

cobas[®] EBV

cobas[®] 5800/6800/8800 Sistemleri ile kullanım için kantitatif nükleik asit testi

In vitro diagnostik kullanım içindir

cobas[®] EBV

P/N: 09040943190

cobas[®] 5800 Sisteminde kullanım için

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 09051953190

cobas[®] 6800/8800 Sistemlerinde kullanım için

cobas[®] EBV/BKV Control Kit

P/N: 08688214190 veya
P/N: 09040951190

cobas[®] Buffer Negative Control Kit

P/N: 07002238190 veya
P/N: 09051953190

İçindekiler

Kullanım amacı	4
Test özeti ve açıklaması	4
Reaktifler ve materyaller	7
cobas® EBV reaktifleri ve kontrolleri	7
Numune hazırlamada cobas® omni reaktifleri	10
Reaktif saklama gereklilikleri	11
cobas® 5800 Sistemi için reaktif kullanım gereklilikleri	12
cobas® 6800/8800 Sistemleri için reaktif kullanım gereklilikleri	12
cobas® 5800 Sistemi için gerekli ek materyaller	13
cobas® 6800/8800 Sistemleri için gerekli ek materyaller	13
Gerekli cihazlar ve yazılımlar	14
Önlemler ve taşıma gereklilikleri	15
Uyarılar ve önlemler	15
Reaktif kullanımı	15
İyi laboratuvar uygulamaları	16
Numune alma, taşıma ve saklama	16
Numuneler	16
Kullanım talimatları	17
Prosedürle ilgili notlar	17
cobas® 5800 Sistemi üzerinde cobas® EBV testini çalıştırma	18
cobas® 6800/8800 Sistemleri üzerinde cobas® EBV testini çalıştırma	19
Sonuçlar	20
cobas® 5800 Sistemi ile alınan sonuçların kalite kontrolü ve geçerliliği	20
cobas® 5800 Sistemindeki kontrol sonuçları	20
cobas® 6800/8800 Sistemleri ile alınan sonuçların kalite kontrolü ve geçerliliği	20
cobas® 6800/8800 Sistemlerindeki kontrol uyarı işaretleri	21

Sonuçların yorumlanması.....	21
cobas® 5800 Sistemindeki sonuçların yorumlanması	22
cobas® 6800/8800 Sistemlerindeki sonuçların yorumlanması.....	22
Prosedür ile ilgili sınırlamalar.....	22
Klinik olmayan performans değerlendirmesi.....	23
cobas® 6800/8800 Sistemleri üzerinde gerçekleştirilen temel performans özellikleri	23
Saptama Limiti (LoD)	23
Doğrusal aralık	24
Kesinlik – laboratuvar içi.....	25
Genotip doğrulaması.....	26
Özgüllük.....	26
Analitik özgüllük.....	27
Analitik özgüllük – etkileşimde bulunan maddeler	27
Yöntem korelasyonu	28
Tüm sistem hatası.....	29
Çapraz kontaminasyon	29
cobas® 6800/8800 Sistemleri üzerinde gerçekleştirilen klinik performans değerlendirmesi	29
cobas® EBV'nin yeniden üretilebilirliği	29
cobas® EBV'nin performansı.....	30
Sistem eşdeğerliği/sistem karşılaştırması	33
Ek bilgiler	34
Temel test özellikleri	34
Semboller	35
Teknik destek.....	36
Üretici ve ithalatçı	36
Ticari markalar ve patentler.....	36
Telif hakkı.....	36
Referanslar.....	37
Belge revizyonu.....	38

Kullanım amacı

cobas® EBV, **cobas® 5800/6800/8800** Sistemlerinde EDTA içeren insan plazması içindeki Epstein-Barr virüsü (EBV) DNA'sının kantitasyonuna yönelik bir *in vitro* nükleik asit amplifikasyonu testidir.

cobas® EBV, transplantasyon hastalarında EBV tanısına ve yönetimine yardımcı olmaya yöneliktir. EBV'nin izlenmekte olduğu hastalarda potansiyel tedavi değişikliği ihtiyacını belirlemek ve tedaviye karşı viral yanıtı değerlendirmek için seri halinde DNA ölçümleri kullanılabilir.

cobas® EBV sonuçları, tüm ilgili klinik bulgular ve laboratuvar bulguları ile birlikte yorumlanmalıdır.

Test özeti ve açıklaması

Temel bilgiler

Transplantasyon yapılan hastalarda pek çok virüs ve bakteri enfeksiyonu için risk daha yüksektir ve genel sağlıklı popülasyonla kıyaslandığında bu enfeksiyonların ciddi sağlık sonuçlarına yol açması daha muhtemeldir. Yüksek riskin nedenlerinden birisi, transplantasyon hastalarında greft reddi ihtimalini azaltmak için verilen immünosupresif ilaçların bağışıklık sisteminin işlevini zayıflatmasıdır.^{1,2}

EBV, herpes virüs ailesinin bir üyesidir. Çift zincirli, zarflı deoksiribonükleik aside (DNA) sahip bir virüstür (~172 kb). EBNA-2 genindeki farklılıklara göre tanımlanan iki ana EBV genotipi vardır: tip 1 ve tip 2. EBV enfeksiyonları insanlarda oldukça yaygındır: Yetişkinlerin %90'ından fazlası enfektedir ve latent enfeksiyonlar ömür boyu devam eder. EBV, yeni enfekte olan ergenler ve yetişkinler alt kümesinde bulaşıcı mononükleoza neden olur ve nazofaringeal karsinom, Burkitt lenfoma ve Hodgkin lenfoma da dahil birkaç farklı kanser tipiyle ilişkilendirilmiştir. EBV, transplantasyon yapılan ve insan immün yetmezlik virüsü/edinilmiş immün yetmezlik sendromu (HIV/AIDS) olan hastalar da dahil olmak üzere konjenital veya edinilmiş immün yetmezliği olan kişilerde lenfoproliferatif hastalıklara neden olabilir.³

Transplantasyon yapılan hastalarda EBV, bellek B hücrelerinden latent virüsün yeniden etkinleşmesiyle veya yeni primer enfeksiyonla (özellikle EBV pozitif donörlerden greft alan EBV negatif transplantasyon hastaları için geçerlidir) hastalığa yol açabilir.³ Bu hastalar için EBV ile ilgili hastalığın en şiddetli biçimi transplantasyon sonrası lenfoproliferatif hastalıktır (PTLD). Bu hastalığın nedeni lenfositlerin, tipik olarak B hücrelerinin kontrolsüz proliferasyonudur.⁴ Genel olarak, transplantasyon hastaları arasında PTLD vakalarının > %70'i EBV enfeksiyonu ile bağlantılıdır. PTLD için en yüksek risk, transplantasyonun ilk yılı esnasında gerçekleşir ve bu dönemde gerçekleşen PTLD vakalarının > %90'ı EBV ile bağlantılıdır. Transplantasyondan sonraki bir yıldan sonra gerçekleşen PTLD vakalarının %20'ye kadar varan kısmı EBV negatiftir.^{4,5}

Erken başlangıçlı PTLD'nin risk faktörleri arasında transplantasyonda EBV negatif alıcı serodurumu, genç yaş, lenfosit azaltan antikorlara maruz kalma ve transplantasyonu yapılan organ tipi yer almaktadır.^{5,6}

Primer EBV enfeksiyonlarının erken tayini ve DNA seviyesinin izlenmesi, EBV ile ilgili hastalığa progresyonu önlemek için hızlı tedavi müdahalesini destekleyebilir. Kılavuzlar, özellikle yüksek riskli EBV negatif transplantasyon hastalarında, kantitatif nükleik asit testleri (NAT'ler) kullanılarak EBV'nin düzenli bir şekilde izlenmesini önerir.^{4,5} Testler arası değişkenlik nedeniyle tıbbi olarak anlamlı kesin viral eşik tartışma konusu olsa da, kritik eşik konsepti geçerli gözükmemektedir ve daha yüksek EBV DNA seviyelerinin EBV hastalığı ve PTLD gelişimi bakımından yüksek risk ile korelasyon halinde olduğunu gösteren doğal seyir çalışmalarında bildirilmiştir.^{4,5,7} EBV testi için hem plazma, hem de

tam kan numune tipleri kullanılmıştır ancak bulgular PTLD'nin saptamasında plazmanın daha özgül olduğuna işaret etmektedir.^{4, 5, 7, 8}

EBV DNA seviyelerini düşürmeye ve PTLD başlangıcını önlemeye yönelik yaygın terapötik müdahale, immünosupresyon ilacı dozlarının azaltılması ve B hücresi azaltan antikorlarla tedavidir.⁷ EBV DNA seviyelerini düşürmeye yönelik önleyici tedavi çoğu hastada başarılıdır, yine de hastaların %20'sinde (özellikle transplantasyondan sonra bir yıl geçmiş hastalar) PTLD gelişebilir.⁷

EBV kantitasyonuna yönelik laboratuvar testlerinin çoğu standardize edilmemiştir ve bu durum DNA seviyesi sonuçları bakımından laboratuvarlar arası ve testler arası değişkenliğe yol açmakta ve farklı laboratuvarlar ve testler kullanılarak elde edilen DNA seviyelerinin karşılaştırılmasına neden olmaktadır.⁷ DSÖ, bu sorunu çözmek için EBV kantitasyonuna yönelik bir Uluslararası Standart oluşturarak standardize edilmiş testlerin IU/mL cinsinden bildirilmesine olanak tanımıştır.⁹ EBV ile ilgili hastalıklar ve PTLD geliştirme riski yüksek olan hastaların klinik yönetimini iyileştirmek üzere laboratuvarlar genelinde tutarlı sonuçlar alındığından emin olmak için EBV DNA seviyelerinin yeniden üretilebilirlik ve geçerlilik bakımından resmi şekilde değerlendirilmesi kritiktir.

NAT testinin gerekçesi

Transplantasyon hastasının EBV ile ilgili komplikasyonlar riskini belirlemeye yardımcı olması için transplantasyondan önce donörün ve alıcının EBV serolojileri belirlenir, ancak transplantasyon sonrasında hastaları izlemek için seroloji yeterince hassas veya kesin değildir. EBV kültür yöntemleri yavaştır ve bu senaryoda tahmin değeri düşüktür. EBV DNA'sının gerçek zamanlı PCR ile doğrudan saptanması; geniş dinamik aralık, kesinlik, yüksek hassasiyet ve özgüllük sağlama potansiyeline sahiptir.

Testin açıklaması

cobas® EBV, **cobas® 5800/6800/8800** Sistemlerinde gerçekleştirilen kantitatif bir testtir. **cobas® EBV**, enfekte olan hastaların EDTA içeren plazmasında EBV DNA'nın saptanmasını ve kantitasyonunu mümkün kılar. Viral yük, numunenin hazırlanması sırasında her numuneye uygulanan EBV olmayan DNA kantitasyon standardına (DNA-QS) göre kantifiye edilir. DNA-QS, numune hazırlama ve PCR amplifikasyon işleminin tamamını izleme işlevine de sahiptir. Ek olarak, testte üç harici kontrol kullanılır: bir adet yüksek titreli pozitif kontrol, bir adet düşük titreli pozitif kontrol ve bir negatif kontrol. Yüksek pozitif ve düşük pozitif harici kontrolleri, EBV DSÖ Uluslararası Standardına göre izlenebilen titre içeren stok materyalin dilüsyonuyla üretilir. Amplifikasyon/Saptama kiti lotlarının her biri EBV DSÖ Uluslararası Standardına göre kalibre edilir ve izlenebilir.

Prosedür prensipleri

cobas® EBV, tam otomatik numune hazırlama (nükleik asit ekstraksiyonu ve saflaştırılması) ve ardından PCR amplifikasyonu ve saptamasına dayalıdır. **cobas® 5800** Sistemi, tek entegre cihaz olarak tasarlanmıştır. **cobas® 6800/8800** Sistemleri; numune hazırlama modülünden, transfer modülünden, işleme modülünden ve analitik modülünden oluşmaktadır. Otomatik veri yönetimi, tüm testler için hedef saptanmadı, EBV DNA < LLoQ (alt ölçme sınırı) saptandı, EBV DNA > ULoQ (üst ölçme sınırı) saptandı veya LLoQ < x < ULoQ doğrusal aralığında bir değer olarak test sonuçlarını atayan **cobas® 5800** veya **cobas® 6800/8800** Sistemi yazılımı tarafından gerçekleştirilir. Sonuçlar, doğrudan sistem ekranında incelenebilir, dışa aktarılabilir veya rapor olarak yazdırılabilir.

Hasta numunelerinden ve eklenen lambda DNA-QS moleküllerinden nükleik asit eş zamanlı olarak ekstrakte edilir. Özetle, numuneye proteinaz ve lizis reaktifi eklenmesi ile viral nükleik asit salınır. Salınan nükleik asit, eklenen manyetik cam partiküllerinin silika yüzeyine bağlanır. Denatüre protein, hücresel atıklar ve potansiyel PCR inhibitörleri gibi bağlanmayan maddeler ve safsızlıklar, sonraki yıkama reaktifi adımları ile giderilir ve saflaştırılmış nükleik asit, yüksek sıcaklıkta elüsyon tamponu ile cam partiküllerden elüe edilir.

Numunedeki hedef nükleik asidin selektif amplifikasyonu; EBV EBNA-1 geninde ve EBV BMRF geninde yer alan ve EBV'nin yüksek oranda korunan bölgelerinden çift hedefli virüse özel yaklaşım kullanılarak elde edilir. DNA-QS'nin selektif amplifikasyonu, EBV genomu ile homolojisi olmayacak şekilde seçilen sekansa özgü ileri ve geri primerlerin kullanılmasıyla sağlanır. Amplifikasyon için termostabil DNA polimeraz enzimi kullanılır. Hedef ve DNA-QS sekanslarına, önceden tanımlanmış sıcaklık adımları ve döngü sayısı ile evrensel bir PCR amplifikasyon profili kullanılarak eş zamanlı amplifikasyon uygulanır. Master Mix, deoksitimidin trifosfat (dTTP) yerine, yeni sentezlenen DNA'ya (amplikon) dahil edilen deoksiüridin trifosfat (dUTP) içerir.¹⁰⁻¹² Önceki PCR çalışmalarında meydana gelen kontamine edici amplikonun tamamı, ilk ısıtılma döngüsünde ısıtıldığında PCR karışımına dahil olan AmpErase enzimi tarafından imha edilir. Ancak AmpErase enzimi 55°C üzerinde sıcaklıklara maruz kaldığında etkisiz hale geldiğinden, yeni oluşan amplikon giderilmez.

cobas® EBV master mix, EBV hedef sekansları için spesifik olan iki ve DNA-QS için spesifik olan bir saptama probu içerir. Problar, EBV hedefinin ve DNA-QS'nin iki farklı kanalda eş zamanlı olarak saptanmasına olanak tanıyan hedefe özgü floresan haberci boylarla etiketlenir.^{13, 14} İntakt problemlerin floresan sinyali, söndürücü boya tarafından baskılanır. PCR amplifikasyon adımı sırasında probun spesifik tek zincirli DNA şablonlarına hibridizasyonu, DNA polimerazda 5' ila 3' nükleaz aktivitesi ile klevaja neden olur ve bu durum da, haberci ve söndürücü boyların ayrılması ve floresan sinyal oluşumu ile sonuçlanır. Her bir PCR döngüsünde, artan miktarlarda klevaj problemleri oluşturulur ve haberci boyanın kümülatif sinyali eş zamanlı olarak artar. PCR ürünlerinin gerçek zamanlı saptanması ve ayırt edilmesi, viral hedefler ve DNA-QS için salınan haberci boyların floresansı ölçülerek sağlanır.

Reaktifler ve materyaller

cobas® EBV reaktifleri ve kontrolleri

cobas® EBV için sağlanan materyaller Tablo 1 içinde belirtilmiştir. Gereken ancak sağlanmayan materyaller, Tablo 2 ile Tablo 4 arasında ve Tablo 8 ile Tablo 9 arasında bulunabilir.

Ürünün tehlike bilgileri için **Reaktifler ve materyaller** bölümüne ve **Önlemler ve taşıma gereklilikleri** bölümüne bakın.

Tablo 1 cobas® EBV

cobas® EBV

2–8°C'de saklayın

192 test kaseti (P/N 09040943190)

Kit bileşenleri	Reaktif içeriği	Kit başına miktar 192 test
Proteinaz Çözeltisi (PASE)	Tris tamponu, < %0,05 EDTA, kalsiyum klorür, kalsiyum asetat, %8 proteinaz, gliserol EUH210: Talep halinde güvenlik bilgi formu sağlanabilir. EUH208: <i>Bacillus subtilis</i> 'te bulunan Subtilizin içerir. Alerjik reaksiyonlara yol açabilir.	22,3 mL
DNA Kantitasyonu Standardı (DNA QS)	Tris tamponu, < %0,05 EDTA, < %0,001 EBV dışı primer bağlayıcı ve benzersiz prob bölgesi (bulaşıcı olmayan DNA) içeren EBV dışı DNA yapısı, < %0,002 Poly rA RNA (sentetik), < %0,1 sodyum azit	21,2 mL
Elüsyon Tamponu (EB)	Tris tamponu, %0,2 metil-4 hidroksibenzoat	21,2 mL
Master Mix Reagent 1 (MMX-R1)	Manganez asetat, potasyum hidroksit, < %0,1 sodyum azit	7,5 mL
EBV Master Mix Reagent 2 (EBV MMX-R2)	Trisin tamponu, potasyum asetat, < %18 dimetil sülfoksit, gliserol, < %0,1 Tween 20, EDTA, < %0,12 dATP, dCTP, dGTP, dUTP'ler, < %0,01 yukarı akışlı ve aşağı akışlı EBV primerleri, < %0,01 Kantitasyon Standardı ileri ve geri primerleri, < %0,01 EBV ve EBV Kantitasyon Standardı için spesifik olan floresan etiketli oligonükleotid problemleri, < %0,01 oligonükleotid aptamer, < %0,01 Z05D DNA polimeraz, < %0,10 AmpErase (urasil-N-glikozilaz) enzimi (mikrobik), < %0,1 sodyum azit	9,7 mL

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

2–8°C'de saklayın

cobas® 5800 Sisteminde kullanım için (P/N 09040951190)

cobas® 6800/8800 Sistemlerinde kullanım için (P/N 08688214190 veya P/N 09040951190)

Kit bileşenleri	Reaktif içeriği	Kit başına miktar	Güvenlik sembolü ve uyarı*
EBV/BKV Düşük Pozitif Kontrol (EBV/BKV L(+)C)	< %0,001 Lambda bakteriyofaj kaplamalı proteinde sentetik (plazmid) EBV DNA, normal insan plazması, PCR yöntemleriyle saptanamayan EBV DNA %0,1 ProClin® 300 koruyucu**	4 mL (8 × 0,5 mL)	  UYARI H317: Alerjik cilt reaksiyonlarına yol açar. H412: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki. P261: Tozunu/dumanını/gazını/sisini/buharını/spreyini solumaktan kaçının. P273: Çevreye verilmesinden kaçının. P280: Koruyucu eldiven kullanın. P333 + P313: Ciltte tahriş veya döküntü söz konusu ise: Tıbbi yardım/bakım alın. P362 + P364: Kirlenmiş giysilerinizi çıkarın ve yeniden kullanmadan önce yıkayın. P501: İçeriği/kabı onaylı bir atık imha tesisine atın. 55965-84-9 Reaksiyon kütleli: 5-kloro-2-metil-4-izotiyazolin-3-on ve 2-metil-2H-izotiyazol-3-on (3:1).
EBV/BKV Yüksek Pozitif Kontrol (EBV/BKV H(+)C)	< %0,001 Lambda bakteriyofaj kaplamalı proteinde sentetik (plazmid) EBV DNA, normal insan plazması, PCR yöntemleriyle saptanamayan EBV DNA %0,1 ProClin® 300 koruyucu**	4 mL (8 × 0,5 mL)	  UYARI H317: Alerjik cilt reaksiyonlarına yol açar. H412: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki. P261: Tozunu/dumanını/gazını/sisini/buharını/spreyini solumaktan kaçının. P273: Çevreye verilmesinden kaçının. P280: Koruyucu eldiven kullanın. P333 + P313: Ciltte tahriş veya döküntü söz konusu ise: Tıbbi yardım/bakım alın. P362 + P364: Kirlenmiş giysilerinizi çıkarın ve yeniden kullanmadan önce yıkayın. P501: İçeriği/kabı onaylı bir atık imha tesisine atın. 55965-84-9 Reaksiyon kütleli: 5-kloro-2-metil-4-izotiyazolin-3-on ve 2-metil-2H-izotiyazol-3-on (3:1).

* Ürün güvenlik etiketi öncelikli olarak AB GHS kılavuzlarına tabidir.

** Tehlikeli madde veya karışım.

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

2–8°C'de saklayın

cobas® 5800 Sisteminde kullanım için (P/N 09051953190)

cobas® 6800/8800 Sistemlerinde kullanım için (P/N 07002238190 veya P/N 09051953190)

Kit bileşenleri	Reaktif içeriği	Kit başına miktar
cobas® Buffer Negative Control (BUF (-) C)	Tris tamponu, < %0,1 sodyum azit, EDTA, %0,002 Poly rA RNA (sentetik)	16 mL (16 × 1 mL)

Numune hazırlamada cobas® omni reaktifleri

Tablo 4 Numune hazırlamada cobas® omni reaktifleri

Reaktifler	Reaktif içeriği	Kit başına miktar	Güvenlik sembolü ve uyarı*
cobas® omni MGP Reagent (MGP) 2-8°C'de saklayın (P/N 06997546190)	Manyetik cam partiküller, Tris tamponu, %0,1 metil-4 hidroksibenzoat, < %0,1 sodyum azit	480 test	Uygulanmaz
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) 2-8°C'de saklayın (P/N 06997511190)	Tris tamponu, %0,1 metil-4 hidroksibenzoat, < %0,1 sodyum azit	4 × 875 mL	Uygulanmaz
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) 2-8°C'de saklayın (P/N 06997538190)	%43 (a/a) guanidin tiyosiyanat**, %5 (a/h) polidokanol**, %2 (a/h) ditiyotritol**, dihidro sodyum sitrat	4 × 875 mL	 TEHLİKE H302 + H332: Yutulduğunda veya solunduğunda zararlıdır. H314: Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına yol açar. H411: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, toksik etki. EUH032: Asitlerle temasında çok toksik gaz çıkarır. P273: Çevreye verilmesinden kaçının. P280: Koruyucu eldiven/koruyucu kıyafet/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın. P303 + P361 + P353: DERİ (veya saç) İLE TEMAS HALİNDE İSE: Kirlenmiş tüm giysilerinizi hemen kaldırın/çıkarın. Cildinizi su ile durulayın. P304 + P340 + P310: SOLUNDUĞUNDA: Zarar gören kişiyi temiz havaya çıkartın ve kolay biçimde nefes alması için rahat bir pozisyonda tutun. Hemen ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru. P305 + P351 + P338 + P310: GÖZ İLE TEMASI HALİNDE: Su ile birkaç dakika dikkatlice durulayın. Takılı ve yapması kolaysa, kontak lensleri çıkartın. Durulamaya devam edin. Hemen ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru. P391: Döküntüleri toplayın. 593-84-0 Guanidinyum tiyosiyanat 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutan-2,3-diol
cobas® omni Wash Reagent (WASH) 15-30°C'de saklayın (P/N 06997503190)	Sodyum sitrat dihidrat, %0,1 metil-4 hidroksibenzoat	4,2 L	Uygulanmaz

* Ürün güvenlik etiketi öncelikli olarak AB GHS kılavuzlarına tabidir.

** Tehlikeli madde veya karışım.

Reaktif saklama gereklilikleri

Reaktifler, Tablo 5, Tablo 6 ve Tablo 7 içinde belirtilen şekilde saklanmalı ve kullanılmalıdır.

Reaktifler **cobas® 5800** veya **cobas® 6800/8800** Sistemlerine yüklü olmadığında, bunları Tablo 5 içinde belirtilen karşılık gelen sıcaklıkta saklayın.

Tablo 5 Reaktif saklama (reaktif sistemde olmadığında)

Reaktif	Saklama sıcaklığı
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

cobas® 5800 Sistemi için reaktif kullanım gereklilikleri

cobas® 5800 Sistemine yüklenen reaktifler, uygun sıcaklıklarda saklanır ve bu reaktiflerin son kullanma tarihi sistem tarafından izlenir. Sistem, yalnızca Tablo 6 içinde gösterilen koşulların tamamının karşılanması halinde reaktiflerin kullanılmasına izin verir. Sistem, son kullanma tarihi geçmiş olan reaktiflerin kullanımını otomatik olarak engeller. Tablo 6 kullanıcının cobas® 5800 Sistemi ile sunulan reaktif kullanım koşullarını anlamasını sağlar.

Tablo 6 cobas® 5800 Sistemi ile sunulan reaktif son kullanım koşulları

Reaktif	Kit son kullanma tarihi	Açık kit stabilitesi	Bu kitin kullanılabilceği çalışma sayısı	Cihaz üzeri stabilite
cobas® EBV	Tarihi geçmemiş	İlk kullanımdan itibaren 90 gün	En fazla 40 çalışma	En fazla 36 gün**
cobas® EBV/BKV Control Kit	Tarihi geçmemiş	Uygulanmaz*	Uygulanmaz	En fazla 36 gün**
cobas® Buffer Negative Control Kit	Tarihi geçmemiş	Uygulanmaz*	Uygulanmaz	En fazla 36 gün**
cobas® omni Lysis Reagent	Tarihi geçmemiş	Yüklemeden itibaren 30 gün**	Uygulanmaz	Uygulanmaz
cobas® omni MGP Reagent	Tarihi geçmemiş	Yüklemeden itibaren 30 gün**	Uygulanmaz	Uygulanmaz
cobas® omni Specimen Diluent	Tarihi geçmemiş	Yüklemeden itibaren 30 gün**	Uygulanmaz	Uygulanmaz
cobas® omni Wash Reagent	Tarihi geçmemiş	Yüklemeden itibaren 30 gün**	Uygulanmaz	Uygulanmaz

* Tek kullanımlık reaktifler.

** Süre, reaktifin cobas® 5800 Sistemine yüklendiği ilk tarihten itibaren ölçülür.

cobas® 6800/8800 Sistemleri için reaktif kullanım gereklilikleri

cobas® 6800/8800 Sistemlerine yüklenen reaktifler, uygun sıcaklıklarda saklanır ve bu reaktiflerin son kullanma tarihi sistem tarafından izlenir. cobas® 6800/8800 Sistemleri, yalnızca Tablo 7 içinde gösterilen koşulların tamamının karşılanması halinde reaktiflerin kullanılmasına izin verir. Sistem, son kullanma tarihi geçmiş olan reaktiflerin kullanımını otomatik olarak engeller. Tablo 7 kullanıcının cobas® 6800/8800 Sistemleri ile sunulan reaktif kullanım koşullarını anlamasını sağlar.

Tablo 7 cobas® 6800/8800 Sistemleri ile sunulan reaktif son kullanım koşulları

Reaktif	Kit son kullanma tarihi	Açık kit stabilitesi	Bu kitin kullanılabilceği çalışma sayısı	Yerleşik stabilite (buzdolabı dışında yerleşik olunan kümülatif süre)
cobas® EBV	Tarihi geçmemiş	İlk kullanımdan itibaren 90 gün	En fazla 40 çalışma	En fazla 40 saat
cobas® EBV/BKV Control Kit	Tarihi geçmemiş	Uygulanmaz*	Uygulanmaz	En fazla 8 saat
cobas® Buffer Negative Control Kit	Tarihi geçmemiş	Uygulanmaz*	Uygulanmaz	En fazla 10 saat
cobas® omni Lysis Reagent	Tarihi geçmemiş	Yüklemeden itibaren 30 gün**	Uygulanmaz	Uygulanmaz
cobas® omni MGP Reagent	Tarihi geçmemiş	Yüklemeden itibaren 30 gün**	Uygulanmaz	Uygulanmaz
cobas® omni Specimen Diluent	Tarihi geçmemiş	Yüklemeden itibaren 30 gün**	Uygulanmaz	Uygulanmaz
cobas® omni Wash Reagent	Tarihi geçmemiş	Yüklemeden itibaren 30 gün**	Uygulanmaz	Uygulanmaz

* Tek kullanımlık reaktifler.

** Süre, reaktifin cobas® 6800/8800 Sistemlerine yüklendiği ilk tarihten itibaren ölçülür.

cobas® 5800 Sistemi için gerekli ek materyaller

Tablo 8 cobas® 5800 Sistemi ile kullanıma yönelik materyaller ve sarf malzemeleri

Materyal	P/N
cobas® omni Processing Plate 24	08413975001
cobas® omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas® omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Uç CORE TIPS, Filtreli, 1 mL	04639642001
Uç CORE TIPS, Filtreli, 300 µL	07345607001
cobas® omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Katı atık torbası veya Gömmeli katı atık torbası	07435967001 veya 08030073001
cobas® omni Sekonder Tüpler 13 × 75 (isteğe bağlı)*	06438776001

* Numune raklarının ayrıntılı sipariş listesi için yerel Roche temsilcinizle iletişime geçin.

cobas® 6800/8800 Sistemleri için gerekli ek materyaller

Tablo 9 cobas® 6800/8800 Sistemleri ile kullanıma yönelik materyaller ve sarf malzemeleri

Materyal	P/N
cobas® omni Processing Plate	05534917001
cobas® omni Amplification Plate	05534941001
cobas® omni Pipette Tips	05534925001
cobas® omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Katı Atık Torbası ve Katı Atık Kabi veya Katı Atık Torbası Tutucu ve Kit Çekmeceli Katı Atık Güncellemesi	07435967001 ve 07094361001 veya 08030073001 ve 08387281001

Gerekli cihazlar ve yazılımlar

cobas® 5800 cihazına **cobas® 5800** Sistemi için **cobas® 5800** yazılımı ve **cobas® EBV** analiz paketi yüklenmelidir. **cobas® 5800** Sistemi için Data Manager yazılımı ve PC, sistemle birlikte sağlanacaktır.

Cihazlara **cobas® 6800/8800** yazılımı ve **cobas® EBV** analiz paketi yüklenmelidir. Sistemde Instrument Gateway (IG) sunucusu sağlanacaktır.

Tablo 10 Cihazlar

Ekipmanlar	P/N
cobas® 5800 Sistemi	08707464001
cobas® 6800 Sistemi (hareket ettirilebilir seçenek)	06379672001
cobas® 6800 Sistemi (Sabit)	05524245001
cobas® 8800 Sistemi	05412722001
Numune hazırlama modülü	06301037001

Ek bilgi için **cobas® 5800** Sistemi veya **cobas® 6800/8800** Sistemleri – Yardım Asistanına ve/veya Kullanıcı Kılavuzlarına başvurun.

Not: Primer ve sekonder numune tüpleri, numune rakları, pıhtılaşmış uçlar için kullanılacak raklar ve cihazlarda kabul edilen rak tepsilerinin ayrıntılı sipariş listesi için yerel Roche temsilciniz ile iletişime geçin.

Önlemler ve taşıma gereklilikleri

Uyarılar ve önlemler

Herhangi bir test prosedüründe olduğu gibi, bu testin iyi performans sağlaması için iyi laboratuvar uygulamaları esastır. Bu testin hassasiyetinin yüksek olması nedeniyle, reaktifleri ve amplifikasyon karışımlarını kontaminasyondan korumaya dikkat edilmelidir.

- Sadece *in vitro* diagnostik kullanım içindir.
- **cobas® EBV**, kanda veya kan ürünlerinde EBV varlığı için bir tarama testi olarak kullanılmak üzere değerlendirilmemiştir.
- Tüm hasta numuneleri, Mikrobiyoloji ve Biyomedikal Laboratuvarlarında Biyogüvenlik (*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*) ve CLSI Dokümanı M29-A4'te tanımlanan iyi laboratuvar uygulamaları kullanılarak bulaşıcı madde gibi değerlendirilmelidir.^{15, 16} Yalnızca bulaşıcı materyaller ve **cobas® EBV** ve **cobas® 5800/6800/8800** Sistemleri kullanımı konusunda uzman olan personel bu prosedürü gerçekleştirmelidir.
- Tüm insan kaynaklı materyaller, bulaşıcı olma potansiyeli açısından değerlendirilmeli ve evrensel önlemler uygulanarak kullanılmalıdır. Dökülme meydana gelirse, yeni hazırlanmış distile veya deiyonize suda %0,6 sodyum veya potasyum hipoklorit çözeltisi ile derhal dezenfekte edin veya uygun tesis prosedürlerini izleyin.
- **cobas® EBV/BKV Control Kit**, insan kanından elde edilmiş plazma içerir. Kaynak materyal PCR yöntemleriyle test edilmiş ve EBV DNA izinin kabul edilebilir seviyelerde düşük olduğunu göstermiştir. Hiçbir bilinen test yöntemi, insan kanından elde edilen ürünlerin enfeksiyöz ajanlar bulaştırmayacağına dair tam bir güvence veremez.
- **Primer tüplerde saklanan tam kanı veya herhangi bir numuneyi dondurmayın.**
- Optimum test performansı için yalnızca temin edilen veya gerekli olduğu belirtilen sarf malzemelerini kullanın.
- Güvenlik Bilgi Formları (SDS) talep halinde bölge Roche temsilcinizden temin edilebilir.
- Testin doğru şekilde gerçekleştirildiğinden emin olmak için temin edilen kılavuzları ve prosedürleri yakından takip edin. Prosedürlerden ve kılavuzlardan herhangi bir sapma, optimum test performansını etkileyebilir.
- Numunelerin kullanılması ve işlenmesi sırasında numune taşınması yeterli şekilde kontrol altına alınmazsa yanlış pozitif sonuçlar meydana gelebilir.
- Yetişkinlerin > %90'ı kronik EBV taşıyıcıları olup tükürüklerinde 10⁸'e kadar EBV kopya/mL saçmaları ve test hassasiyetinin yüksek olması sebebiyle, laboratuvarlarda uygun kontaminasyon kontrolü önlemleri uygulamak önemlidir.¹⁷
- Bu testi kullanırken meydana gelebilecek tüm ciddi olayları yerel yetkili makama ve üreticiye bildirin.

Reaktif kullanımı

- Numunelerin veya kontrollerin taşınmasını önlemek için tüm reaktifleri, kontrolleri ve numuneleri iyi laboratuvar uygulamalarına uygun şekilde kullanın.
- Kullanımdan önce, her bir reaktif kasetini, dilüenti, lizis reaktifini ve yıkama reaktifini görsel olarak inceleyerek sızıntı belirtisi olmadığından emin olun. Herhangi bir sızıntı kanıtı varsa bu materyali test için kullanmayın.

- **cobas® omni** Lysis Reagent, potansiyel olarak tehlikeli bir kimyasal olan guanidin tiyosiyanat içerir. Reaktiflerin cildinize, gözlerinize veya mukoza membranlarına temas etmesinden kaçının. Temas etmeniz durumunda, vakit kaybetmeden bol miktarda suyla yıkayın; aksi halde yanıklar meydana gelebilir.
- **cobas® EBV** test kitleri, **cobas® omni** MGP Reagent ve **cobas® omni** Specimen Diluent, koruyucu olarak sodyum azit içerir. Reaktiflerin cildinize, gözlerinize veya mukoza membranlarına temas etmesinden kaçının. Temas etmeniz durumunda, vakit kaybetmeden bol miktarda suyla yıkayın; aksi halde yanıklar meydana gelebilir. Bu reaktiflerin dökülmesi halinde, silerek kurulamadan önce suyla seyreltin.
- Guanidin tiyosiyanat içeren **cobas® omni** Lysis Reagent reaktifinin sodyum hipoklorit (çamaşır suyu) çözeltisine temas etmesine izin vermeyin. Bu karışım, oldukça toksik bir gaz açığa çıkarabilir.
- Numunelere ve reaktiflere temas eden tüm materyalleri ülke, eyalet gerekliliklerine ve yerel gerekliliklere uygun şekilde atın.

İyi laboratuvar uygulamaları

- Ağzınızla pipetleme yapmayın.
- Belirlenen çalışma ortamlarında yiyecek veya içecek tüketmeyin veya sigara içmeyin.
- Numuneleri ve reaktifleri kullanırken laboratuvar eldiveni, laboratuvar önlüğü ve göz koruması kullanın. Kontaminasyonu önlemek için, numuneler ve **cobas® EBV** kitleri, EBV/BKV Low Positive Control (EBV/BKV L(+))C), EBV/BKV High Positive Control (EBV/BKV H(+))C), **cobas®** Buffer Negative Control (BUF (-)) C) ve **cobas® omni** reaktifleri kullanılmadan önce ve sonra eldivenler değiştirilmelidir. Numunelerle ve kontrollerle işlem yaparken kontamine edici eldiven kullanmaktan kaçının.
- Numuneleri ve kit reaktiflerini kullandıktan ve eldivenleri çıkardıktan sonra ellerinizi iyice yıkayın.
- Distile veya deiyonize suya %0,6 oranında sodyum veya potasyum hipoklorit ekleyerek taze hazırlayacağınız çözeltiyle laboratuvardaki tüm çalışma yüzeylerini iyice temizleyin ve dezenfekte edin. Bunun ardından %70 etanol içeren çözeltiyle yüzeyi silin.
- **cobas® 5800** cihazında veya **cobas® 6800/8800** cihazlarında dökülme meydana gelirse, cihaz yüzeyini düzgün şekilde temizleyip dekontamine etmek için **cobas® 5800** Sistemi veya **cobas® 6800/8800** Sistemleri – Yardım Asistanı ve/veya Kullanıcı Kılavuzu içinde verilen talimatları takip edin.

Numune alma, taşıma ve saklama

Not: Tüm numuneleri ve kontrolleri bulaşıcı madde yarma potansiyeli olduğunu varsayarak kullanın.

Tüm numuneleri belirtilen sıcaklıklarda saklayın.

Numune stabilitesi, yüksek sıcaklıklardan etkilenir.

Sekonder tüplerde dondurulmuş numuneler kullanılıyorsa, numuneler tamamen çözündürülünceye kadar oda sıcaklığında (15–30°C) bırakın ve ardından kısa süreyle karıştırın (ör. 3–5 saniye vorteksleyin) ve tüpün alt kısmındaki numune hacminin tamamını almak için santrifüjleyin.

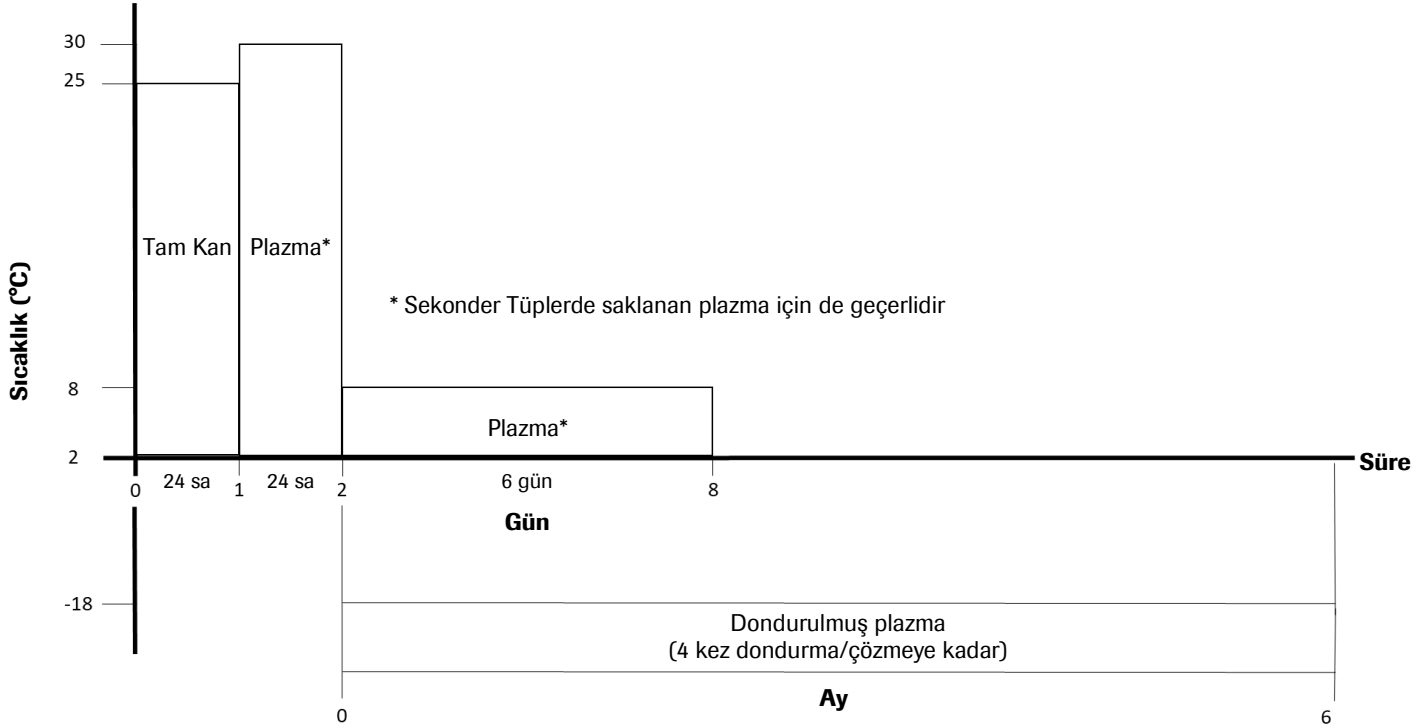
Santrifüjden sonra, hücrelerin plazma içerisine yeniden süspanse olma potansiyeli varsa, cihaz üzerinde işlemiden önce yeniden santrifüjlemeyi değerlendirin.

Numuneler

- Tam kan BD Vacutainer® PPT™ Plasma Preparation Tubes for Molecular Diagnostic Test Methods içerisine veya antikoagülan olarak EDTA kullanılarak steril tüplere alınmalıdır. Numune alma tüpü üreticisinin talimatlarını izleyin. Bkz. Şekil 1.

- BD Vacutainer® PPT™ Plasma Preparation Tubes for Molecular Diagnostic Test Methods veya antikoagülan olarak EDTA içeren steril tüplere alınan tam kan, plazma hazırlamadan önce 2–25°C sıcaklıkta 24 saate kadar saklanabilir ve/veya taşınabilir. Santrifüj işlemi üreticinin talimatlarına göre gerçekleştirilmelidir.
- Ayırma işleminden sonra, plazma numuneleri primer veya sekonder tüplerde 2–30°C'de 24 saat boyunca saklanabilir ve ardından:
 - Primer veya sekonder tüplerde 2–8°C'de 6 güne kadar saklanabilir.
 - Sekonder tüplerde ≤ -18°C'de 6 aya kadar saklanabilir.
- Plazma numuneleri, ≤ -18°C'de dondurulduğunda dört kez dondurma/çözmeye kadar stabildir.

Şekil 1 Numune saklama koşulları



- Numuneler sevk edilecekse numunelerin ve etiyolojik ajanların taşınmasına ilişkin geçerli ülke düzenlemelerine ve/veya ulusal düzenlemelere uygun şekilde ambalajlanıp etiketlenmelidir.

Kullanım talimatları

Prosedürle ilgili notlar

- cobas® EBV reaktiflerini, cobas® EBV/BKV Control Kit'i, cobas® Buffer Negative Control Kit'i veya cobas® omni reaktiflerini son kullanma tarihlerinden sonra kullanmayın.
- Sarf malzemelerini tekrar kullanmayın. Bunlar yalnızca tek kullanımlıktır.
- Doğru cihaz bakımı için cobas® 5800 Sistemi veya cobas® 6800/8800 Sistemleri Yardım Asistanına ve/veya Kullanıcı Kılavuzuna başvurun.

cobas® 5800 Sistemi üzerinde cobas® EBV testini çalıştırma

cobas® EBV, minimum 350 µL numune hacmiyle çalıştırılabilir ve bunun 200 µL kadarı işlenir. Test prosedürü, cobas® 5800 Sistemi Yardım Asistanında ve/veya Kullanıcı Kılavuzunda ayrıntılı şekilde açıklanmıştır. Şekil 2 aşağıda prosedür özetini göstermektedir.

Şekil 2 cobas® 5800 Sistemi üzerinde cobas® EBV test prosedürü

1	Sistemde oturum açın
2	Numuneleri sisteme yükleme: • Numune raklarını sisteme yükleyin • Sistem otomatik olarak hazırlar • Test istemi gönderin
3	Sistem tarafından komut verilen şekilde reaktifleri ve sarf malzemelerini tekrar doldurun: • Teste özel reaktif kasetlerini yükleyin • Kontrol mini raklarını yükleyin • İşleme uçlarını yükleyin • Elüsyon uçlarını yükleyin • İşleme plakalarını yükleyin • Sıvı atık plakalarını yükleyin • Amplifikasyon plakalarını yükleyin • MGP kasetini yükleyin • Numune dilüentini doldurun • Lizis reaktifini doldurun • Yıkama reaktifini doldurun
4	Kullanıcı arayüzünden Start processing (İşlemi başlat) düğmesini seçerek çalışmayı başlatın; sonraki tüm çalışmalar, manuel olarak ertelenmediği sürece otomatik olarak çalıştırılacaktır
5	Sonuçları inceleyip dışa aktarın
6	Tekrar kullanım için gereklyse minimum hacmi yeterli olan tüm numune tüplerini çıkarıp kapaklarını kapatın Cihazı temizleyin: • Boş kontrol mini raklarını çıkarın • Teste özel boş reaktif kasetlerini çıkarın • Amplifikasyon plakası çekmecesini boşaltın • Sıvı atığı boşaltın • Katı atığı boşaltın

cobas® 6800/8800 Sistemleri üzerinde cobas® EBV testini çalıştırma

cobas® EBV, minimum 350 µL numune hacmiyle çalıştırılabilir ve bunun 200 µL kadarı işlenir. Test prosedürü, cobas® 6800/8800 Sistemleri Yardım Asistanında ve/veya Kullanıcı Kılavuzunda ayrıntılı şekilde açıklanmıştır. Şekil 3 aşağıda prosedür özetini göstermektedir.

Şekil 3 cobas® 6800/8800 Sistemlerinde üzerinde cobas® EBV test prosedürü

1	Sistemde oturum açın Sistemi başlatmak için Start (Başlat) düğmesine basın Test istemi gönderin
2	Sistem tarafından komut verilen şekilde reaktifleri ve sarf malzemelerini tekrar doldurun: • Teste özel reaktif kasetini yükleyin • Kontrol kasetlerini yükleyin • Pipet uçlarını yükleyin • İşleme plakalarını yükleyin • MGP reaktifini yükleyin • Amplifikasyon plakalarını yükleyin • Numune dilüentini doldurun • Lizis reaktifini doldurun • Yıkama reaktifini doldurun
3	Numuneleri sisteme yükleme: • Numune raklarını ve pıhtı için kullanılacak rakları numune hazırlama modülüne yükleyin • Numunelerin transfer modülüne kabul edildiğini onaylayın
4	Kullanıcı arayüzünden Start manually (Manuel olarak başlat) düğmesine basarak çalışmayı başlatın veya 120 dakika sonra ya da seri dolu olduğunda otomatik olarak başlatın
5	Sonuçları inceleyip dışa aktarın
6	Tekrar kullanım için gerekliyse minimum hacmi yeterli olan tüm numune tüplerini çıkarıp kapaklarını kapatın Cihazı temizleyin: • Boş kontrol kasetlerini çıkarın • Amplifikasyon plakası çekmecesini boşaltın • Sıvı atığı boşaltın • Katı atığı boşaltın

Sonuçlar

cobas® 5800/6800/8800 Sistemleri, numuneler ve kontroller için EBV DNA konsantrasyonunu otomatik olarak belirler. EBV DNA konsantrasyonu, mililitre başına Uluslararası Birim (IU/mL) olarak ifade edilir.

cobas® 5800 Sistemi ile alınan sonuçların kalite kontrolü ve geçerliliği

- En az 72 saatte bir ve her yeni kit lotunda bir negatif kontrol [(-) Ctrl] ve iki pozitif kontrol, bir düşük pozitif kontrol [EBV/BKV L (+) C] ve bir yüksek pozitif kontrol [EBV/BKV H (+) C] işlenir. Pozitif ve/veya negatif kontroller, laboratuvar prosedürlerine ve/veya yerel düzenlemelere göre daha sık olacak şekilde planlanabilir.
- cobas® 5800** yazılımında ve/veya raporda, sonuç geçerliliğinden emin olmak için uyarı işareti ve bunlarla ilişkili sonuçlar olup olmadığını kontrol edin.

Sonuçların invalidasyonu, negatif veya pozitif kontrol hatalarına göre **cobas® 5800** yazılımı tarafından otomatik olarak gerçekleştirilir.

NOT: **cobas® 5800** Sistemi, her çalışmada kontrol seti (pozitif ve negatif) çalıştırılacak şekilde belirlenmiş standart ayarla temin edilir ancak laboratuvar prosedürlerinize ve/veya yerel düzenlemelere göre her 72 saatten daha az sıklıkta bir kontrol planına yapılandırılabilir. Daha fazla bilgi için Roche servis mühendisiniz ve/veya Roche müşteri teknik destek birimi ile iletişime geçin.

cobas® 5800 Sistemindeki kontrol sonuçları

Kontrollerin sonuçları, “Controls” uygulamasında **cobas® 5800** yazılımı içinde gösterilir.

- Kontrolün tüm Hedefleri geçerli olarak rapor edilirse kontroller, “Control result” (Kontrol sonucu) sütununda “Valid” (Geçerli) olarak işaretlenir. Kontrolün tüm Hedefleri veya bir Hedefi geçersiz olarak rapor edilirse kontroller, “Control result” sütununda “Invalid” (Geçersiz) olarak işaretlenir.
- “Invalid” işaretli kontroller, “Flags” (Uyarı İşaretleri) sütununda bir uyarı işareti gösterir. Uyarı işareti bilgileri dahil olmak üzere kontrolün neden geçersiz olarak rapor edildiğine dair daha fazla bilgi, ayrıntılı görünüm içinde gösterilir.
- Kontrollerden biri geçersiz olursa, tüm kontrollerin ve tüm ilişkili numunelerin test işleminin tekrarlanması gerekir.

cobas® 6800/8800 Sistemleri ile alınan sonuçların kalite kontrolü ve geçerliliği

- Her seri ile bir negatif kontrol [(-) Ctrl] ve iki pozitif kontrol, bir düşük pozitif kontrol [EBV/BKV L(+)C] ve bir yüksek pozitif kontrol [EBV/BKV H(+)C] işlenir.
- cobas® 6800/8800** yazılımında ve/veya raporda, seri geçerliliğinden emin olmak için uyarı işareti ve bunlarla ilişkili sonuçlar olup olmadığını kontrol edin.
- Bir negatif kontrol ve iki pozitif kontrolden: EBV/BKV L(+)C, EBV/BKV H(+)C oluşan üç kontrolün hiçbirinde işaret yoksa seri geçerlidir. Negatif kontrol sonucu (-) Ctrl olarak, yüksek pozitif kontroller EBV/BKV L(+)C ve EBV/BKV H(+)C olarak görüntülenir.

Sonuçların invalidasyonu, negatif veya pozitif kontrol hatalarına göre **cobas® 6800/8800** yazılımı tarafından otomatik olarak gerçekleştirilir.

cobas® 6800/8800 Sistemlerindeki kontrol uyarı işaretleri

Tablo 11 Negatif ve pozitif kontroller için kontrol uyarı işaretleri

Negatif kontrol	Uyarı işareti	Sonuç	Yorum
(-) Ctrl	Q02 (Kontrol serisi hatalı)	Geçersiz	Geçersiz bir sonuç veya negatif kontrol için hesaplanan titre sonucu negatif değil.
Pozitif kontrol	Uyarı işareti	Sonuç	Yorum
EBV/BKV L(+)C	Q02 (Kontrol serisi hatalı)	Geçersiz	Geçersiz bir sonuç veya düşük pozitif kontrol için hesaplanan titre sonucu belirlenen aralık içinde değil.
EBV/BKV H(+)C	Q02 (Kontrol serisi hatalı)	Geçersiz	Geçersiz bir sonuç veya yüksek pozitif kontrol için hesaplanan titre sonucu belirlenen aralık içinde değil.

Kontrol serisi geçersizse etkilenen serideki tüm numunelerin testlerini tekrarlayın.

Sonuçların yorumlanması

Geçerli bir seri için, cobas® 5800 ve cobas® 6800/8800 Sistemleri yazılımlarında ve/veya raporlarında her bir numuneyi uyarı işaretleri açısından kontrol edin. Sonuç yorumu aşağıdaki şekilde olmalıdır:

- Geçerli bir seri hem geçerli hem de geçersiz numune sonuçlarını içerebilir.

Tablo 12 Ayrı hedef sonuç yorumu için hedef sonuçları

Sonuçlar	Yorum
Target Not Detected	EBV DNA saptanmadı. Sonuçları "EBV saptanmadı" olarak raporlayın.
< Titer Min ^a	Hesaplanan titre, testin Alt Ölçüm Sınırının (LLOQ) altında. Sonuçları "EBV saptandı, (Titer Min) altında" olarak raporlayın. Titer Min = 35,0 IU/mL
Titre	Hesaplanan titre, testin Doğrusal Aralığı içinde – Titer Min'den büyük veya eşit ve Titer Maks'tan küçük veya eşit. Sonuçları "(Titer) EBV saptandı" olarak raporlayın.
> Titer Max ^b	Hesaplanan titre, testin Üst Ölçüm Sınırının (ULOQ) üzerinde. Sonuçları "EBV saptandı, (Titer Maks) üzerinde" olarak raporlayın. Titer Maks = 1,0E+08 IU/mL

^a Numune sonuçları "< Titer Min" (Saptanan Hedef < LLOQ), diğer klinik verilerin bağlamında yorumlanmalıdır ve tedavi kararları için tek dayanak olmamalıdır.

^b Numune sonucu "> Titer Max", üst ölçüm sınırının (ULOQ) üzerindeki titrelerle saptanan EBV pozitif numuneleri anlamına gelir. Kantitatif bir sonuç isteniyorsa, orijinal numune EBV negatif EDTA içeren insan plazması ile seyreltilmelidir ve test tekrarlanmalıdır. Raporlanan test sonucunu dilüsyon faktörü ile çarpın.

cobas® 5800 Sistemindeki sonuçların yorumlanması

Numunelerin sonuçları, “Results” uygulamasında cobas® 5800 yazılımı içinde gösterilir.

Geçerli bir kontrol serisi için, cobas® 5800 yazılımında ve/veya raporda her bir numuneyi uyarı işaretleri açısından kontrol edin. Sonuç yorumu aşağıdaki şekilde olmalıdır:

- Kontrol Hedefi Sonuçlarının tümü geçerli olarak bildirildiyse, geçerli bir kontrol serisi ile ilişkili olan numuneler “Control result” (Kontrol sonucu) sütununda “Valid” (Geçerli) şeklinde gösterilir. Kontrol Hedefi Sonuçlarının tümü geçersiz olarak bildirildiyse, başarısız bir kontrol serisi ile ilişkili olan numuneler “Control result” sütununda “Invalid” (Geçersiz) şeklinde gösterilir.
- Bir numune sonucunun ilişkili kontrolleri geçersizse, numune sonucuna aşağıdaki gibi belirli bir uyarı işareti eklenir:
 - Q05D: Geçersiz pozitif kontrol nedeniyle sonuç validasyonu hatası
 - Q06D: Geçersiz negatif kontrol nedeniyle sonuç validasyonu hatası
- Ayrı numune hedef sonucu için “Results” (Sonuçlar) sütununda yer alan değerler, yukarıda Tablo 11 içinde gösterilen şekilde yorumlanmalıdır.

Bir veya daha fazla numune hedefi “Invalid” (Geçersiz) olarak işaretlendiyse cobas® 5800 yazılımı, “Flags” (Uyarı İşaretleri) sütununda bir uyarı işareti görüntüler. Uyarı işareti bilgileri dahil olmak üzere numune hedefinin/hedeflerinin neden geçersiz olarak rapor edildiğine dair daha fazla bilgi, ayrıntılı görünüm içinde gösterilmiştir.

cobas® 6800/8800 Sistemlerindeki sonuçların yorumlanması

Geçerli bir seri için, cobas® 6800/8800 Sistemleri yazılımında ve/veya raporda her bir numuneyi uyarı işaretleri açısından kontrol edin. Sonuç yorumu aşağıdaki şekilde olmalıdır:

- İstenen tüm hedef sonuçları geçerli sonuçlar bildirdiyse, numuneler “Valid” (Geçerli) sütununda “Yes” (Evet) olarak işaretlenir. “Valid” sütununda “No” (Hayır) olarak işaretlenmiş numuneler, ek yorumlama ve eylem gerektirebilir.
- Ayrı numune hedef sonucunun değerleri, yukarıda Tablo 12 içinde gösterilen şekilde yorumlanmalıdır.

Prosedür ile ilgili sınırlamalar

- cobas® EBV test, yalnızca cobas® 5800/6800/8800 Sistemleri ile kullanıma yönelik cobas® EBV/BKV Control Kit, cobas® Buffer Negative Control Kit, cobas® omni MGP Reagent, cobas® omni Lysis Reagent, cobas® omni Specimen Diluent ve cobas® omni Wash Reagent ile birlikte kullanım için değerlendirilmiştir.
- Güvenilir sonuçlar, doğru numune alma, saklama ve kullanım prosedürlerine dayalıdır.
- Bu test, yalnızca serum ve EDTA içeren plazma için doğrulanmıştır. Başka numune tiplerinin cobas® EBV ile test edilmesi hatalı sonuçlara neden olabilir. Plazma viral yük ölçümleri, diğer numune tiplerinde doğrudan karşılaştırılamaz.
- EBV DNA Kantifikasyonu, numune alma yöntemlerinden, hasta faktörlerinden (yaş, semptomların varlığı) ve/veya enfeksiyon evresinden etkilenebilir.
- Diğer moleküler testlerde olduğu gibi, cobas® EBV için hedef bölgeler içinde yer alan mutasyonlar, primer ve/veya prob bağlanmasını etkileyerek virüs kantifikasyonunun düşük çıkmasına veya virüs varlığının saptanamamasına neden olabilir.

- Teknolojiler arasındaki içsel farklılıklardan ötürü, bir teknolojiye başka birine geçmeden önce kullanıcıların, teknoloji farklılıklarını değerlendirmek için kendi laboratuvarlarında yöntem korelasyon çalışmaları yapmaları önerilir. Kullanıcılar, kendi belirli politikalarını/prosedürlerini uygulamalıdır.
- cobas® EBV**'nin kanda veya kan ürünlerinde EBV varlığı için bir tarama testi olarak kullanılması amaçlanmamıştır.

Klinik olmayan performans değerlendirmesi

cobas® 6800/8800 Sistemleri üzerinde gerçekleştirilen temel performans özellikleri

Saptama Limiti (LoD)

DSÖ Uluslararası Standardı

cobas® EBV saptama limiti, NIBSC'den (NIBSC 09/260) alınan Nükleik Asit Amplifikasyon Teknikleri için Epstein-Barr Virüsü 1. DSÖ Uluslararası Standardının (1. EBV DSÖ Uluslararası Standardı) seri dilüsyonlarının analiziyle, EBV negatif EDTA içeren insan plazmasında belirlenmiştir. Altı konsantrasyon seviyesi artı bir boş numuneden oluşan paneller, üç **cobas® EBV** reaktif lotunda birden fazla çalışma, gün, operatör ve cihaz ile test edilmiştir.

EDTA içeren plazma sonuçları Tablo 13 ile Tablo 15 arasında gösterilmiştir. Çalışma, hassasiyeti en düşük olan lotta, EDTA içeren plazmada %95 eşleşme oranının beklendiği PROBIT konsantrasyonun 18,8 IU/mL, %95 güven aralığı 14,5 ila 27,5 IU/mL olduğunu ortaya koymuştur. EDTA içeren plazmada eşleşme oranı $\geq$ %95 olan en düşük konsantrasyon 20,0 IU/mL'di.

Tablo 13 EDTA içeren plazmada saptama limiti, Lot 1

Girdi titre konsantrasyonu (EBV DNA IU/mL)	Geçerli kopya sayısı	Pozitif sayısı	% cinsinden eşleşme oranı
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
%95 isabet oranında PROBIT ile LoD	18,8 IU/mL %95 güven aralığı: 14,5–27,5 IU/mL		

Tablo 14 EDTA içeren plazmada saptama limiti, Lot 2

Girdi titre konsantrasyonu (EBV DNA IU/mL)	Geçerli kopya sayısı	Pozitif sayısı	% cinsinden eşleşme oranı
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
%95 isabet oranında PROBIT ile LoD	12,4 IU/mL %95 güven aralığı: 10,0–17,0 IU/mL		

Tablo 15 EDTA içeren plazmada saptama limiti, Lot 3

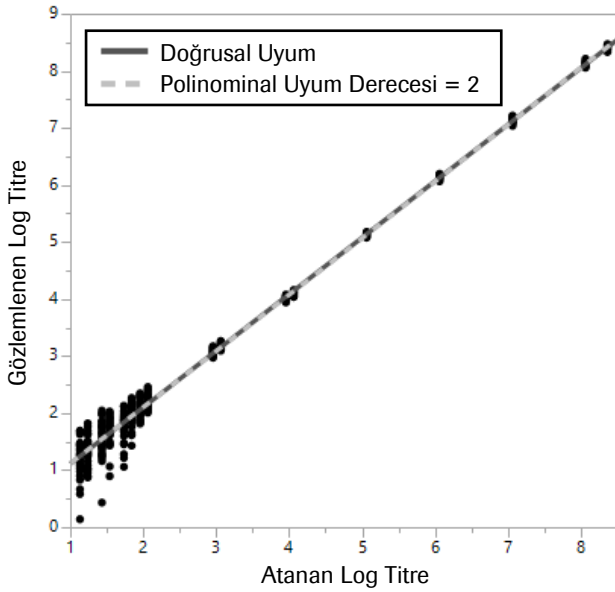
Girdi titre konsantrasyonu (EBV DNA IU/mL)	Geçerli kopya sayısı	Pozitif sayısı	% cinsinden eşleşme oranı
50,0	63	63	100,0
35,0	63	63	100,0
20,0	63	62	98,4
10,0	63	48	76,2
5,0	63	38	60,3
2,5	63	26	41,3
0,0	63	0	0,0
%95 isabet oranında PROBIT ile LoD	18,6 IU/mL %95 güven aralığı: 14,4–27,1 IU/mL		

Doğrusal aralık

cobas® EBV'nin doğrusallığı, testin doğrusal aralığını kapsayan baskın EBV genotipi 1 DNA'sına sahip 17 panel üyesini içeren bir dilüsyon serisi kullanılarak değerlendirilmiştir. Doğrusal aralığın tamamını kapsayan 11 panel üyesi hazırlamak için yüksek titreli lambda DNA stoku kullanılmıştır. Doğrusal aralığın orta ve düşük seviyelerini kapsayan 6 panel üyesi hazırlamak için klinik bir numune kullanılmıştır.

Panel üyelerinin her biri, **cobas® EBV** reaktiflerinin üç lotu genelindeki 36 tekrarlamada test edilmiştir ve çalışmanın sonucu Şekil 4 içinde sunulmaktadır.

cobas® EBV'nin 1,40E+01 IU/mL'den 2,30E+08 IU/mL'ye kadar doğrusal olduğu ortaya koyulmuştur ve EDTA içeren insan plazmasında daha uyumlu, $\pm 0,1 \log_{10}$ 'a eşit veya daha düşük bir doğrusal olmayan regresyondan mutlak sapma gösterilmiştir (bkz. Şekil 4). Doğrusal aralık boyunca, testin doğruluğu $\pm 0,2 \log_{10}$ içindedir.

Şekil 4 EDTA içeren plazmada doğrusal aralığın tayini

Kesinlik – laboratuvar içi

cobas® EBV kesinliği, EBV negatif EDTA içeren plazma içindeki yüksek titreli EBV DNA'sının (genotip 1) seri dilüsyonları analiz edilerek belirlenmiştir. Altı dilüsyon seviyesi, 12 gün boyunca üç cihaz kullanılarak ve üç operatör tarafından uygulanan üç lot **cobas®** EBV reaktifinde her seviye için 72 kopya halinde test edilmiştir. Her numune, tam otomatik **cobas®** 6800/8800 Sistemlerinde **cobas®** EBV prosedürünün tamamı boyunca gerçekleştirilmiştir. Dolayısıyla, burada raporlanan kesinlik, test prosedürünün tüm yönlerini temsil eder. Sonuçlar, Tablo 16 içinde gösterilmiştir.

cobas® EBV, 1,08E+02 IU/mL ila 5,40E+07 IU/mL konsantrasyon aralığında test edilen üç reaktif lotu için yüksek kesinlik göstermiştir.

Tablo 16 **cobas®** EBV'nin laboratuvar içi kesinliği

Nominal konsantrasyon [IU/mL]	Belirlenen konsantrasyon [IU/mL]	EDTA içeren plazma			
		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Tüm lotlar
		SD	SD	SD	Havuzlanmış SD
5,00E+07	5,40E+07	0,03	0,04	0,04	0,04
1,00E+06	1,08E+06	0,02	0,03	0,02	0,02
1,00E+05	1,08E+05	0,02	0,02	0,03	0,02
1,00E+04	1,08E+04	0,04	0,02	0,03	0,03
1,00E+03	1,08E+03	0,05	0,05	0,05	0,05
1,00E+02	1,08E+02	0,17	0,18	0,15	0,17

Genotip doğrulanması

cobas® EBV'nin EBV genotipi 2 üzerindeki performansı, aşağıdaki şekilde değerlendirilmiştir:

- Saptama limitinin doğrulanması
- Doğrusal aralığın doğrulanması

Genotip 2 için saptama limitinin doğrulanması

Genotip 2 EBV DNA'sı, EBV negatif EDTA içeren plazma içinde üç farklı konsantrasyon seviyesine seyreltilmiştir. Eşleşme oranı tayini, her seviye için 63 kopya ile gerçekleştirilmiştir. Testler; cobas® EBV reaktiflerinin üç lotu, birden fazla çalışma, gün, operatör ve cihaz ile yapılmıştır. Sonuçlar, cobas® EBV testinin 18,8 IU/mL konsantrasyondaki genotip 2 EBV DNA'sını $\geq$ %95 eşleşme oranıyla saptadığını doğrulamaktadır.

Genotip 2 için doğrusal aralığın doğrulanması

cobas® EBV için genotiplerin doğrusallığının doğrulanması çalışmasında kullanılan dilüsyon serileri, testin doğrusal aralığını kapsayan sekiz panel üyesinden oluşmaktadır. Testler, cobas® EBV reaktifinin üç lotu ile gerçekleştirilmiştir ve EDTA içeren plazmada seviye başına 12 kopya test edilmiştir.

cobas® EBV doğrusal aralığı genotip 2 için doğrulanmıştır.

Özgüllük

cobas® EBV'in özgüllüğü, ayrı donörlerden EBV negatif EDTA içeren plazma numunelerinin analiz edilmesiyle saptanmıştır. Üç lot cobas® EBV reaktifi ile yüz on bir ayrı EDTA içeren plazma numunesi test edilmiştir. EBV DNA için test edilen tüm numunelerden negatif sonuç alınmıştır. Test panelinde cobas® EBV'nin özgüllüğü, plazmada ve serumda %100'dür (alt tek taraflı %95 güven aralığı %97,08).

Analitik özgüllük

cobas® EBV'nin analitik özgüllüğü, bakteriler ve maya için 1,00E+06 birim/mL (hücre/mL, CFU/mL, IFU/mL, CCU/mL) ve virüsler için 3,00E+05 ile 1,00E+06 birim/mL (IU/mL, kopya/mL, hücre/mL, TCID₅₀/mL) konsantrasyona seyreltilen bir mikroorganizmalar paneli ve EBV DNA pozitif ve EBV DNA negatif EDTA içeren plazma kullanılarak değerlendirilmiştir. Test edilen spesifik organizmalar Tablo 17 içinde listelenmektedir. Panel üyelerinin her biri **cobas® EBV** ile değerlendirilmiştir. EBV olmayan patojenlerden hiçbirinin test performansı ile interferans oluşturmadığı gözlemlenmiştir.

Tablo 17 Çapraz reaktivite için test edilen mikroorganizmalar

Virüsler	Bakteriler	Maya
Adenovirüs tip 5	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
BK polyomavirüs	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Sitomegalovirüs	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatit B virüsü	<i>Clostridium perfringens</i>	-
Hepatit C virüsü	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
<i>Herpes Simplex</i> virüsü tip 1	<i>Escherichia coli</i>	-
<i>Herpes Simplex</i> virüsü tip 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
İnsan Herpes virüsü tip 6	<i>Listeria monocytogenes</i>	-
İnsan Herpes virüsü tip 7	<i>Mycobacterium avium</i>	-
İnsan Herpes virüsü tip 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
İnsan immünyetmezlik virüsü 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
İnsan immünyetmezlik virüsü 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
İnsan Papillomavirüsü	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
JC virüs	<i>Salmonella enterica</i>	-
Parvovirüs B19 Simian virüs 40	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Varicella Zoster virüs	-	-

Analitik özgüllük – etkileşimde bulunan maddeler

Trigliseritler (33,0 g/L), konjuge bilirubin (0,2 g/L), konjuge olmayan bilirubin (0,2 g/L), albümin (60,0 g/L), hemoglobin (2,0 g/L) ve insan DNA'sının (2 mg/L) artmış seviyeleri, EBV DNA'nın varlığında ve yokluğunda test edilmiştir. Test edilen endojen interferansların, **cobas® EBV**'nin test performansında interferansa neden olmadığı gösterilmiştir.

Ayrıca, Tablo 18 içinde listelenen ilaç bileşikler, EBV DNA varlığında ve yokluğunda üç kat C_{max} değerinde test edilmiştir.

Etkileşimde bulunma potansiyeli olan maddelerin hiçbirinin test performansında interferansa neden olmadığı gösterilmiştir.

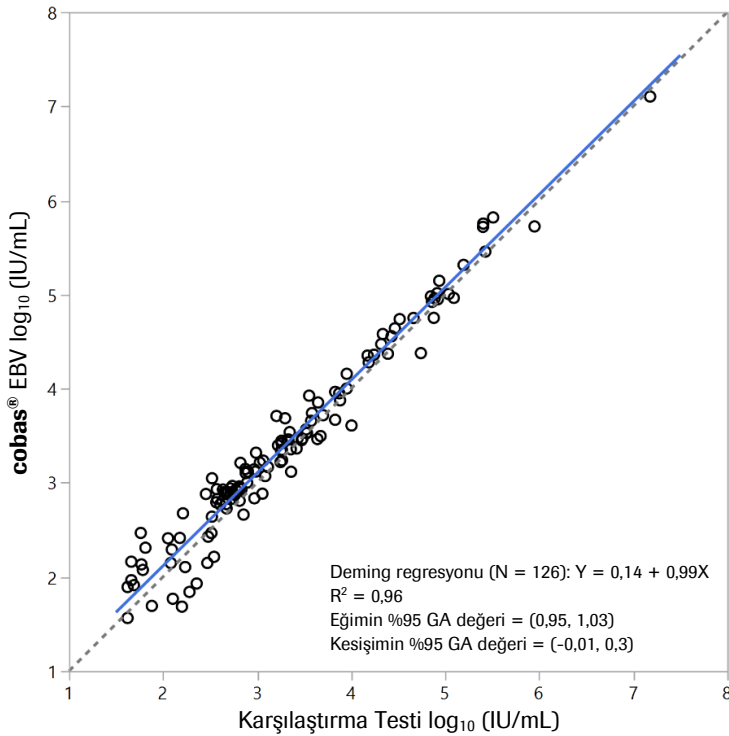
Tablo 18 cobas® EBV ile EBV DNA'nın kantitasyonunda interferans için test edilen ilaç bileşikleri

İlaç sınıfı	Jenerik ilaç adı	
Antimikrobiyal	Sefotetan	Sülfametoksazol
	Klavulanat potasyum	Tikarsilin disodyum
	Flukonazol	Trimetoprim
	Piperasilin	Vankomisin
	Tazobaktam sodyum	Mikafungin
Herpes Virüslerinin Tedavisi için Bileşikler	Gansiklovir	Sidofovir
	Valgansiklovir	Foskarnet
	Asiklovir	Letermovir
İmmünosupresan	Azatiyoprin	Prednizon
	Siklosporin	Sirolimus
	Everolimus	Takrolimus
	Mikrofenolat mofetil	Mikrofenolik asit

Yöntem korelasyonu

EBV enfeksiyonu olan hastalardan alınmış EDTA içeren plazma numuneleri analiz edilerek cobas® EBV'nin performansı ile karşılaştırma testi kıyaslanmıştır. İki test için de kantitasyon aralığı dahilinde olan EDTA içeren plazma numuneleri, tekli kopyalar olarak test edilmiştir. Deming regresyon analizi gerçekleştirilmiştir.

Deming regresyonu sonuçları Şekil 5 içinde gösterilmiştir.

Şekil 5 cobas® EBV'nin karşılaştırma testiyle kıyaslandığı regresyon analizi

Tüm sistem hatası

cobas® EBV için tüm sistem hatası oranı, EBV pozitif klinik numunesi eklenmiş 100 kopya EDTA içeren plazma test edilerek saptanmıştır. Bu numuneler $3 \times \text{LoD}$ konsantrasyonda test edilmiştir.

Bu çalışmanın sonuçları, tüm kopyaların geçerli ve EBV hedefi için pozitif olduğunu belirlemiş ve tüm sistem hata oranı %0 olarak bulunmuştur (üst tek taraflı %95 güven aralığı %2,95).

Çapraz kontaminasyon

cobas® EBV için çapraz kontaminasyon oranı, EBV negatif matris numunesinin 240 kopyası ve yaklaşık $2,00\text{E}+07$ IU/mL'de yüksek titreli EBV numunesinin 225 kopyası test edilerek belirlenmiştir. Dama tahtası konfigürasyonunda pozitif ve negatif numunelerle toplamda 5 çalışma yapılmıştır.

Negatif numunenin 240 kopyasının tamamı negatiftir ve bunun sonucunda, çapraz kontaminasyon oranı %0 olarak saptanmıştır (üst tek taraflı %95 güven aralığı %1,24).

cobas® 6800/8800 Sistemleri üzerinde gerçekleştirilen klinik performans değerlendirmesi

cobas® EBV'nin yeniden üretilebilirliği

cobas® EBV'nin yeniden üretilebilirliği, rutin klinik testte bildirilen sonuçları etkileyebilecek faktörler (reaktif lotu, test merkezi, seri ve test etme günleri) genelinde değerlendirilmiştir. 3 test merkezinde 3 reaktif lotu, pozitif ve negatif numune panelleri kullanılarak toplamda 270 testte (kontroller hariç) değerlendirme yapılmıştır. Paneller, EBV VCA IgG negatif olan ve plazma NAT salma protokolüyle EBV için test edilip EBV DSÖ uluslararası standardı, EBV hücre kültürü süpernatantı veya EBV DNA'lı lambda fajmid eklenmiş EDTA içeren plazmadan oluşturulmuştur. Merkezlerin her birinde ikişer operatör, her bir reaktif lotunu 5 gün boyunca test etmiştir. Her gün operatör başına iki çalışma (1 çalışma = 1 seri; 1 seri = 1 panel + 3 kontrol) yapılmış ve her çalışmada her bir panel üyesinin 3 kopyası test edilmiştir. Değerlendirme sonuçları Tablo 19 içinde özetlenmiştir.

Tablo 19 Pozitif panel üyesine göre toplam varyansın atfedilebilir yüzdesi (%TV), toplam kesinlik Standart Sapması (SD) ve EBV DNA konsantrasyonu ($\log_{10}$ IU/mL) için lognormal CV (%)

Beklenen EBV DNA Konsantrasyonu ($\log_{10}$ IU/mL)	Gözlemlenen Ortalama ^a EBV DNA Konsantrasyonu ($\log_{10}$ IU/mL)	Test Sayısı ^b	Lot %TV ^c (CV%) ^d	Tesis %TV ^c (CV%) ^d	Gün/ Operatör %TV ^c (CV%) ^d	Seri %TV ^c (CV%) ^d	Seri İçi %TV ^c (CV%) ^d	Toplam Kesinlik SD ^e	Toplam Kesinlik 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 SAS MIXED prosedürü kullanılarak hesaplanmıştır.

^b Saptanabilir DNA seviyesi olan geçerli testlerin sayısı.

^c %TV = Toplam Varyansın yüzdelik katkısı.

^d CV% = varyasyon katsayısının lognormal yüzdesi = $\sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

^e SAS MIXED prosedüründeki toplam değişkenlik kullanılarak hesaplanır.

Not: Tabloya yalnızca saptanabilir DNA seviyeleri olan sonuçlar dahil edilmiştir. SD = standart sapma.

CV = varyasyon katsayısı; EBV = Epstein Barr Virüsü.

cobas® EBV, ilgili karşılaştırma konsantrasyonunda kabul edilebilir bir klinik yeniden üretilebilirlik göstermiştir. Ayrıca sistem $3 \times$ LLoQ numunelerin %100'ünü saptamıştır. **cobas® 6800** ve **cobas® 8800** Sistemleri aynı modüler tasarıma sahiptir ve **cobas® EBV** kullanıldığında eşdeğerlik göstermiştir. Aynı gönüllüden yapılan 2 ölçüm arasındaki fark için tahmini %95 güven limitlerinin (CL'ler) hepsi $\pm 0,53 \log_{10}$ IU/mL değerindeydi. Bu, testin klinik olarak önemli olduğu düşünülen EBV DNA seviyelerindeki değişiklikleri değerlendirebildiğine işaret etmektedir.

cobas® 6800/8800 Sistemlerinde negatif panel üyeleri için yapılan 270 geçerli testten 14 numune (%5,19), < LLoQ pozitiflik saptaması göstermiştir. Sonuçlar belli bir cihaz/merkez veya reaktif lotuyla ilişkilendirilmemiştir. Kısmen iç içe PCR ve DNA sekanslama, bu numunelerde EBV DNA'nın varlığını doğrulamıştır.

cobas® EBV'nin performansı

Üç test merkezinde, EBV enfeksiyonu olan ve olmayan hastaların klinik numunelerindeki (seyreltilmiş ve seyreltilmemiş) ve kültürlenmiş EBV virüsü katılmış EDTA içeren yapay plazma numunelerindeki EBV DNA seviyeleri ölçülmüş ve yaygın kullanılan, laboratuvarda geliştirilmiş nükleik asit testiyle (LDT) (karşılaştırma testi EBV LDT) karşılaştırılarak **cobas® EBV**'nin klinik performansı daha ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmiştir. **cobas® EBV** ve karşılaştırma amaçlı EBV testi ile test edilen numunelerden toplam 464'ü (72 transplantasyon hastasından alınan 439 seyreltilmemiş veya seyreltilmiş klinik numune ve 25 yapay numune) her iki testte de geçerli ve klinik uyum analizi bakımından değerlendirilebilir olmuştur.

Tablo 20 cobas® EBV'nin ve karşılaştırma testi LDT'nin EBV DNA seviyesi sonuçları arasında uyum analizi

cobas® EBV (log ₁₀ IU/mL)	Karşılaştırma Testi EBV LDT (log ₁₀ IU/mL) Hedef Saptanmadı	Karşılaştırma Testi EBV LDT (log ₁₀ IU/mL) < LLoQ (< 2)	Karşılaştırma Testi EBV LDT (log ₁₀ IU/mL) 2 ila < 2,6	Karşılaştırma Testi EBV LDT (log ₁₀ IU/mL) 2,6 ila < 3,2	Karşılaştırma Testi EBV LDT (log ₁₀ IU/mL) 3,2 ila 3,8	Karşılaştırma Testi EBV LDT (log ₁₀ IU/mL) > 3,8	Toplam
Hedef Saptanmadı	95	17	17	0	0	0	129
< LLoQ (< 2)	39	46	75	11	0	0	171
2 ila < 2,6	1	2	16	37	6	0	62
2,6 ila < 3,2	1	0	5	15	30	1	52
3,2 ila 3,8	0	0	0	0	9	11	20
> 3,8	0	0	0	0	1	29	30
Toplam	136	65	113	63	46	41	464
Sütun Uyum (%)	(134/136) %98,5	(65/65) %100	(96/113) %85,0	(52/63) %82,5	(40/46) %87,0	(40/41) %97,6	-
(%95 GA skoru) ^a	(%94,8, %99,6)	(%94,4, %100)	(%77,2, %90,4)	(%71,4, %90,0)	(%74,3, %93,9)	(%87,4, %99,6)	-

Not: LLoQ = karşılaştırma testi EBV LDT'nin alt ölçme sınırı (100 IU/mL).

Karşılaştırma testi EBV LDT'nin Standart Sapmasının 0,3 log₁₀ IU/mL olduğu tahmin edilmektedir (EBV LDT analitik kesinlik çalışması).

Klinik uyum analizi için değerlendirilebilir olan eşlenmiş numuneler bu tabloya dahil edilmiştir.

^a Tüm numuneler arasındaki varsayılan bağımsızlık.

GA = güven aralığı.

Sonuçları istikrarlı bir şekilde 1 log₁₀ IU/ml DNA'dan fazla kaçık olan gönüllülerin temsili numunelerindeki DNA sekanslaması, cobas® EBV testinin primer veya prob hedeflerinden herhangi biri için herhangi bir sekans uyumsuzluğu göstermemiştir.

Uyumsuz sonuçlar, çaprazdan (gölgelemeyle belirtilmiştir) bir kutudan daha uzak olan sonuçlar olarak tanımlanmıştır. LDT Sütun Uyumuna göre Hedef Saptanmadı (HS) için, cobas® EBV Hedef Saptanmadı ve < LLoQ (< 2) hücreleri birleştirilmiştir. HS sütunu için yan yana < LLoQ ve HS hücreleri konmasının sebebi, HS ile < LLoQ arasındaki farkın klinik bakımdan anlamlı olmaması ve bunların analitik olarak, ölçüm aralığının rastgele hatadan etkilenebilen alt ucunda olmasıdır.

cobas® EBV ile Negatif Uyum Yüzdesinin (NPA) tahmin edilmesi için alınan 43 karşılaştırma testi EBV LDT negatif numunesinden 41'inde cobas® EBV testiyle negatif sonuç alınmıştır, bu nedenle NPA %95,4 olup, %95 Tam GA %84,2 ila %99,4'tür. İki karşılaştırma testi EBV LDT negatif numunesi, cobas® EBV'de pozitif (< LLoQ) sonuç vermiştir ve destekleyici seroloji testine göre EBV VCA IgG ve EBNA-1 IgG için seropozitifdir.

cobas® EBV ile karşılaştırma testi EBV LDT arasındaki uyum farklı klinik eşikler kullanılarak da değerlendirilmiştir.

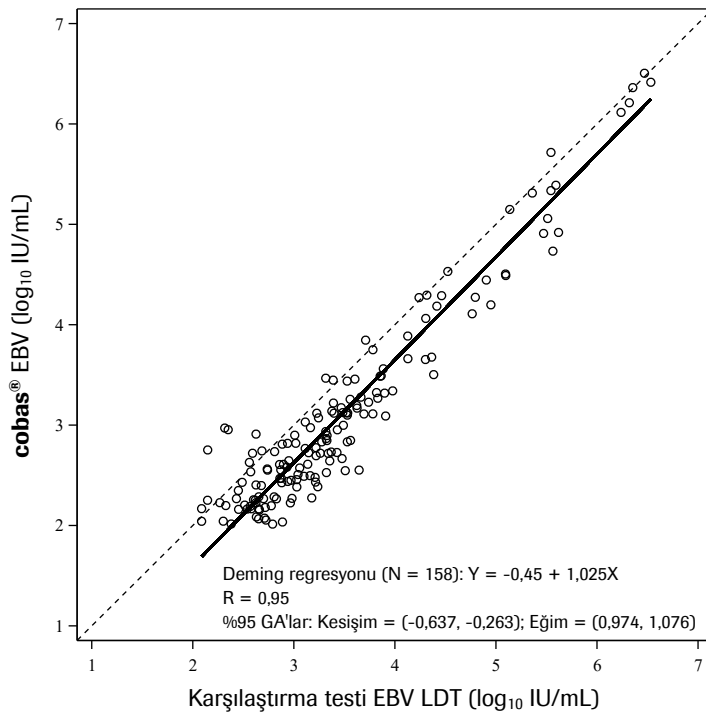
Tablo 21 Tüm numuneler için farklı eşikler kullanıldığında **cobas®** EBV ile karşılaştırma testi EBV LDT arasındaki uyumun özeti

	Uyum Yüzdesi < Eşik %95 GA ^b (n/N)	Uyum Yüzdesi ≥ Eşik %95 GA ^b (n/N)
Hedef Saptanmadı	%98,5 (134/136) (%94,8, %99,6)	%89,6 (294/328) (%85,9, %92,5)
LLoQ ^a (2,0 log ₁₀ IU/mL)	%98,0 (197/201) (%95,0, %99,2)	%60,8 (160/263) (%54,8, %66,5)
3,0 log ₁₀ IU/mL	%100,0 (363/363) (%99,0, %100,0)	%64,4 (65/101) (%54,6, %73,0)
4,0 log ₁₀ IU/mL	%100,0 (431/431) (%99,1, %100,0)	%84,8 (28/33) (%69,1, %93,3)

^a LLoQ = karşılaştırma testi EBV LDT'nin alt ölçme sınırı (100 IU/mL).

^b GA = güven aralığı.

cobas® EBV ile test edilen tüm numunelerden, karşılaştırma amaçlı EBV testinde EBV pozitif çıkan numune sayısı toplam 158'dir (28 transplantasyon hastasından alınan 139 seyreltilmemiş veya seyreltilmiş klinik numune ve 19 yapay numune) ve bunlar üç test merkezinde korelasyon analizi için değerlendirilebilir olmuştur.

Şekil 6 Tüm numuneler için **cobas®** EBV ve karşılaştırma testi EBV LDT arasındaki korelasyon: DNA seviyelerinin Deming doğrusal regresyon grafiği (log₁₀ IU/mL)

DNA seviyesi farklarına yönelik ilave yanlışlık grafiği analizi, örtüşen doğrusal aralık genelinde her iki test arasındaki farkın sabit olduğunu göstermiştir. Yanlışlık grafiğindeki uydurulmuş doğru kesişiminin %95 GA değeri -0,456 ila 0,104 olmuştur ve bu değer, $\pm 0,6$ log₁₀ IU/mL ($\pm$ karşılaştırma testi EBV LDT'nin analitik kesinlik standart sapmasının 2 katı) dahilindedir.

Ayrıca ortalama yanlışlık -0,364 log₁₀ IU/mL olarak tahmin edilmektedir ve 3 ve 4 log₁₀ IU/mL DNA seviyelerine sahip numuneler için iki test arasındaki sistematik fark sırasıyla -0,352 log₁₀ IU/mL ve -0,376 log₁₀ IU/mL olarak gerçekleşmiştir.

Sistem eşdeğerliği/sistem karşılaştırması

cobas® 5800, **cobas® 6800** ve **cobas® 8800** Sistemlerinin sistem eşdeğerliği, performans çalışmaları ile kanıtlanmıştır. Kullanım Talimatları belgesinde sunulan sonuçlar, tüm sistemler için eşdeğer performansı destekler.

Ek bilgiler

Temel test özellikleri

Numune tipi	EDTA içeren plazma
Gereken minimum numune miktarı	350 µL*
Numune işlemi hacmi	200 µL
Analitik hassasiyet	18,8 IU/mL
Doğrusal aralık	35,0 IU/mL ila 1E+08 IU/mL
Özgüllük	%100
Saptanan genotipler	EBV genotipleri 1 ve 2

* cobas® omni sekonder tüpler için 150 µL ölü hacim tanımlanmıştır. Test için kullanılan diğer tüplerde farklı ölü hacim olabilir ve daha fazla veya az minimum hacim gerekebilir. Daha fazla bilgi için yerel Roche servis temsilcinizle iletişime geçin.

Semboller

Aşağıdaki semboller Roche PCR diagnostik ürünlerinin etiketlenmesinde kullanılır.

Tablo 22 Roche PCR diagnostik ürünlerinin etiketlenmesinde kullanılan semboller

Age/DOB Yaş veya doğum tarihi	Hasta yanında test için uygun olmayan cihaz	QS IU/PCR PCR reaksiyonu başına QS IU, sonuçların hesaplanmasında PCR reaksiyonu başına QS ulusal birimlerini (IU) kullanın.
Yardımcı yazılım	Kendi kendine test için uygun olmayan cihaz	SN Seri numarası
Assigned Range [copies/mL] Atanan aralık (kopya/mL)	Distribütör (Not: Sembolün altında geçerli ülke/bölge belirtilmiş olabilir)	Site Tesis
Assigned Range [IU/mL] Atanan aralık (IU/mL)	Tekrar kullanmayın	Procedure Standard Standart prosedür
EC REP Avrupa Topluluğundaki yetkili temsilci	Kadın	STERILE EO Etilen oksit ile sterilize edilmiştir
BARCODE Barkod Veri Sayfası	Sadece IVD performans değerlendirmesi için	Karanlık ortamda muhafaza edin
LOT Seri kodu	GTIN Küresel ticaret ürün numarası	Sıcaklık sınırı
Biyolojik riskler	İthalatçı	Test tanım dosyası
REF Katalog numarası	IVD <i>In vitro</i> tıbbi tanı cihazı	Burası yukarı gelecek
CE uygunluk işareti; bu cihaz, <i>in vitro</i> tıbbi tanı cihazı için geçerli CE işareti gerekliliklerine uygundur	LLR Belirlenen aralığın alt limiti	Procedure UltraSensitive Ultra hassas prosedür
Collect Date Numune alma tarihi	Erkek	UDI Benzersiz cihaz tanımlayıcı
Kullanım talimatlarına bakın	Üretici	ULR Belirlenen aralığın üst limiti
<n> test için yeterli miktarda içerir	CONTROL - Negatif kontrol	Urine Fill Line İdrar dolum çizgisi
CONTENT Kit içeriği	Steril değil	Rx Only Yalnızca ABD: Federal yasalar, bu cihazın yalnızca bir hekim tarafından veya hekimin siparişiyle satışına izin verir.
CONTROL Kontrol	Hasta adı	Son kullanma tarihi
Üretim tarihi	Hasta numarası	
Hasta yanında test için uygun cihaz	Buradan soyarak açın	
Kendi kendine test için uygun cihaz	CONTROL + Pozitif kontrol	
	QS copies / PCR PCR reaksiyonu başına QS kopya, sonuçların hesaplanmasında PCR reaksiyonu başına QS kopyalarını kullanın.	

Teknik destek

Teknik destek için lütfen yerel bağlı şirket ile iletişime geçin:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Üretici ve ithalatçı

Tablo 23 Üretici ve ithalatçı



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

ABD'de imal edilir



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Ticari markalar ve patentler

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

Telif hakkı

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referanslar

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.

Belge revizyonu

Belge revizyonu bilgileri	
Doc Rev. 2.0 09/2022	Kontrol kitleri için ön sayfaya, tablo 2'ye ve tablo 3'e ilave P/N eklenmiştir. Bağlantı da dahil olmak üzere Ticari markalar ve patentler bölümü güncellenmiştir. Herhangi bir sorunuz varsa lütfen Roche Temsilciniz ile iletişime geçin.
Doc Rev. 3.0 05/2023	Kullanım talimatları ve Temel test özellikleri bölümündeki minimum numune hacmi orijinal seviyesine geri getirilmiştir. Yetkili makam beyanı güncellenmiştir. cobas® markası güncellenmiştir. Ufak anlatım değişiklikleri. Herhangi bir sorunuz varsa lütfen Roche Temsilciniz ile iletişime geçin.

Güvenlik ve performans raporunun özeti, aşağıdaki bağlantı adresi kullanılarak bulunabilir:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.