnętrznej.

Odczynniki i materiały

Odczynniki i kontrole do testu cobas® Babesia

Wszystkie nieotwarte odczynniki i kontrole należy przechowywać zgodnie z zaleceniami, które zawiera Tabela 1 do Tabela 4.

Tabela 1 cobas® Babesia

cobas® Babesia		
Przechowywać w temperaturze 2–8°C Kaseta na 480 testów (P/N 08244049190)		
Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw 480 testów
Roztwór proteinazy (PASE)	Bufor Tris, < 0,05% EDTA, chlorek wapnia, octan wapnia, 8% (udział wagowo-obj.) proteinazy EUH210: Karta charakterystyki dostępna na żądanie. EUH208: Zawiera subtylizynę. Może powodować wystąpienie reakcji alergicznej.	38 ml
Kontrola wewnętrzna (IC)	Bufor Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% konstruktu kontroli wewnętrznej Armored RNA (niezakaźnego RNA w bakteriofagu MS2), < 0,002% poli-rA RNA (syntetycznego), < 0,1% azydku sodu	38 ml
Bufor do elucji (EB)	Bufor Tris, 0,2% metylo-4-hydroksybenzoesan	38 ml
Mastermiks 1 (MMX-R1)	Octan magnezu, wodorotlenek potasu, < 0,1% azydku sodu	14,5 ml
Babesia mastermiks 2 (MMX-R2)	Bufor trycynowy, octan potasu, glicerol, 18% dimetylosulfotlenku, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,14% dATP, dGTP, dCTP, dUTP, < 0,01% starterów wiodących i odwrotnych dla <i>Babesia</i> oraz kontroli wewnętrznej, < 0,01% znakowanych fluorescencyjnie sond dla starterów <i>Babesia</i> , < 0,01% znakowanej fluorescencyjnie sondy dla kontroli wewnętrznej, < 0,01% aptameru oligonukleotydowego, < 0,01% polimerazy DNA Z05D, < 0,01% enzymu AmpErase (uracylo-N-glikozylazy) (pochodzenia bakteryjnego), < 0,1% azydku sodu	17,5 ml

Tabela 2 cobas® Babesia Control Kit

cobas® Babesia Control Kit

Przechowywać w temperaturze 2–8°C
(P/N 08460981190)

Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie*
Kontrola dodatnia Babesia (Babesia (+) C)	< 0,001% syntetycznego RNA (Armored) <i>Babesia</i> opłaszczanego białkiem kapsydowym bakteriofaga MS2, prawidłowe osocze ludzkie; niewykrywalne metodami PCR DNA i RNA <i>Babesia</i>. 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**	10,4 ml (16 × 0,65 ml)	 OSTRZEŻENIE H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P272: Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wnosić poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Masa reakcyjna: 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolin-3-onu [WE nr 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazol-3-onu [WE nr 220-239-6] (3:1)

* Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

** Substancja niebezpieczna.

Tabela 3 cobas® NHP Negative Control Kit

cobas® NHP Negative Control Kit

Przechowywać w temperaturze 2–8°C
(P/N 07002220190)

Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie*
Kontrola ujemna z prawidłowego osocza ludzkiego (NHP-NC)	Prawidłowe ludzkie osocze, DNA i RNA <i>Babesia</i> niewykrywalne metodami PCR. < 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	  OSTRZEŻENIE H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P272: Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wnosić poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Masa reakcyjna: 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolin-3-onu [WE nr 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazol-3-onu [WE nr 220-239-6] (3:1)

* Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

** Substancja niebezpieczna.

Odczynniki cobas omni do przygotowywania próbek

Tabela 4 Odczynniki **cobas omni** do przygotowywania próbek*

Odczynniki	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Przechowywać w temperaturze 2–8°C (P/N 06997546190)	Szklane cząstki magnetyczne, bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesanu, < 0,1% azydru sodu	480 testów	Nie dotyczy
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Przechowywać w temperaturze 2–8°C (P/N 06997511190)	Bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesanu, < 0,1% azydru sodu	4 × 875 ml	Nie dotyczy
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Przechowywać w temperaturze 2–8°C (P/N 06997538190)	42,56% (udział wagowy) tiocyjanian guanidyny***, 5% (udział wagowo-obj.) polidokanol***, 2% (udział wagowo-obj.) ditiotritol***, dwuwodny cytrynian sodu	4 × 875 ml	 NIEBEZPIECZEŃSTWO H302 + H332: Działa szkodliwie po połknięciu i w następstwie wdychania. H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. EUH032: W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P273: Unikać uwolnienia do środowiska. P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. P303 + P361 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): natychmiast zdjąć całą skażoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody. P304 + P340 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. P305 + P351 + P338 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem. 593-84-0 tiocyjanian guanidyny 9002-92-0 polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diol
cobas omni Wash Reagent (WASH) Przechowywać w temperaturze 15–30°C (P/N 06997503190)	Dwuwodny cytrynian sodu, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoesan	4,2 l	Nie dotyczy

* Te odczynniki nie są dołączone do zestawu testu **cobas**® Babesia. Należy zapoznać się z listą wymaganych materiałów dodatkowych (Tabela 7).

** Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest przede wszystkim zgodne z wytycznymi GHS UE.

*** Substancja niebezpieczna.

Wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania odczynników

Otwarte odczynniki należy przechowywać i użytkować zgodnie z informacjami, które zawiera Tabela 5 i Tabela 6.

Jeśli odczynniki nie zostały umieszczone w cobas® 6800/8800 Systems, należy przechowywać je w odpowiedniej temperaturze, zgodnie z informacjami, które zawiera Tabela 5.

Tabela 5 Przechowywanie odczynników (umieszczonych poza systemem)

Odczynnik	Temperatura przechowywania
cobas® Babesia – 480	2–8°C
cobas® Babesia Control Kit	2–8°C
cobas® NHP Negative Control Kit	2–8°C
cobas omni Lysis Reagent	2–8°C
cobas omni MGP Reagent	2–8°C
cobas omni Specimen Diluent	2–8°C
cobas omni Wash Reagent	15–30°C

Odczynniki umieszczone w systemach cobas® 6800/8800 System są przechowywane w odpowiedniej temperaturze, a ich data ważności monitorowana jest przez system. System umożliwia wykorzystanie odczynników tylko w przypadku spełnienia wszystkich warunków, które zawiera Tabela 6. System automatycznie uniemożliwia wykorzystanie przeterminowanych odczynników. Tabela 6 umożliwia zrozumienie warunków użytkowania odczynników wymuszanych przez systemy cobas® 6800/8800 System.

Tabela 6 Warunki dotyczące daty ważności odczynników wymuszane przez systemy cobas® 6800/8800 System

Odczynnik	Data ważności zestawu	Stabilność otwartego zestawu	Liczba przebiegów pracy, do których można wykorzystać zestaw	Stabilność na pokładzie urządzenia (łącznie czas w urządzeniu poza lodówką)
cobas® Babesia – 480	Nieprzekroczona	60 dni od pierwszego użycia	Maksymalnie 20 przebiegów	Maksymalnie 20 godzin
cobas® Babesia Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy ^a	Nie dotyczy	Maksymalnie 10 godzin
cobas® NHP Negative Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy ^a	Nie dotyczy	Maksymalnie 10 godzin
cobas omni Lysis Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni MGP Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Specimen Diluent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Wash Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy

^a Odczynniki jednorazowe

* Czas jest mierzony od umieszczenia po raz pierwszy odczynnika w cobas® 6800/8800 Systems.

Wymagane materiały dodatkowe

Tabela 7 Materiały i materiały zużywalne do użytku z systemami **cobas®** 6800/8800 System

Materiał	P/N
Probówka firmy Roche do pobierania krwi pełnej Roche Whole Blood Collection Tube	08827907001
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
Worek na odpady stałe i pojemnik na odpady stałe lub	07435967001 i 07094361001 lub
Worek na odpady stałe z wkładką i szufladą zestawu	08030073001 i 08387281001
Worek na odpady stałe z wkładką (20 szt.)	08030073001
Pojemnik na odpady stałe	07094361001

Wymagane urządzenia i oprogramowanie

Na urządzeniu(-ach) należy zainstalować oprogramowanie **cobas®** 6800/8800 oraz pakiet oprogramowania do analizy **cobas®** Babesia. Z systemem dostarczany jest serwer Instrument Gateway (IG). W razie potrzeby należy zainstalować oprogramowanie **cobas®** Synergy.

Tabela 8 Urządzenia

Wyposażenie	P/N
cobas® 6800 System (opcja, na ruchomej platformie)	06379672001
cobas® 6800 System (nieruchomy)	05524245001
cobas® 8800 System	05412722001
Moduł dostarczania próbek	06301037001
Opcje pipetowania i pulowania	P/N
Klucz sprzętowy oprogramowania cobas® Synergy	07788339001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001

Uwaga: szczegółową listę zamówień na statywy na próbki, statywy na niedrożne końcówki i tace na statywy akceptowane przez urządzenia można uzyskać po skontaktowaniu się z przedstawicielem serwisu Roche.

Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania

Ostrzeżenia i środki ostrożności

Podobnie jak w przypadku każdej procedury testowej, dla prawidłowego przeprowadzenia badania kluczowe znaczenie ma zachowanie zasad dobrej praktyki laboratoryjnej. Z uwagi na wysoką czułość niniejszego testu podczas użytkowania odczynników oraz mieszanin do amplifikacji należy zachować szczególną ostrożność, aby zapobiec zanieczyszczeniu.

- Do stosowania wyłącznie w diagnostyce *in vitro*.
- Ze wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak jak z materiałem zakaźnym, stosując procedury dobrej praktyki laboratoryjnej, takie jak określone w dokumentach Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories oraz CLSI Document M29-A4.^{23, 24} Procedurę tę powinien wykonywać wyłącznie personel biegły w pracy z materiałami zakaźnymi oraz w stosowaniu testu **cobas®** Babesia i systemu **cobas®** 6800/8800 System.
- Wszystkie materiały pochodzenia ludzkiego należy uważać za potencjalnie zakaźne i postępować z nimi z zastosowaniem ogólnych środków ostrożności. W przypadku rozlania materiału należy natychmiast zdezynfekować świeżo przygotowanym 0,5% roztworem podchlorynu sodu w destylowanej lub dejonizowanej wodzie (wybielacz rozcieńczony w stosunku 1:10) lub postępować zgodnie z procedurami przyjętymi w danej instytucji.
- **cobas®** Babesia Control Kit oraz **cobas®** NHP Negative Control Kit zawierają osocze uzyskane z krwi ludzkiej. Testowanie prawidłowego osocza ludzkiego metodami PCR również nie wykazało wykrywalnego poziomu DNA i RNA *Babesia*. Żadna ze znanych metod badania nie może zaoferować całkowitej pewności, że produkty otrzymane z ludzkiej krwi nie będą przenosić czynników zakaźnych.
- Dodatek w probówce firmy Roche do pobierania krwi pełnej Roche Whole Blood Collection Tube zawiera chlorowodorek guanidyny. Nie należy dopuścić do bezpośredniego kontaktu między chlorowodorkiem guanidyny i podchlorynem sodu (wybielacz) ani innymi wysoce reaktywnymi odczynnikami, takimi jak kwasy lub zasady. Takie mieszaniny mogą wydzielać trujące gazy. Jeśli dodatek zawierający chlorowodorek guanidyny ulegnie rozlaniu, do czyszczenia należy używać odpowiedniego detergentu laboratoryjnego i wody. Jeśli rozlany dodatek zawiera potencjalne czynniki zakaźne, do czyszczenia należy NAJPIERW używać detergentu laboratoryjnego i wody, a następnie 0,5% roztworu podchlorynu sodu.
- Zaleca się używanie jałowych jednorazowych pipet oraz końcówek pipet wolnych od nukleazy. W celu zagwarantowania optymalnego działania testu należy stosować wyłącznie dostarczone lub wymienione potrzebne materiały zużywalne.
- Ściśle przestrzegać podanych procedur i wytycznych w celu zapewnienia prawidłowego wykonania testu. Wszelkie odchylenia od procedur i wytycznych mogą mieć wpływ na optymalną skuteczność testu.
- Jeżeli w trakcie pracy z próbkami i ich przygotowywania nie stosuje się odpowiedniej kontroli kontaminacji pomiędzy próbkami, może dojść do uzyskania fałszywie dodatnich wyników.

Użytkowanie odczynników

- Aby uniknąć zanieczyszczenia pomiędzy próbkami lub kontrolami, ze wszystkimi odczynnikami, kontrolami i próbkami należy postępować zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej.
- Przed użyciem należy ocenić wzrokowo każdą kasetę z odczynnikami, rozcieńczalnik, odczynnik do lizy i odczynnik płuczający, aby upewnić się, że nie ma żadnego wycieku. W razie wystąpienia wycieku nie wolno używać tego materiału do badania.
- **cobas omni** Lysis Reagent zawiera izotiocyanian guanidyny, potencjalnie niebezpieczną substancję chemiczną. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia.
- Dodatek w probówce firmy Roche do pobierania krwi pełnej Roche Whole Blood Collection Tube zawiera chlorowodorek guanidyny, potencjalnie niebezpieczną substancję chemiczną. Należy unikać kontaktu tego dodatku ze skórą, oczami lub błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia.
- Zestawy testu **cobas®** Babesia, **cobas omni** MGP Reagent oraz **cobas omni** Specimen Diluent zawierają azydek sodu jako substancję konserwującą. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia. Jeżeli dojdzie do rozlania wymienionych odczynników, przed wytarciem należy rozcieńczyć je wodą.
- Nie wolno dopuszczać do kontaktu **cobas omni** Lysis Reagent, zawierającego tiocyjanian guanidyny, z roztworem podchlorynu sodu (wybielaczem). Połączenie to może skutkować wytworzeniem silnie trującego gazu.
- Karty charakterystyki (ang. *Safety Data Sheet*, SDS) są dostępne na żądanie w miejscowym przedstawicielstwie firmy Roche.
- Wszystkie materiały, które przypadkowo weszły w kontakt z próbkami i odczynnikami, należy utylizować zgodnie z przepisami krajowymi, stanowymi i lokalnymi.

Dobra praktyka laboratoryjna

- Nie należy pipetować za pomocą ust.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić tytoniu w obszarach roboczych.
- Podczas pracy z próbkami i odczynnikami należy nosić rękawiczki laboratoryjne, fartuch oraz osłonę oczu. W celu uniknięcia zanieczyszczenia należy zmieniać rękawiczki pomiędzy pracą z próbkami i użytkowaniem zestawów **cobas®** Babesia oraz odczynników **cobas omni**. Podczas pracy z próbkami i kontrolami należy unikać zanieczyszczenia rękawiczek. Zmienić rękawiczki w razie ich zanieczyszczenia próbką, kontrolą lub odczynnikami.
- Należy dokładnie umyć ręce po zakończeniu pracy z próbkami i odczynnikami z zestawu, a także po zdjęciu rękawiczek.
- Dokładnie oczyścić i odkazić wszystkie laboratoryjne powierzchnie robocze świeżo przygotowanym roztworem 0,5% podchlorynu sodu w wodzie destylowanej lub dejonizowanej (rozcieńczyć domowy wybielacz w stosunku 1:10). Następnie należy przetrzeć powierzchnię 70% etanolem.
- Jeśli do rozlania płynu dojdzie na powierzchni urządzenia **cobas®** 6800/8800, należy postępować zgodnie z instrukcjami zamieszczonymi w podręczniku użytkownika i/lub instrukcji obsługi **cobas®** 6800/8800 Systems w celu prawidłowego wyczyszczenia i odkażenia powierzchni urządzenia (urządzeń).

Pobieranie, transport i przechowywanie próbek

Uwaga: ze wszystkimi próbkami należy obchodzić się jak z materiałem potencjalnie zakaźnym.

Wszystkie próbki dawców należy przechowywać w określonych temperaturach.

Podwyższona temperatura ma wpływ na stabilność próbek.

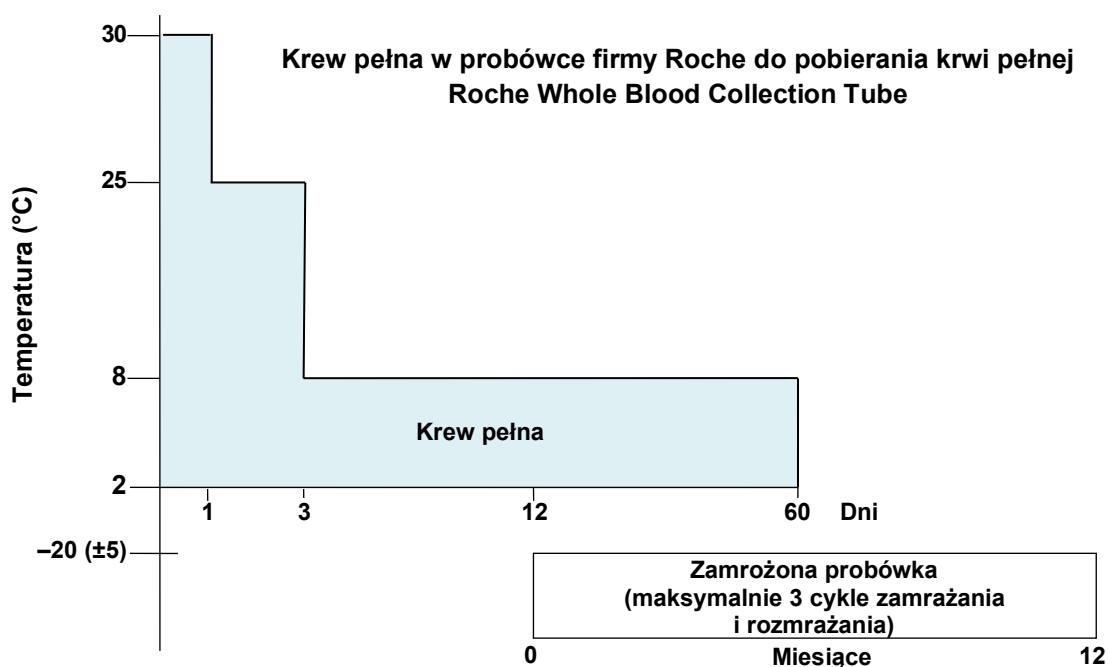
Odwirować próbki przy 1000 RCF (ang. *Relative Centrifugal Force*, względna siła odśrodkowa) przez 2 minuty.

Próbki pochodzące od żywych dawców

- Z testem **cobas® Babesia** można używać krwi pełnej pobieranej do probówki firmy Roche do pobierania krwi pełnej Roche Whole Blood Collection Tube. Należy postępować zgodnie z instrukcjami producenta probówki do pobierania próbek podczas ich używania i wirowania.
- Krew pełną pobieraną do probówek firmy Roche do pobierania krwi pełnej Roche Whole Blood Collection Tube można przechowywać przez maksymalnie 60 dni w następujących warunkach:
 - W przypadku przechowywania w temperaturze powyżej 8°C próbki można przechowywać przez 72 godziny w temperaturze nieprzekraczającej 25°C i przez 24 godziny w okresie 72 godzin w temperaturze nieprzekraczającej 30°C.

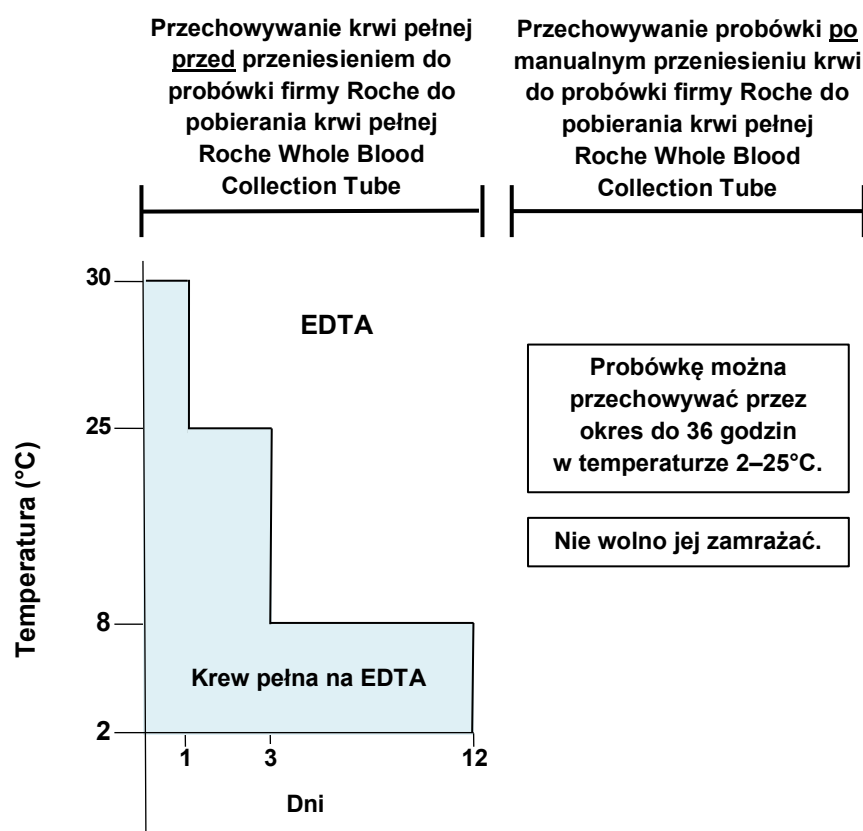
W innych niż opisane sytuacjach próbki przechowuje się w temperaturze 2–8°C. Dodatkowo probówki firmy Roche do pobierania krwi pełnej Roche Whole Blood Collection Tube można przechowywać po 12 dniach po pobraniu przez maksymalnie 12 miesięcy w temperaturze –20°C (±5°C) z trzema cyklami zamrażania/rozmrężania. Należy zapoznać się z Rys. 1.

Rys. 1 Warunki przechowywania próbek pobieranych do probówek firmy Roche do pobierania krwi pełnej Roche Whole Blood Collection Tube



- Jeżeli do badania brak jest dostępnej probówki firmy Roche służącej do pobierania krwi pełnej Roche Whole Blood Collection Tube zawierająca krew od dawcy (np. w razie jej uszkodzenia lub jeżeli krew pełną pobrano do innej probówki), z testem **cobas® Babesia** można używać krew pełną pobieraną na EDTA.
- Przed rozpoczęciem badania przy użyciu testu **cobas® Babesia** należy **manualnie przenieść** do probówki firmy Roche do pobierania krwi pełnej Roche Whole Blood Collection Tube 1,1 ml krwi pełnej pobranej na EDTA.
- Krew pełną pobraną na EDTA można przechowywać przez maksymalnie 12 dni przed rozcieńczeniem w probówce do pobierania krwi pełnej Roche Whole Blood Collection Tube w następujących warunkach:
 - W przypadku przechowywania w temperaturze powyżej 8°C próbki można przechowywać przez 72 godziny w temperaturze nieprzekraczającej 25°C i przez 24 godziny w okresie 72 godzin w temperaturze nieprzekraczającej 30°C.
 - W innych niż opisane sytuacjach próbki należy przechowywać w temperaturze 2–8°C. Patrz Ryc. 2.
- Po rozcieńczeniu w probówce do pobierania krwi pełnej, probówkę można przechowywać przez okres do 36 godzin w temperaturze 2–25°C.

Ryc. 2 Warunki przechowywania pochodzących od żywych dawców próbek krwi pobranych na EDTA



- Jeśli próbki mają być przesyłane, należy je opakować i oznaczyć zgodnie z odpowiednimi krajowymi i (lub) międzynarodowymi przepisami dotyczącymi transportu próbek i czynników zakaźnych.

Instrukcja użytkowania

Automatyczne pipetowanie i pulowanie próbek (opcjonalne)

Aparatu **cobas® Synergy** Core można użyć jako opcjonalnego elementu systemów **cobas®** 6800/8800 do automatycznego pipetowania i mieszania alikwotów wielu próbek pierwotnych w celu uzyskania puli próbek. Dalsze informacje można znaleźć w podręczniku użytkownika oprogramowania **cobas® Synergy**.

Uwagi proceduralne

- Nie należy używać odczynników testu **cobas®** Babesia, **cobas®** Babesia Control Kit, **cobas®** NHP Negative Control Kit i odczynników **cobas omni** po upływie ich daty ważności.
- Nie wykorzystywać ponownie materiałów zużywalnych. Są one przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku.
- Szczegółowe informacje na temat opcjonalnych procedur dotyczących pulowania zapewniających prawidłową konserwację urządzeń opisano w pomocy dla użytkownika i/lub instrukcji obsługi systemów **cobas®** 6800/8800 lub oprogramowania **cobas® Synergy**.

Wykonywanie testu cobas® Babesia

Procedura testu została szczegółowo opisana w pomocy dla użytkownika i/lub instrukcji obsługi systemów **cobas® 6800/8800**. Szczegóły opcjonalnych procedur pulowania opisano w systemie pomocy dla użytkownika i/lub instrukcji obsługi oprogramowania **cobas® Synergy**.

Na Ryc. 3 podsumowano tę procedurę.

Ryc. 3 Procedura testu **cobas® Babesia**

1	Pipetowanie i pulowanie
2	Utworzenie zlecenia
3	Uzupełnij odczynniki i materiały zużywalne po monitorowaniu przez system: • Uzupełnij odczynnik płuczący, odczynnik do lizy oraz rozcieńczalnik • Uzupełnij płytki do przetwarzania oraz płytki amplifikacyjne • Uzupełnij szklane cząstki magnetyczne • Uzupełnij odczynniki specyficzne dla testu • Uzupełnij kasety z kontrolami • Uzupełnij statywy na końcówki • Wymień statyw na niedrożne końcówki
4	Rozpoczęcie przebiegu: • Umieść statyw z próbkami • Wybierz przycisk rozpoczęcia w interfejsie
5	Sprawdzenie i eksport wyników
6	Wyładowanie materiałów zużywalnych: • Wyjmij płytki do amplifikacji z modułu analitycznego • Wyjmij puste kasety z kontrolami • Usuń odpady stałe • Usuń odpady płynne

Wyniki

Systemy cobas® 6800/8800 automatycznie wykrywają kwas nukleinowy *Babesia* jednocześnie dla próbek i kontroli.

Kontrola jakości i ważność wyników

- W każdej partii przetwarzana jest jedna kontrola ujemna [(-) C] i jedna kontrola dodatnia [Babesia (+) C].
- W celu zagwarantowania ważności partii należy sprawdzić w oprogramowaniu cobas® 6800/8800 i (lub) w raporcie obecność oflagowań oraz powiązanych z nimi wyników.
- Partia jest ważna, jeśli nie ma oflagowań dla obu kontroli.

Wyniki są unieważniane automatycznie przez oprogramowanie cobas® 6800/8800 na podstawie uzyskania niepomysłnych wyników kontroli ujemnej i kontroli dodatnich.

Znaczniki kontroli

Tabela 9 Oflagowania kontroli ujemnej i kontroli dodatnich

Kontrola ujemna	Oflagowanie	Wynik	Interpretacja
(-) C	Q02	Invalid	Cała partia zostanie unieważniona, jeśli wynik dla kontroli (-) C będzie nieważny.
Kontrola dodatnia	Oflagowanie	Wynik	Interpretacja
Babesia (+) C	Q02	Invalid	Cała partia zostanie unieważniona, jeśli wynik dla kontroli Babesia (+) C będzie nieważny.

Jeśli partia zostanie unieważniona, należy powtórzyć badanie całej partii z uwzględnieniem próbek i kontroli.

Interpretacja wyników

W przypadku ważnej partii należy sprawdzić w oprogramowaniu **cobas**® 6800/8800 i (lub) raportach poszczególne próbki pod kątem oflagowań. Wyniki należy interpretować w następujący sposób:

- Ważna partia może zawierać ważne i nieważne wyniki próbek dawców w zależności od oflagowań uzyskanych w przypadku poszczególnych próbek.
- Wyniki próbek są ważne jedynie, gdy odpowiednia kontrola dodatnia oraz kontrola ujemna danej partii dały ważny wynik.

Dla każdej próbki mierzy się jednocześnie dwa parametry: *Babesia* i kontrola wewnętrzna. Ostateczne wyniki testu **cobas**® Babesia dla próbek są przedstawiane przez oprogramowanie. Oprócz wyników ogólnych w oprogramowaniu **cobas**® 6800/8800 zostaną wyświetlone wyniki poszczególnych targetów, które należy interpretować w następujący sposób:

Tabela 10 Interpretacja wyników dla poszczególnych targetów

Wyniki targetu	Interpretacja
<i>Babesia</i> Non-Reactive	Nie wykryto sygnału targetu dla <i>Babesia</i> przy obecności sygnału kontroli wewnętrznej.
<i>Babesia</i> Reactive	Wykryto sygnał targetu dla <i>Babesia</i> przy obecności lub braku sygnału kontroli wewnętrznej.
Invalid	Nie wykryto sygnału targetu ani kontroli wewnętrznej.

Ograniczenia metody

- Test **cobas**® Babesia został oceniony jedynie pod kątem stosowania z **cobas**® Babesia Control Kit, **cobas**® NHP Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent oraz **cobas omni** Wash Reagent do użytku z **cobas**® 6800/8800 Systems.
- Uzyskanie wiarygodnych wyników zależy od prawidłowych procedur pobierania, przechowywania i wykorzystywania próbek.
- Detekcja DNA i RNA pierwotniaków *Babesia* zależna jest od obecnej w próbce liczby erytrocytów zakażonych *Babesia* i mogą na nią mieć wpływ metoda pobrania, przechowywania i postępowania z próbką, czynniki zależne od pacjenta (np. wiek, obecność objawów), i/lub stadium zakażenia.
- Mutacje w obrębie wysoce konserwatywnych regionów genomu *Babesia*, z którymi wiążą się startery i/lub sondy używane w teście **cobas**® Babesia mogą wpływać na wiązanie starterów i/lub sond oraz spowodować niewykrycie pierwotniaków *Babesia*.
- Z uwagi na różnice pomiędzy technologiami zaleca się, aby przed zmianą stosowanych metod użytkownik przeprowadził w laboratorium badania korelacji stosowanych metod w celu określenia występujących między nimi różnic jakościowych. Użytkownicy powinni postępować zgodnie z własnymi określonymi zasadami/procedurami.
- Nie określono działania testu w przypadku badania próbek pobranych od dawców martwych.

Niekliniczna ocena wiarygodności

Najważniejsze parametry działania testu

Granica wykrywalności (LoD)

Granica wykrywalności (LOD) testu **cobas®** Babesia została określona przy użyciu erytrocytów zakażonych (iRBC) pierwotniakiem *Babesia* i rozcieńczonych w ludzkiej krwi pełnej.

- Erytrocyty zakażone *B. microti* pozyskano od chomików zakażonych *B. microti* (ATCC, *Babesia microti* Gray, szczep 30221).
- Erytrocyty zakażone *B. duncani* pozyskano od chomików zakażonych *B. duncani* (ATCC, szczep PRA 302).
- Erytrocyty zakażone *B. divergens* pozyskano ze świeżo zakażonej krwi owczej z *B. divergens* (Oniris, szczep B128).
- Erytrocyty zakażone *B. venatorum* pozyskano ze świeżo zakażonej krwi owczej z *B. venatorum* (Oniris, szczep C201).

Miano robocze uzyskano od dostawcy i przypisano mu wartość procentowej parazytemii (liczba erytrocytów zakażonych *Babesia* na ml, barwienie metodą Giemsy).

Dla każdego z roztworów roboczych zakażonych erytrocytów przygotowano 3 niezależne serie rozcieńczeń ludzkiej krwi pełnej. Przed przystąpieniem do testowania za pomocą testu **cobas®** Babesia wszystkie elementy panelu rozcieńczono w probówce firmy Roche do pobierania krwi pełnej Roche Whole Blood Collection Tube zawierającej preanalizy odczynnik chaotropowy, dodatek na bazie guanidyny używany do lizowania zawartych w krwi pełnej komórek, z uwolnieniem i zakonserwowaniem kwasów nukleinowych.

Wszystkie serie rozcieńczeń badano przy użyciu trzech różnych partii zestawu testowego **cobas®** Babesia z około 42 powtórzeniami na partię, co dało w sumie około 126 powtórzeń na stężenie. W przypadku każdego gatunku *Babesia* przeprowadzono analizę PROBIT z wykorzystaniem połączonych danych z serii rozcieńczeń i serii odczynników w celu oszacowania wartości LoD wraz z dolną i górną granicą 95% przedziału ufności (Tabela 11). Częstość wyników reaktywnych zaobserwowanych w badaniach LoD dla *Babesia* podsumowuje Tabela 12 do Tabela 15.

Tabela 11 Wyniki analizy PROBIT danych dotyczących LoD uzyskanych w badaniu erytrocytów zakażonych *Babesia* w próbkach ludzkiej krwi pełnej

Oznaczany składnik	Jednostki miary	LoD	Dolna granica 95% przedziału ufności	Górna granica 95% przedziału ufności
<i>Babesia microti</i>	iRBC/ml	6,1	5,0	7,9
<i>Babesia duncani</i>	iRBC/ml	50,2	44,2	58,8
<i>Babesia divergens</i>	iRBC/ml	26,1	22,3	31,8
<i>Babesia venatorum</i>	iRBC/ml	40,0	34,1	48,7

Tabela 12 Zestawienie częstości wyników reaktywnych dla *Babesia microti*

Stężenie <i>Babesia</i> (iRBC/ml)	Liczba reaktywnych próbek	Liczba ważnych powtórzeń testu	% wyników reaktywnych	Dolny zakres 95% przedziału ufności (jednostronny)
11,8	126	126	100,0%	97,7%
5,9	119	126	94,4%	89,8%
3,0	103	126	81,7%	75,1%
1,5	68	126	54,0%	46,3%
0,6	33	125	26,4%	20,0%

Tabela 13 Zestawienie częstości wyników reaktywnych dla *Babesia duncani*

Stężenie <i>Babesia</i> (iRBC/ml)	Liczba reaktywnych próbek	Liczba ważnych powtórzeń testu	% wyników reaktywnych	Dolny zakres 95% przedziału ufności (jednostronny)
80,0	126	126	100,0%	97,7%
40,0	115	126	91,3%	86,0%
20,0	47	126	37,3%	30,1%
10,0	8	126	6,3%	3,2%
5,0	2	126	1,6%	0,3%

Tabela 14 Zestawienie częstości wyników reaktywnych dla *Babesia divergens*

Stężenie <i>Babesia</i> (iRBC/ml)	Liczba reaktywnych próbek	Liczba ważnych powtórzeń testu	% wyników reaktywnych	Dolny zakres 95% przedziału ufności (jednostronny)
40,0	126	126	100,0%	97,7%
20,0	119	126	94,4%	89,8%
10,0	63	125	50,4%	42,7%
5,0	26	126	20,6%	14,9%
2,5	12	126	9,5%	5,6%

Tabela 15 Zestawienie częstości wyników reaktywnych dla *Babesia venatorum*

Stężenie <i>Babesia</i> (iRBC/ml)	Liczba reaktywnych próbek	Liczba ważnych powtórzeń testu	% wyników reaktywnych	Dolny zakres 95% przedziału ufności (jednostronny)
40,0	124	126	98,4%	95,1%
20,0	90	126	71,4%	64,1%
10,0	38	126	30,2%	23,4%
5,0	9	126	7,1%	3,8%
2,5	4	126	3,2%	1,1%

Weryfikacja genotypu

Wiarygodność testu **cobas**® Babesia w wykrywaniu 4 gatunków *Babesia* określono, badając łącznie 10 niepowtarzalnych próbek klinicznych *Babesia microti* oraz 3 izolatów z hodowli *Babesia*. Wszystkie próbki kliniczne zostały oznaczone ilościowo względem wzorca drugorzędowego *Babesia microti* firmy Roche. Wszystkie próbki kliniczne przebadano bez rozcieńczenia i po rozcieńczeniu z użyciem ludzkiej prawidłowej krwi pełnej bez *Babesia* do stężenia na poziomie 4-krotności wartości LoD testu **cobas**® Babesia. Wszystkie 3 hodowle *Babesia* przebadano po rozcieńczeniu przy użyciu ludzkiej krwi pełnej ujemnej względem *Babesia* do stężenia na poziomie 4-krotności wartości LoD testu **cobas**® Babesia. Wszystkie próbki kliniczne i hodowle wykrywano bez rozcieńczenia i/lub w stężeniu wynoszącym 4-krotność wartości LoD.

Swoistość analityczna

Swoistość analityczną testu **cobas**® Babesia oceniono pod kątem reaktywności krzyżowej z 15 drobnoustrojami w liczbie 10^5 – 10^6 kopii lub CFU, lub IU/ml, co obejmowało 5 izolatów wirusowych, 1 pasożyta, 8 szczepów bakteryjnych i 1 izolat drożdży (Tabela 16). Drobnoustroje dodawano do prawidłowej, ujemnej pod względem *Babesia* ludzkiej krwi pełnej i badano bez dodatku pierwotniaków oraz z pierwotniakami *Babesia* dodanym do uzyskania stężenia wynoszącego około 3-krotność wartości LoD testu **cobas**® Babesia. Badane drobnoustroje nie wykazują reaktywności krzyżowej ani nie zakłócają działania testu **cobas**® Babesia.

Tabela 16 Drobnoustroje badane pod kątem swoistości analitycznej

Bakterie	Wirusy	Pasożyty	Drożdżaki
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	Wirus zapalenia wątroby typu B	<i>Plasmodium falciparum</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Propionibacterium acnes</i>	Wirus zapalenia wątroby typu C	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ludzki wirus upośledzenia odporności	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Parwovirus B19	-	-
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Wirus gorączki Zachodniego Nilu	-	-
<i>Borrelia hermsii</i>	-	-	-
<i>Borrelia parkeri</i>	-	-	-
<i>Borrelia recurrentis</i>	-	-	-

Swoistość analityczna — substancje interferujące

Endogenne substancje wpływające na wynik testu

Przeprowadzono oznaczenia próbek krwi pełnej z nieprawidłowo wysokimi stężeniami trójglicerydów (33 g/l), hemoglobiny (≥ 20 g/l), bilirubiny niezwiązanej (0,2 g/l), albuminy (60 g/l) oraz ludzkiego DNA (0,002 g/l) bez dodatku i po dodaniu *Babesia* do uzyskania stężenia wynoszącego 3-krotność wartości LoD testu **cobas**® Babesia. Próbki zawierające wyżej wymienione substancje endogenne nie wpłynęły na czułość ani swoistość testu **cobas**® Babesia.

Egzogenne substancje wpływające na wynik testu

Próbki prawidłowej krwi pełnej, ujemnej pod względem pierwotniaków *Babesia* i zawierającej nieprawidłowo wysokie stężenia leków (Tabela 17) zbadano z dodanymi pierwotniakami *Babesia* i bez nich do stężenia $3 \times \text{LoD}$ testu **cobas®** Babesia. Wyżej wymienione substancje egzogenne nie wpłynęły na czułość ani swoistość testu **cobas®** Babesia.

Tabela 17 Stężenia leków dodanych do krwi pełnej

Nazwa badanego leku	Stężenie
Paracetamol	1324 µmol/l
Kwas acetylosalicylowy	3620 µmol/l
Kwas askorbinowy	342 µmol/l
Atorwastatyna	600 µg Eq/l
Atowakwon	1227 µmol/l
Azytromycyna	15,3 µmol/l
Fluoksetyna	11,2 µmol/l
Ibuprofen	2425 µmol/l
Loratadyna	0,78 µmol/l
Nadolol	3,88 µmol/l
Naproksen	2170 µmol/l
Paroksetyna	3,04 µmol/l
Chlorowodorek fenylefryny	491 µmol/l
Sertralina	1,96 µmol/l

Kontaminacja pomiędzy próbkami

Częstość występowania zanieczyszczeń krzyżowych w teście **cobas®** Babesia określono przez oznaczenie 237 powtórzeń ludzkiej krwi pełnej ujemnej względem pierwotniaków *Babesia* i 230 powtórzeń próbek z wysokim mianem *Babesia* na poziomie $1,00\text{E}+07$ cząsteczek/ml. Badanie przeprowadzono z wykorzystaniem **cobas®** 6800 System. Łącznie wykonano 5 przebiegów z użyciem próbek dodatnich i ujemnych w układzie naprzemiennym.

Wszystkie 237 powtórzeń dla próbek ujemnych nie wykazało reaktywności, co dało częstość występowania kontaminacji pomiędzy próbkami na poziomie 0%. Dolna granica dwustronnego 95% dokładnego przedziału ufności wyniosła 0%, a górna 1,54% [0%: 1,54%].

Błąd całego systemu

Częstość występowania błędu systemowego dla testu **cobas®** Babesia określono, badając 180 powtórzeń krwi pełnej z dodanymi pierwotniakami *Babesia microti* przy stężeniu docelowym wynoszącym około trzykrotność granicy wykrywalności. Przed przystąpieniem do testowania za pomocą testu **cobas®** Babesia wszystkie elementy panelu rozcieńczono w probówce firmy Roche do pobierania krwi pełnej Roche Whole Blood Collection Tube zawierającej preanalityczny odczynnik chaotropowy. Badanie przeprowadzono z wykorzystaniem **cobas®** 6800 System.

Wyniki tego badania wykazały, że we wszystkich powtórzeniach stwierdzono reaktywność, co dało częstość występowania błędu systemowego na poziomie 0%. Dolna granica dwustronnego 95% dokładnego przedziału ufności wyniosła 0%, a górna 2,03% [0%: 2,03%].

Ocena klinicznej skuteczności testu

Czułość kliniczna

Czułość kliniczną testu **cobas®** Babesia oceniano przy użyciu 203 indywidualnych próbek (131 próbek klinicznych (*B. microti*) i 72 próbek sztucznych (*B. microti*, *B. duncani*, *B. venatorum* i *B. divergens*)), dla których w testach NAT uzyskano wynik dodatni względem *Babesia*. Charakter próbek uzyskano za pomocą zwalidowanego wewnętrznego testu NAT dla *Babesia*, który wykorzystuje inne startery i sondy od używanych w teście **cobas®** Babesia. Badanie było prowadzone w trzech laboratoriach testujących, gdzie każdy ośrodek testował wszystkie 203 próbki, zarówno nierozcieńczone, jak i rozcieńczone w stosunku 1:6 (w celu symulowania puli z 6), używając trzech różnych partii testu **cobas®** Babesia.

Uzyskana w tym badaniu kliniczna czułość testu **cobas®** Babesia wyniosła 100% przy próbkach nierozcieńczonych (95% dwustronny przedział ufności (CI): od 98,2% do 100%) oraz 100% przy próbkach rozcieńczonych w stosunku 1:6 (95% CI: od 98,2% do 100%) (Tabela 18).

Tabela 18 Czułość kliniczna dla próbek o znanym dodatnim wyniku względem *Babesia*

	Liczba przebadanych próbek	Liczba reaktywnych próbek	Liczba próbek niereaktywnych	Czułość (%)	Czułość (95% CI*)	
					Dolna granica	Górna granica
Nierozcieńczane	203	203	0	100,0%	98,2%	100,0%
1:6	203	203	0	100,0%	98,2%	100,0%

* Metoda dokładnego przedziału ufności Cloppera-Pearsona

Swoistość kliniczna

Swoistość kliniczną testu **cobas®** Babesia oceniano poprzez zbadanie próbek krwi oddawanych w pięciu zewnętrznych laboratoriach. Probki pobierano w stanach USA sklasyfikowanych jako wysoce endemiczne, nisko endemiczne i nieendemiczne względem *Babesia*. W tym badaniu wykorzystano sześć różnych partii odczynników testu **cobas®** Babesia. Swoistość kliniczną testu **cobas®** Babesia wyliczono jako odsetek (przy 95% dwustronnym CI) dawców o statusie ujemnym względem *Babesia*, u których uzyskano wynik braku reaktywności w teście **cobas®** Babesia. Łącznie zbadano 168 981 nadających się do oceny donacji jako próbki pojedyncze. Większość nadających się do oceny donacji (143 939) pobrano w stanach wysoce endemicznych.

Wyniki badań pojedynczych próbek

Tabela 19 przedstawia wyliczenia swoistości klinicznej testu **cobas®** Babesia dla łącznie 168 972 nadających się do oceny donacji o ujemnym statusie z badań pojedynczych próbek oraz stanów wysoce, nisko i nieendemicznych. Łączna swoistość kliniczna testu **cobas®** Babesia — w zakresie wszystkich kategorii endemiczności dla indywidualnie testowanych donacji — wyniosła 99,999% (168 970/168 972; 95% CI: od 99,996% do 100%) (Tabela 19). Wyniki swoistości były podobne — od 99,999% do 100% — w zakresie 3 kategorii endemiczności (nieendemiczne, nisko endemiczne i wysoce endemiczne). Dla próbek pojedynczych zaobserwowano współczynnik próbek nieważnych wynoszący 0,49%, wynikający z błędów kontroli wewnętrznej, awarii urządzeń, nieprzestrzegania protokołu lub innych incydentów.

Tabela 19 Swoistość kliniczna testu **cobas® Babesia** — całkowita i na poziom endemiczności *Babesia*

			Wynik testu cobas® Babesia		
	Parametr	Łączna liczba donacji o stanie ujemnym*	Reak- tywne	Niereak- tywne	Szacowana wartość procentowa (95% dokładny CI)
Ogółem	Swoistość kliniczna	168 972	2	168 970	99,999 (99,996; 100,000)
Nieendemiczne	Swoistość kliniczna	10 824	0	10 824	100,000 (99,966; 100,000)
Nisko endemiczne	Swoistość kliniczna	14 217	0	14 217	100,000 (99,974; 100,000)
Wysoko endemiczne	Swoistość kliniczna	143 931	2	143 929	99,999 (99,995; 100,000)

Uwaga: W tej tabeli z podsumowaniem ujęto jedynie donacje możliwe do oceny. CI = dwustronny przedział ufności na podstawie dokładnej metody dwumianowej.

Tabela 20 przedstawia porównanie wyników testu **cobas® Babesia** i statusu donacji dla 168 981 nadających się do oceny donacji, łącznie i w zakresie trzech różnych poziomów endemiczności. Dziewięć (z 11) donacji reaktywnych w teście **cobas® Babesia** zostało potwierdzonych jako dodatnie w zakresie *Babesia*, w tym 8 donacji pobranych w stanach USA uznanych za wysoce endemiczne względem *Babesia*.

Tabela 20 Porównanie wyników testu **cobas® Babesia** ze statusem donacji według endemiczności — badania indywidualnych donacji

	Wynik testu cobas® Babesia	Stan donacji*		Całkowita liczba
		Liczba wyników dodatnich (%)	Liczba wyników ujemnych (%)	
Ogółem	Reaktywne	9 (100,000)	2 (0,001)	11
	Niereaktywne	0 (0,000)	168 970 (99,999)	168 970
	Ogółem	9	168 972	168 981
Nieendemiczne	Reaktywne	1 (100,000)	0 (0,000)	1
	Niereaktywne	0 (0,000)	10 824 (100,000)	10 824
	Ogółem	1	10 824	10 825
Nisko endemiczne	Reaktywne	0 (0,000)	0 (0,000)	0
	Niereaktywne	0 (0,000)	14 217 (100,000)	14 217
	Ogółem	0	14 217	14 217
Wysoko endemiczne	Reaktywne	8 (100,000)	2 (0,001)	10
	Niereaktywne	0 (0,000)	143 929 (99,999)	143 929
	Ogółem	8	143 931	143 939

Uwaga: W tej tabeli z podsumowaniem ujęto jedynie donacje możliwe do oceny.

* Stan donacji określano na podstawie wzorca reaktywności testowania zaobserwowanego przy pierwotnej donacji (wstępne i dodatkowe testy pierwotne) i/lub na podstawie wyników badań kontrolnych.

Pule wyników 6 testów

Swoistość kliniczna testu **cobas® Babesia** dla donacji testowanych w pulach obejmujących sześć próbek (PP6) ogólnie dla wszystkich kategorii endemiczności wynosiła 100% (27 606/27 606, 95% CI: od 99,987% do 100%) (Tabela 21). Wyniki swoistości były takie same w zakresie 3 kategorii endemiczności (nieendemiczne, nisko endemiczne i wysoko endemiczne).

Tabela 21 Swoistość kliniczna testu **cobas® Babesia** — donacje testowane tylko w pulach po 6 (poziom donacji)

Endemiczność	Parametr	Łączna liczba donacji o stanie ujemnym	cobas® Babesia reaktywne	cobas® Babesia niereaktywne	Szacowana wartość procentowa (95% dokładny CI)
Nieendemiczne	Swoistość kliniczna	6 485	0	6 485	100,000 (99,943; 100,000)
Nisko endemiczne	Swoistość kliniczna	5 834	0	5 834	100,000 (99,937; 100,000)
Wysoko endemiczne	Swoistość kliniczna	15 287	0	15 287	100,000 (99,976; 100,000)
Ogółem	Swoistość kliniczna	27 606	0	27 606	100,000 (99,987; 100,000)

Uwaga: W tej tabeli z podsumowaniem ujęto jedynie donacje możliwe do oceny. CI = dwustronny przedział ufności na podstawie dokładnej metody dwumianowej.

Tabela 22 przedstawia porównanie wyników testu **cobas® Babesia** i statusu donacji dla 27 729 nadających się do oceny donacji z których próbki krwi pełnej przetestowano w PP6.

Tabela 22 Porównanie wyników testu **cobas® Babesia** ze statusem donacji według endemiczności — badania puli 6 donacji (poziom donacji)

Wynik testu cobas® Babesia	Pozytywny status donacji n (%)	Negatywny status donacji n (%)	Całkowita liczba
Łącznie, reaktywne	7 (100,000)	0 (0,000)	7
Łącznie, niereaktywne	0 (0,000)	27 722 (100,000)	27 722
Łącznie, razem	7	27 722	27 729
Nieendemiczne, reaktywne	0 (0,000)	0 (0,000)	0
Nieendemiczne, niereaktywne	0 (0,000)	6590 (100,000)	6590
Nieendemiczne, razem	0	6590	6590
Nisko endemiczne, reaktywne	0 (0,000)	0 (0,000)	0
Nisko endemiczne, niereaktywne	0 (0,000)	5845 (100,000)	5845
Nisko endemiczne, razem	0	5845	5845
Wysoko endemiczne, reaktywne	7 (100,000)	0 (0,000)	7
Wysoko endemiczne, niereaktywne	0 (0,000)	15 287 (100,000)	15 287
Wysoko endemiczne, razem	7	15 287	15 294

Uwaga: w tej tabeli z podsumowaniem ujęto jedynie donacje możliwe do oceny. W powyższej tabeli łącznie 116/27 729 (0,42%) przetestowano indywidualnie (nie w pulach po 6).

Stan donacji określano na podstawie wzorca reaktywności testowania zaobserwowanego przy pierwotnej donacji (wstępne i dodatkowe testy pierwotne) i/lub na podstawie wyników badań kontrolnych.

Tabela 23 podsumowuje reaktywność puli dla 4610 kwalifikujących się PP6. Z 4610 PP6, 4603 (99,85%) pul było niereaktywnych a 7 (0,15%) było reaktywnych w teście **cobas®** Babesia. Z 7 pul reaktywnych 7 zawierało donacje o statusie pozytywnym i 0 miało negatywny status donacji (fałszywie reaktywne). Ogólna swoistość puli testu **cobas®** Babesia wyniosła 100% (4603/4603 pul; 95% CI: 99,920–100%).

Tabela 23 Reaktywność w pulach od honorowych dawców krwi

Kategoria	Liczba pul	Odsetek przetestowanych pul
Suma przetestowanych pul ^a	4610	100
Pule niereaktywne ^b	4603	99,8
Pule niereaktywne ze wszystkimi donacjami o stanie ujemnym	4603	100
Pule niereaktywne z co najmniej jedną donacją o stanie dodatnim	0	0
Pule reaktywne ^b	7	0,2
Pule reaktywne z co najmniej jedną donacją o stanie dodatnim	7	100
Pule reaktywne z donacjami o stanie ujemnym (pule fałszywie reaktywne)	0	0

^a Uwaga: 37/4610 pul miało < 6 donacji.

^b Stan donacji określano na podstawie wzorca reaktywności testowania zaobserwowanego przy pierwotnej donacji (wstępne i dodatkowe testy pierwotne) i/lub na podstawie wyników badań kontrolnych.

W przypadku próbek krwi pełnej testowanych w PP6, 260 (99,2%) ważnych partii **cobas®** Babesia dało 4748 (99,00%) ważnych wyników.

Odtwarzalność

Odtwarzalność testu **cobas**® Babesia określono, testując 13-elementowy panel składający się z jednego ujemnego elementu i dwunastu dodatnich próbek dla każdego z czterech gatunków *Babesia* (*B. microti*, *B. duncani*, *B. divergens* i *B. venatorum*) w trzech różnych stężeniach (około 0,5×, 1–2× i około 3× LoD testu **cobas**® Babesia dla każdego z czterech gatunków).

Operatorzy w każdym z trzech ośrodków przez pięć dni wykonywali badania przy użyciu każdej z trzech partii odczynników testu **cobas**® Babesia i dwóch ważnych serii panelowych (tj. dwie partie, każda partia składająca się z jednego panelu i dwóch niezależnych kontroli) na dzień, co pozwoliło wykonać do 270 testów na element panelu gatunku *Babesia* przy każdym z trzech stężeń.

Wszystkie ważne partie i wyniki testów przeanalizowano, obliczając odsetek reaktywnych wyników testów dla każdego elementu panelu [Tabela 24 (*B. microti*), Tabela 25 (*B. duncani*), Tabela 26 (*B. divergens*) i Tabela 27 (*B. venatorum*)]. Badanie to wykazało, że test **cobas**® Babesia do użytku w systemach **cobas**® 6800/8800 wykazuje się odtwarzalnością wyników wśród ocenianych zmiennych (seria, ośrodek, dzień, partia i w obrębie partii) w zakresie wykrywania *Babesia*.

Tabela 24 Wyniki testu podsumowane według ośrodka, serii, dnia i partii (dodatnie elementy panelu) — *Babesia microti*

Stężenie <i>Babesia microti</i>	Ośrodek		Seria		Dzień		Partia	
	ID	% wyników reaktywnych	ID	% wyników reaktywnych	ID	% wyników reaktywnych	ID	% wyników reaktywnych
~0,5 × LoD	1	93,3% (84/90)	1	87,8% (79/90)	1	96,3% (52/54)	1	94,8% (128/135)
	2	96,7% (87/90)	2	100% (90/90)	2	94,4% (51/54)	2	96,3% (130/135)
	3	96,7% (87/90)	3	98,9% (89/90)	3	90,7% (49/54)	-	-
	-	-	-	-	4	96,3% (52/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-
1–2 × LoD	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (89/89)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (135/135)
	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (54/54)	2	100,0% (134/134)
	3	100,0% (89/89)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0% (53/53)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-
~3 × LoD	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (135/135)
	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (54/54)	2	100,0% (135/135)
	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-

Uwaga: LoD = granica wykrywalności.

Tabela 25 Wyniki testu podsumowane według ośrodka, serii, dnia i partii (dodatknie elementy panelu) — *Babesia duncani*

Stężenie <i>Babesia duncani</i>	Ośrodek		Seria		Dzień		Partia	
	ID	% wyników reaktywnych	ID	% wyników reaktywnych	ID	% wyników reaktywnych	ID	% wyników reaktywnych
~0,5 × LoD	1	46,7% (42/90)	1	62,2% (56/90)	1	66,7% (36/54)	1	65,2% (88/135)
	2	68,9% (62/90)	2	54,4% (49/90)	2	63,0% (34/54)	2	61,5% (83/135)
	3	74,4% (67/90)	3	73,3% (66/90)	3	57,4% (31/54)	-	-
	-	-	-	-	4	64,8% (35/54)	-	-
	-	-	-	-	5	64,8% (35/54)	-	-
1–2 × LoD	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (53/53)	1	100,0% (134/134)
	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (89/89)	2	100,0% (54/54)	2	100,0% (135/135)
	3	100,0% (89/89)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-
~3 × LoD	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (89/89)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (134/134)
	2	100,0% (89/89)	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (54/54)	2	100,0% (134/134)
	3	100,0% (89/89)	3	100,0% (89/89)	3	100,0% (53/53)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0% (53/53)	-	-

Uwaga: LoD = granica wykrywalności.

Tabela 26 Wyniki testu podsumowane według ośrodka, serii, dnia i partii (dodatknie elementy panelu) — *Babesia divergens*

Stężenie <i>Babesia divergens</i>	Ośrodek		Seria		Dzień		Partia	
	ID	% wyników reaktywnych	ID	% wyników reaktywnych	ID	% wyników reaktywnych	ID	% wyników reaktywnych
~0,5 × LoD	1	35,6% (32/90)	1	60,0% (54/90)	1	55,6% (30/54)	1	52,6% (71/135)
	2	54,4% (49/90)	2	28,9% (26/90)	2	57,4% (31/54)	2	52,6% (71/135)
	3	67,8% (61/90)	3	68,9% (62/90)	3	46,3% (25/54)	-	-
	-	-	-	-	4	51,9% (28/54)	-	-
	-	-	-	-	5	51,9% (28/54)	-	-
1–2 × LoD	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (135/135)
	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (54/54)	2	100,0% (135/135)
	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-
~3 × LoD	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (135/135)
	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (54/54)	2	100,0% (135/135)
	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-

Uwaga: LoD = granica wykrywalności.

Tabela 27 Wyniki testu podsumowane według ośrodka, serii, dnia i partii (dodatknie elementy panelu) — *Babesia venatorum*

Stężenie <i>Babesia venatorum</i>	Ośrodek		Seria		Dzień		Partia	
	ID	% wyników reaktywnych	ID	% wyników reaktywnych	ID	% wyników reaktywnych	ID	% wyników reaktywnych
~0,5 × LoD	1	95,6% (86/90)	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (135/135)
	2	100,0% (90/90)	2	95,6% (86/90)	2	98,1% (53/54)	2	97,0% (131/135)
	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	96,3% (52/54)	-	-
	-	-	-	-	5	98,1% (53/54)	-	-
1–2 × LoD	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (135/135)
	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (54/54)	2	100,0% (135/135)
	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-
~3 × LoD	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (90/90)	1	100,0% (54/54)	1	100,0% (135/135)
	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (90/90)	2	100,0% (54/54)	2	100,0% (135/135)
	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (90/90)	3	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	4	100,0% (54/54)	-	-
	-	-	-	-	5	100,0% (54/54)	-	-

Uwaga: LoD = granica wykrywalności.

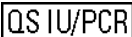
Dodatkowe informacje

Najważniejsze cechy testu

Rodzaj próbki	Krew pełna w probówce firmy Roche pobierania krwi pełnej Roche Whole Blood Collection Tube
Wymagana ilość próbki	850 µl
Przetwarzana ilość próbki	500 µl
Czas trwania testu	Wyniki są dostępne w ciągu mniej niż 3,5 godziny po umieszczeniu próbki w systemie.

Oznaczenia

Na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR stosuje się następujące oznaczenia.

	Oprogramowanie pomocnicze		Dolna granica przypisanego zakresu		Kontrola ujemna
	Autoryzowany Przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej		Górna granica przypisanego zakresu		Kontrola dodatnia
	Arkusze kodów kreskowych		Przechowywać z dala od światła		Próba kontrolna
	Kod partii		Zawartość wystarczająca na <n> testów		Przypisany zakres (kopie/ml)
	Zagrożenie biologiczne		Przestrzegać zakresu temperatury		Przypisany zakres (IU/ml)
	Numer katalogowy		Plik definicji testów		Procedura standardowa
	Sprawdź w instrukcji obsługi		Wytwórca		Procedura ultraczuła
	Zawartość zestawu		Termin ważności		Kopie QS na reakcję PCR, użyć kopii QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.
	Dystrybucja		Numer pozycji handlu globalnego		IU QS na reakcję PCR, użyć jednostek międzynarodowych (IU) QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.
	Wyłącznie do oceny działania w badaniach IVD		Numer seryjny	 Niniejszy wyrób spełnia wymogi dyrektywy 98/79/WE Parlamentu Europejskiego dotyczącej diagnostycznych urządzeń medycznych do stosowania <i>in vitro</i> .	
Rx Only	Tylko Stany Zjednoczone: Prawo federalne zezwala na sprzedaż tego urządzenia wyłącznie lekarzowi lub na zamówienie takiego lekarza.		Data produkcji		
	Wyrób do diagnostyki <i>in vitro</i>		Nie używać powtórnie		

Linia pomocy technicznej dla klientów w Stanach Zjednoczonych 1-800-526-1247

Wytwórca i dystrybutorzy



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



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

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Znaki towarowe i patenty

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

Copyright

©2020 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Písmiennictwo

1. Vannier EG, Diuk-Wasser MA, Ben Mamoun C, Krause PJ. Babesiosis. *Infect Dis Clin North Am.* 2015;29:357-370. PMID: 25999229
2. Reed SL, Davis CE. Introduction to parasitic infections. In: Jameson J, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, et al. Eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 20th ed., New York, NY: McGraw-Hill (accessed July 22, 2019).
3. Herwaldt BL, Linden JV, Bosserman E, Young C, Olkowska D, Wilson M. Transfusion-associated babesiosis in the United States: a description of cases. *Ann Intern Med.* 2011;155:509-519. PMID: 21893613
4. Leiby DA, O'Brien SF, Wendel S, Nguyen ML, Delage G, Devare SG, Hardiman A, Nakhasi HL, Saulea S, Bloch EM, Parasites WSo. International survey on the impact of parasitic infections: frequency of transmission and current mitigation strategies. *Vox Sang.* 2019;114:17-27. PMID: 30523642
5. U.S. Centers for Disease Control and Prevention. Babesiosis surveillance - 18 States, 2011. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012;61(27):505-509. PMID: 22785341
6. Leiby DA. Transfusion-Associated Babesiosis: Shouldn't We Be Ticked Off? *Ann Intern Med.* 2011;155:556-557
7. Hildebrandt A, Gray JS, Hunfeld KP. Human babesiosis in Europe: what clinicians need to know. *Infection.* 2013;41:1057-1072. PMID: 24104943
8. Lempereur L, Shiels B, Heyman P, Moreau E, Saegerman C, Losson B, Malandrin L. A retrospective serological survey on human babesiosis in Belgium. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21:96 e91-97. PMID: 25636942
9. Gabrielli S, Totino V, Macchioni F, Zuniga F, Rojas P, Lara Y, Roselli M, Bartoloni A, Cancrini G. Human Babesiosis, Bolivia, 2013. *Emerg Infect Dis.* 2016;22:1445-1447. PMID: 27434696
10. Chen Z, Li H, Gao X, Bian A, Yan H, Kong D, Liu X. Human Babesiosis in China: a systematic review. *Parasitol Res.* 2019;118:1103-1112. PMID: 30770979
11. Huang S, Zhang L, Yao L, Li J, Chen H, Ni Q, Pan C, Jin L. Human babesiosis in Southeast China: A case report. *Int J Infect Dis.* 2018;68:36-38. PMID: 29355731
12. Zhou X, Xia S, Huang JL, Tambo E, Zhuge HX, Zhou XN. Human babesiosis, an emerging tick-borne disease in the People's Republic of China. *Parasit Vectors.* 2014;7:509. PMID: 25403908
13. Martinot M, Zadeh MM, Hansmann Y, Grawey I, Christmann D, Aguilon S, Jouglin M, Chauvin A, De Briel D. Babesiosis in immunocompetent patients, Europe. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:114-116. PMID: 21192869
14. Peniche-Lara G, Balmaceda L, Perez-Orsorio C, Munoz-Zanzi C. Human Babesiosis, Yucatan State, Mexico, 2015. *Emerg Infect Dis.* 2018;24:2061-2062. PMID: 30334701
15. Morch K, Holmaas G, Frolander PS, Kristoffersen EK. Severe human Babesia divergens infection in Norway. *Int J Infect Dis.* 2015;33:37-38. PMID: 25541295
16. Asensi V, Gonzalez LM, Fernandez-Suarez J, Sevilla E, Navascues RA, Suarez ML, Lauret ME, Bernardo A, Carton JA, Montero E. A fatal case of Babesia divergens infection in Northwestern Spain. *Ticks Tick Borne Dis.* 2018;9:730-734. PMID: 29496491
17. Moritz ED, Winton CS, Tonnetti L, Townsend RL, Berardi VP, Hewins ME, Weeks KE, Dodd RY, Stramer SL. Screening for Babesia microti in the U.S. Blood Supply. *N Engl J Med.* 2016;375:2236-2245. PMID: 27959685
18. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene.* 1990;93:125-128. PMID: 2227421
19. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature.* 1995;373:487-493. PMID: 7845459
20. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, Kavli B, Alseth I, Krokan HE, Tainer JA. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell.* 1995;80:869-878. PMID: 7697717
21. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y).* 1992;10:413-417. PMID: 1368485
22. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996;6:986-994. PMID: 8908518

23. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
24. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014

Wersja dokumentu

Informacje dotyczące wersji dokumentu	
Doc Rev. 1.0 08/2019	Pierwsza publikacja.
Doc Rev. 2.0 03/2020	Dodano informacje o pulowaniu do następujących części: • Zastosowanie • Zasady procedury • Tabela 8 • Rysunek 3 • Instrukcja użytkowania • Ocena skuteczności klinicznej dodatkowych przeprowadzonych badań klinicznych Zwiększono czas przechowywania do 12 miesięcy w –20°C w sekcji Pobieranie, transport i przechowywanie próbek. W razie jakichkolwiek pytań prosimy o kontakt z lokalnym przedstawicielstwem firmy Roche.