

cobas® BKV

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

In vitro diagnostik kullanım içindir

cobas® BKV

P/N: 09040960190

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	5
Test özeti ve açıklaması	5
Reaktifler ve materyaller	8
cobas® BKV reaktifleri ve kontrolleri.....	8
Numune hazırlamada cobas omni reaktifleri	11
Reaktif saklama ve kullanma koşulları	12
cobas® 5800 Sistemi için reaktif kullanım gereklilikleri	13
cobas® 6800/8800 Sistemleri için reaktif kullanım gereklilikleri.....	13
cobas® 5800 Sistemi için gerekli ek materyaller.....	14
cobas® 6800/8800 Sistemleri için gerekli ek materyaller	15
Gerekli cihazlar ve yazılımlar.....	16
Önlemler ve taşıma gereklilikleri.....	17
Uyarılar ve önlemler	17
Reaktif kullanımı	18
İyi laboratuvar uygulamaları.....	18
Numune alma, taşıma ve saklama	19
EDTA içeren plazma numuneleri	19
İdrar numuneleri	20
Kullanım talimatları	21
Prosedürle ilgili notlar	21
cobas® 5800 Sistemi üzerinde cobas® BKV testini çalıştırma	21
cobas® 6800/8800 Sistemleri üzerinde cobas® BKV testini çalıştırma.....	23

Sonuçlar 24

cobas® 5800 Sistemi ile alınan sonuçların kalite kontrolü ve geçerliliği.....	24
cobas® 5800 Sistemindeki kontrol sonuçları	24
cobas® 6800/8800 Sistemleri ile alınan sonuçların kalite kontrolü ve geçerliliği	24
Sonuçların yorumlanması	25
cobas® 5800 Sistemindeki sonuçların yorumlanması	26
cobas® 6800/8800 Sistemlerindeki sonuçların yorumlanması.....	26
Prosedür ile ilgili sınırlamalar.....	27

Klinik olmayan performans değerlendirmesi..... 28

cobas® 6800/8800 Sistemlerinde EDTA içeren plazma numunesi tipine yönelik testin temel performans özellikleri	28
Saptama Limiti (LoD) DSÖ Uluslararası Standardı.....	28
Doğrusal aralık	29
Kesinlik – laboratuvar içi	30
Alt tip doğrulaması.....	31
Özgüllük.....	31
Analitik özgüllük.....	31
Analitik özgüllük – etkileşimde bulunan maddeler	33
Yöntem korelasyonu	33
Tüm sistem hatası.....	34
Çapraz kontaminasyon	34

cobas® 6800/8800 Sistemlerinde idrar numunesi tipine yönelik testin temel performans özellikleri	35
Saptama Limiti (LoD) DSÖ Uluslararası Standardı.....	35
Doğrusal aralık.....	36
Kesinlik – laboratuvar içi.....	37
Alt tip doğrulaması.....	38
Özgüllük.....	38
Analitik özgüllük.....	38
Analitik özgüllük – etkileşimde bulunan maddeler	39
Yöntem korelasyonu	41
Çapraz kontaminasyon	41
cobas® 6800/8800 Sistemleri üzerinde gerçekleştirilen klinik performans değerlendirmesi	42
EDTA içeren plazma numunesi tipi için cobas® BKV'nin yeniden üretilebilirliği	42
EDTA içeren plazma numunesi tipi için cobas® BKV'nin performansı.....	43
Stabilize edilmiş idrar numunesi tipi için cobas® BKV'nin yeniden üretilebilirliği	45
Stabilize edilmiş idrar numunesi tipi için cobas® BKV'nin performansı	46
Sistem eşdeğerliği/sistem karşılaştırması	48
Ek bilgiler	49
Temel test özellikleri	49
Semboller	50
Teknik destek.....	51
Üretici ve ithalatçı	51
Ticari markalar ve patentler.....	51
Telif hakkı.....	51
Referanslar.....	52
Belge revizyonu.....	54

Kullanım amacı

cobas® BKV, EDTA içeren insan plazması ve **cobas® PCR Media** içinde stabilize edilmiş idrar içindeki BK virüsü (BKV) DNA'sının kantitasyonuna yönelik bir in vitro nükleik asit amplifikasyonu testidir.

EDTA içeren plazmada, **cobas® BKV**, transplantasyon hastalarında BKV tanısına ve yönetimine yardımcı olması için tasarlanmıştır. EDTA içeren plazma içinde BKV'nin izlenmekte olduğu hastalarda potansiyel tedavi değişikliği ihtiyacını belirlemek ve tedaviye karşı viral yanıtı değerlendirmek için seri halinde DNA ölçümleri kullanılabilir.

cobas® PCR Media içinde stabilize edilmiş idrarda, **cobas® BKV**, transplantasyon hastalarında BKV tanısına ve yönetimine yardımcı olması için tasarlanmıştır.

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

cobas® BKV'nin kanda veya kan ürünlerinde bir tarama testi olarak kullanılması amaçlanmamıştır.

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}

BK virüsü (BKV) küçük (~5 kb), zarfsız deoksiribonükleik asidi (DNA) olan bir virüstür ve polyomavirüs ailesinde yer alır. Dört büyük BKV alt tipi mevcuttur ve bunlar arasında en çok saptanan alt tip I'dir (%80). İkinci en çok saptanan ise alt tip IV'tür (%15).³ Genel sağlıklı yetişkin popülasyonunda BKV seroprevalansı > %80'dir.⁴ İmmünokompetan kişilerde BKV anlamlı bir patolojiyle ilişkilendirilmemiştir. Ancak, transplantasyon yapılan hastalar da dahil olmak üzere immünokompromize hastalarda BKV enfeksiyonu ciddi klinik hastalığa yol açabilir.⁵

BKV enfeksiyonları en çok böbreklerde ve idrar yolunda görülür. Primer enfeksiyondan sonra virüs, renal tübüler epitelyumda ve üreteral epitelyumda latent durumda kalır ve immünokompromize kişilerde yeniden aktifleşebilir. Diğer transplantasyon tipleriyle kıyaslandığında, böbrek transplantasyonu yapılan hastalarda BKV ile ilişkili, polyomavirüs nefropatisini (PVN) ve üreteral stenozu içeren komplikasyonlar için risk daha yüksektir. Böbrek transplantasyonu yapılan hastaların %10'a varan bir kısmında PVN görülür ve PVN'nin etkilediği hastaların yaklaşık %50'sinde transplant grefti başarısız olur. Ayrıca, böbrek transplantasyonu yapılan hastaların yaklaşık %3'ünde BKV ile ilişkili üreteral stenoz gelişir.⁵ Hematopoetik kök hücre transplantları (HSCT) yapıldığında da BKV ile ilişkili komplikasyonlar daha sık görülür. Bu komplikasyonların en yaygın biçimi hemorajik sistittir (HC). HSCT hastalarının %5 ila %15'inde HC görülür.¹

Kılavuzlar, böbrek transplantasyonu yapılan hastalarda transplantasyondan 5 yıl sonrasına kadar düzenli olarak BKV taraması yapılmasını önermektedir.⁶ Bu izleme yaklaşımı, PVN riski olan hastaların %80-90'ını tanımlayabilir. PVN riski daha yüksek olan hastaları tanımlama stratejisinin bir parçası olarak BKV viremisine yönelik plazma testi önerilir. Bu test, BKV virüsünün saptandığı hastalarda doğrulama testi olarak veya rutin taramada primer test modalitesi olarak kullanılabilir.⁶ HSCT hastaları için rutin BKV izlemesine yönelik mevcut bir öneri yoktur ve testin temel olarak hematüri veya sistit klinik semptomları olan hastaların değerlendirilmesinde kullanılması önerilmektedir. Bununla beraber,

10.000 kopya/mL'den yüksek BKV DNA seviyeleri olması transplantasyon hastalarında HC riskinin daha yüksek olmasıyla ilişkilendirilmiştir.⁷

Plazma BKV DNA seviyelerinde persistan yükselme olan (genellikle 10.000 kopya/mL'den yüksek ölçümler olarak tanımlanır) böbrek transplantasyonu hastalarında her 1–2 haftada bir plazma BKV testi yapılması ve DNA seviyesi üst üste iki kez saptanamayan seviyede olana kadar bu testlere devam edilmesi önerilir.

BKV kantitasyonuna yönelik laboratuvar testlerinin çoğu standardize edilmemiştir ve bu durum laboratuvarlar arasında ve testler arasında değişkenliğe yol açmaktadır.^{6,7} Ayrıca, idrar içeriği BKV kümelenmesine yol açarak kantitatif değişkenliği etkileyebilmektedir.^{8,9} BKV DNA seviyelerinin yeniden üretilebilirliğinin ve geçerliliğinin resmi olarak değerlendirilmesi, BKV ile ilgili hastalıkları olan hastaların klinik yönetimi için istikrarlı sonuçlar alınmasında (testin yapıldığı laboratuvarın önemi olmadan) kritiktir.

Testler arası değişkenlik nedeniyle tıbbi olarak anlamlı kesin viral eşik tartışma konusu olsa da, kritik eşik konsepti geçerli gözükmemektedir ve daha yüksek BKV DNA seviyelerinin PVN ve HC gelişimi bakımından yüksek riskler ile ilişkili olduğunu gösteren doğal seyir çalışmalarında bildirilmiştir.^{6,7}

NAT testinin gerekçesi

Polyomavirüs serolojisi klinik ortamlarda rutin olarak kullanılmaz, yalnızca hastada önceden BKV enfeksiyonu olup olmadığını ve yeniden aktivasyon riskini belirlemede faydalıdır. Virüs kültürü yöntemlerinde sonuç alma süresi uzundur ve yarı kantitatif oldukları için bu yöntemlerin düşük virüs seviyelerinin yaygın olduğu immünokompromize hastalarda kullanımı sınırlıdır. BKV DNA'sının gerçek zamanlı PCR yöntemleri ile doğrudan saptanması; transplantasyon hastaları için geniş dinamik aralık, kesinlik, ideal hassasiyet ve özgüllük sağlama potansiyeline sahiptir.

Testin açıklaması

cobas® BKV, **cobas® 5800/6800/8800** Sistemlerinde gerçekleştirilen kantitatif bir testtir. **cobas® BKV**, enfekte olan hastaların EDTA içeren plazmasında ve **cobas® PCR Media** içinde stabilize edilmiş idrarında BKV DNA'nın saptanmasını ve kantitasyonunu mümkün kılar. BKV DNA seviyesi, numunenin hazırlanması sırasında her numuneye uygulanan BKV 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, BKV DSÖ Uluslararası Standardına göre izlenebilen titre içeren stok materyalin dilüsyonuyla üretilir. Amplifikasyon/Saptama kiti lotlarının her biri BKV DSÖ Uluslararası Standardına göre kalibre edilir ve izlenebilir.

Prosedür prensipleri

cobas® BKV, 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 modülden oluşmaktadır. Otomatik veri yönetimi, tüm testler için hedef saptanmadı, BKV DNA < LLoQ (alt ölçme sınırı) saptandı, BKV 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; BKV küçük t-antijen bölgesi ile ve BKV VP2 bölgesinde yer alan ve BKV'nin yüksek oranda korunan bölgelerinden çift hedefli virüse özel yaklaşım kullanılarak elde edilir. DNA-QS'nin selektif amplifikasyonu, BKV 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 ısıtım döngüsü sırasında 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 imha edilmemiş olur.

cobas® BKV master mix, BKV hedef sekansları için spesifik olan iki ve DNA-QS için spesifik olan bir saptama probu içerir. Problar, BKV 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' ile 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 salgılanan haberci boyların floresansı ölçülerek sağlanır.

Reaktifler ve materyaller

cobas® BKV reaktifleri ve kontrolleri

cobas® BKV için sağlanan materyaller Tablo 1 içinde belirtilmiştir. Gereken ancak sağlanmayan materyaller, Tablo 2 ile Tablo 4 arasında ve Tablo 8 ile Tablo 10 arasında bulunabilir.

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

Tablo 1 cobas® BKV

cobas® BKV

2–8°C'de saklayın

192 test kaseti (P/N 09040960190)

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 BKV dışı primer bağlayıcı ve benzersiz prob bölgesi (bulaşıcı olmayan DNA) içeren BKV 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
BKV Master Mix Reagent 2 (BKV 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 BKV primerleri, < %0,01 Kantitasyon Standardı ileri ve geri primerleri, < %0,01 BKV ve BKV 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 ve 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) BKV DNA, normal insan plazması, PCR yöntemleriyle saptanamayan BKV 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) BKV DNA, normal insan plazması, PCR yöntemleriyle saptanamayan BKV 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.

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 ve 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 EUH032: Asitlerle temasında çok toksik gaz çıkarır.	4 × 875 mL	 TEHLİKE H302 + H332: Yutulduğunda veya solunduğunda zararlıdır. H314: Ciddi yanıklarına ve göz hasarına yol açar. H411: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, toksik etki. 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 ve kullanma koşulları

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® BKV	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 kullanılabileceği çalışma sayısı	Cihaz üzeri stabilite
cobas® BKV	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 kullanılabileceği çalışma sayısı	Cihaz üzeri stabilite (buzdolabı dışında cihaz üzeri kümülatif süre)
cobas® BKV	Tarihi geçmemiş	İlk kullanımdan itibaren 90 gün	En fazla 40 çalışma	En fazla 40 saat
cobas® EBV/BKV Control Kit	Tarihi geçmemiş	Geçerli değil ^a	Uygulanmaz	En fazla 8 saat
cobas® Buffer Negative Control Kit	Tarihi geçmemiş	Geçerli değil ^a	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

^a 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
cobas® PCR Media Secondary Tube Kit*	07958048190
cobas® PCR Media Tüpü Yedek Kapak Kiti	07958056190
cobas® PCR Media Disposable Tube Stand (isteğe bağlı)	07958064190
MPA RAKI 16 MM AÇIK YEŞİL 7001-7050*,**	03143449001
RD5 RAKI – RD Standart rak 0001-0050 LR*,**	11902997001
16 pozisyonlu tüp taşıyıcı*	09224319001
5 pozisyonlu rak taşıyıcı*	09224475001

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

** cobas® PCR Media tüplerinde alınan numunelerle kullanım için tercih edilen raklar MPA 16 mm rak veya 16 pozisyonlu tüp taşıyıcıdır.

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 Kabı veya Katı Atık Torbası Tutucu ve Kit Çekmecesi	07435967001 ve 07094361001 veya 08030073001 ve 08387281001
cobas omni Sekonder Tüpler 13 x 75 (isteğe bağlı)	06438776001
cobas® PCR Media Secondary Tube Kit*	07958048190
cobas® PCR Media Tüpü Yedek Kapak Kiti	07958056190
cobas® PCR Media Disposable Tube Stand (isteğe bağlı)	07958064190
MPA RAKI 16 MM AÇIK YEŞİL 7001-7050*, **	03143449001

* Numune rakları, pıhtı için kullanılacak raklar ve cihazlarda kabul edilen rak tepsileri için ayrıntılı sipariş listesi için yerel Roche temsilciniz ile iletişime geçin.

** MPA 16 mm rak, cobas® PCR Media tüplerinde alınan numunelerle kullanım için tercih edilen rak türüdür.

Tablo 10 cobas® BKV ile kullanılan idrar numunesi alma kitleri

Numune Alma Kiti	P/N
cobas® PCR Urine Sample Kit	05170486190
cobas® PCR Media Kit	06466281190

Not: cobas® PCR Urine Sample Kit, idrar numunelerini almak ve taşımak için kullanılır. Her cobas® PCR Urine Sample Kit, 100 cobas® PCR Urine Sample Packet içerir. Her pakette 1 tek kullanımlık pipet ve 4,3 mL cobas® PCR Media içeren 1 cobas® PCR Media tüpü vardır. cobas® PCR Media, idrar numunelerini taşıma ve saklama için stabilize eden nükleik asit işlevi görür.

Numune alımında cobas® PCR Urine Sample Kit kullanılmadan doğrudan laboratuvara gönderilen idrar numuneleri için, idrarın numune alımından sonraki 24 saat içinde taşınması şartıyla, alternatif olarak 100 cobas® PCR Media tüpü içeren cobas® PCR Media kiti kullanılabilir.

Gerekli cihazlar ve yazılımlar

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

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

Tablo 11 Cihazlar

Ekipmanlar	P/N
cobas® 5800 Sistemi	08707464001
cobas® 6800 Sistemi (hareket ettirilebilir seçenek)	05524245001 ve 06379672001
cobas® 6800 Sistemi (Sabit)	05524245001 ve 06379664001
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.

cobas® BKV, **cobas® PCR Media** içinde alınmış idrar numunesi tipleri için kullanılan primer tüpü kabul eder.

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® BKV, kanda veya kan ürünlerinde BKV 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® BKV ve cobas® 5800/6800/8800 Sistemleri kullanımı konusunda uzman olan personeller 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 (ev tipi çamaşır suyunu 1:10 oranında seyreltin) 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 BKV 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 kan veya idrar numunelerini 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.
- cobas® PCR Media (primer numune tüpündeki) guanidin hidroklorür içerir. **Guanidin hidroklorür ve sodyum hipoklorit (ağartıcı) veya asitler veya bazlar gibi yüksek oranda reaktif diğer ajanlar arasında doğrudan teması izin vermeyin. Bu karışımlar zehirli gaz salabilir.** Guanidin hidroklorür içeren sıvı dökülürse, uygun bir laboratuvar deterjanı ve su ile temizleyin. Dökülen sıvı potansiyel olarak bulaşıcı ajanlar içeriyorsa, **İLK ÖNCE** etkilenen alanı laboratuvar deterjanı ve suyla ve ardından %0,6 sodyum veya potasyum hipoklorit ile temizleyin.
- Bu testi kullanırken meydana gelebilecek tüm ciddi olayları yerel yetkili makama 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 kaçınin. Temas etmeniz durumunda, vakit kaybetmeden bol miktarda suyla yıkayın; aksi halde yanıklar meydana gelebilir.
- **cobas®** BKV test kitleri, **cobas omni** MGP Reagent ve **cobas omni** Specimen Diluent, koruyucu olarak sodyum azit içerir. Reaktiflerin cildinize, gözlerinize veya mukoza membranlarına temas etmesinden kaçınin. 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®** BKV kitleri, EBV/BKV Low Positive Control (EBV/BKV L(+))C), EBV/BKV High Positive Control (EBV/BKV H(+))C), **cobas®** Buffer Negative Control Kitleri ve **cobas omni** reaktifleri kullanmadan önce ve sonra eldivenler değiştirilmelidir. Numunelerle ve kontrollerle işlem yaparken kontamine edici eldiven kullanmaktan kaçınin.
- 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 (ev temizliği için kullanılan çamaşır suyunu 1:10 oranında seyreltin). 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.

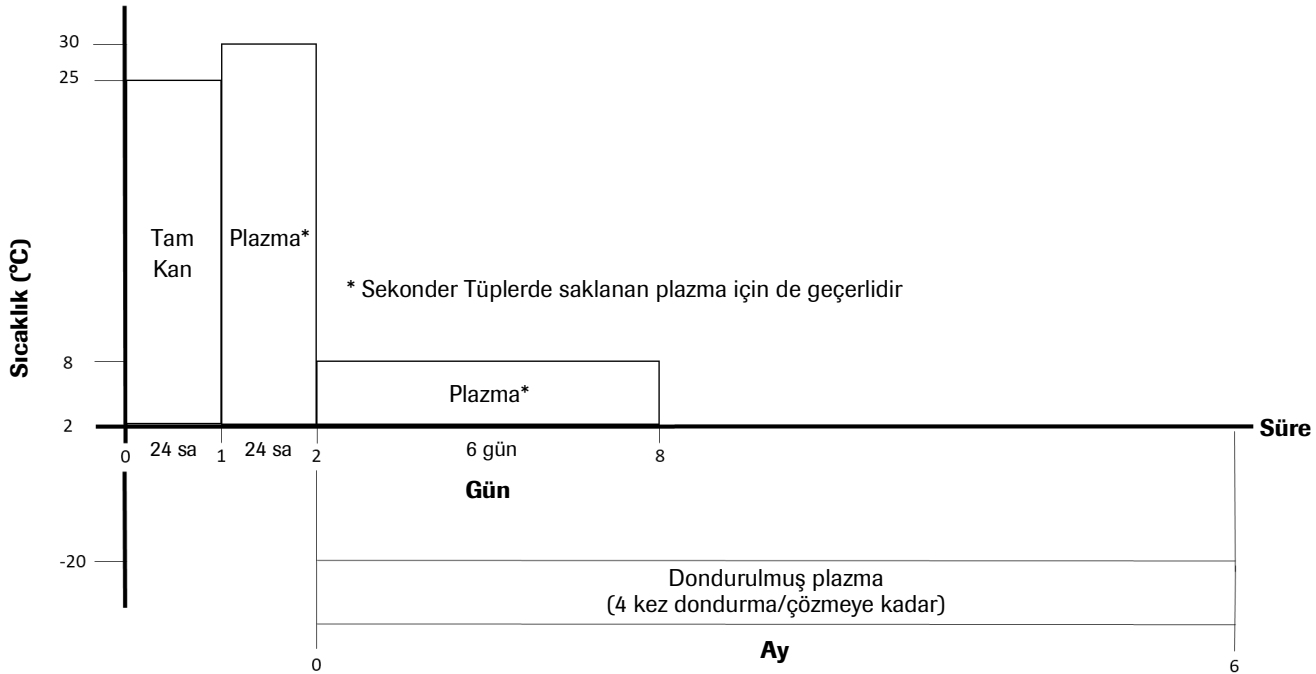
Numune alma, taşıma ve saklama

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

EDTA içeren plazma numuneleri

- 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.
- 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.
- Ayrırma 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 ≤ -20°C'de 6 aya kadar saklanabilir.
- Plazma numuneleri, ≤ -20°C'de dondurulduğunda dört kez dondurma/çözmeye kadar stabildir.
- Numuneler sevk edilecekse numunelerin ve etiyolojik ajanların taşınmasına ilişkin geçerli ülke düzenlemelerine ve/veya ulusal düzenlemelere uygun şekilde ambalajlanıp etiketlenmelidir.

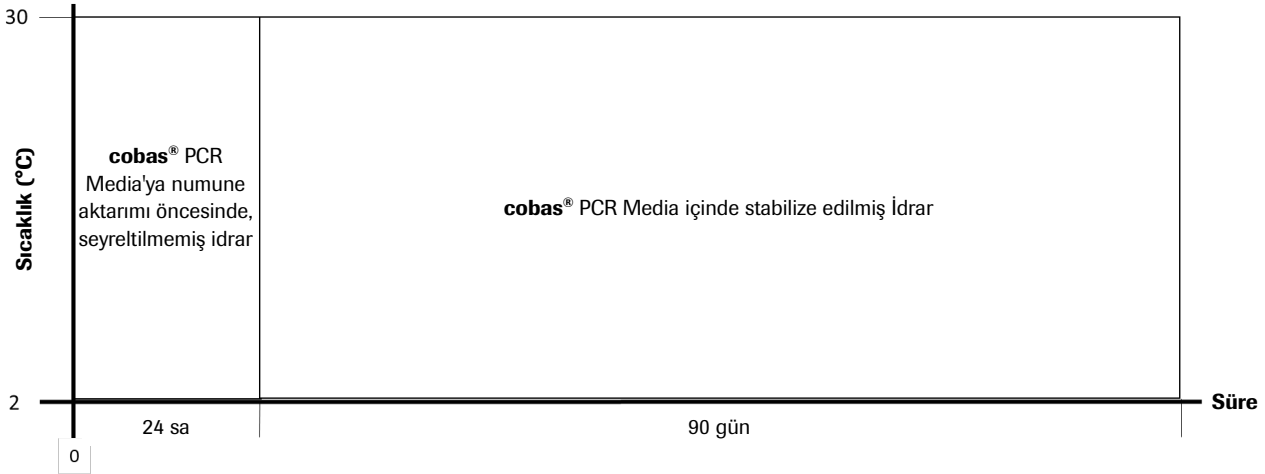
Şekil 1 EDTA içeren plazma için numune saklama koşulları



İdrar numuneleri

- **cobas®** BKV için idrar numuneleri almak ve stabilize etmek üzere yalnızca **cobas®** PCR Urine Sample Kit kullanın. **cobas®** BKV, diğer idrar alma cihazları veya ortam tipleriyle kullanım için valide edilmemiştir. **cobas®** BKV testinin diğer idrar alma cihazları veya ortam tipleri ile kullanılması, yanlış negatif, yanlış pozitif ve/veya geçersiz sonuçlara neden olabilir.
- İdrar numuneleri, derhal **cobas®** PCR Media tüpüne (stabil hale getirilmiş) aktarılmalıdır. Numuneler derhal aktarılamazsa, 2°C ila 30°C'de 24 saate kadar saklanabilirler. İdrar numuneleri **cobas®** PCR Media içinde stabilize edildikten sonra, numuneler 2–30°C'de 90 güne kadar saklanabilir. Bkz. Şekil 2.
- Test edilmemiş idrar numunelerinde, sıvı seviyesinin üst kısmı **cobas®** PCR Media tüp etiket penceresi üzerindeki iki siyah çizginin arasından görünmelidir. Sıvı seviyesi bu çizgiler üzerinde veya altında ise, numune doğru şekilde alınmamıştır ve test için kullanılamaz.
- **cobas®** PCR Urine Sample tüpünde seyreltmek için yeterli idrar hacmi (4,3 mL) yoksa, **cobas®** PCR Media kullanılarak idrar manuel olarak seyreltilebilir. **cobas®** BKV ile test yapılmadan önce, en az 0,5 mL seyreltilmemiş idrar **cobas®** PCR Media içinde manuel olarak seyreltilmelidir (1:1 oranında).
- İşlenmiş numunelerin çapraz kontaminasyonunu önlemek için, testten sonra numuneleri kapatmak amacıyla **cobas®** PCR Media tüpleri için farklı renkte ek kapaklar (nötr renk; **Diğer gerekli materyaller** bölümüne bakın) kullanılmalıdır.
- İlave test gerekirse, **cobas®** PCR Media tüpünde en az 1,2 mL numune kaldığından emin olun.
- Numuneler sevk edilecekse numunelerin ve etiyolojik ajanların taşınmasına ilişkin geçerli ülke düzenlemelerine ve/veya ulusal düzenlemelere uygun şekilde ambalajlanıp etiketlenmelidir.

Şekil 2 İdrar için numune saklama koşulları



Kullanım talimatları

Prosedürle ilgili notlar

- **cobas®** BKV 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.
- Numune tüpleri üzerindeki numune barkod etiketlerinin, RD5 veya MPA numune raklarının yan kısımlarındaki açıklıklardan görüldüğünden emin olun. Doğru barkod spesifikasyonları ve numune tüplerinin yüklenmesine ilişkin ek bilgiler için **cobas®** 5800 Sistemi veya **cobas®** 6800/8800 Sistemleri Kullanıcı Kılavuzuna bakın.
- Doğru cihaz bakımı için **cobas®** 5800 Sistemi veya **cobas®** 6800/8800 Sistemleri Yardım Asistanına ve/veya Kullanıcı Kılavuzuna başvurun.

cobas® 5800 Sistemi üzerinde cobas® BKV testini çalıştırma

cobas® BKV testini çalıştırmak için gereken minimum numune hacmi, EDTA içeren plazma için 375 µL (numune iş akışı için 200 µL) ve stabilize edilmiş idrar numuneleri için 575 µL'dir (numune iş akışı için 400 µL). Test prosedürü, **cobas®** 5800 Sistemi Yardım Asistanında ve/veya Kullanıcı Kılavuzunda ayrıntılı şekilde açıklanmıştır.

Şekil 3 aşağıda prosedür özetini göstermektedir.

- **cobas®** 5800 Sisteminde işlenmeleri için numunelerin kapağı açılmalı ve numuneler doğrudan raklara yüklenmelidir.
- Tek bir çalışmada numune kombinasyonu (plazma, stabilize edilmiş idrar) kullanılabilir.

EDTA içeren plazma ve stabilize edilmiş idrar numuneleri, Şekil 3 adım 2'de açıklandığı şekilde **cobas®** BKV'nin kullanıcı arayüzünde (UI) numune tipi seçimi kullanılarak işlenmelidir.

Şekil 3 cobas® 5800 Sistemi üzerinde cobas® BKV test prosedürü

1	Sistemde oturum açın Sistemi başlatmak için Start (Başlat) düğmesine basın
2	Numuneleri sisteme yükleme: • Numune raklarını sisteme yükleyin • Sistem otomatik olarak hazırlar • Test istemi gönderin ◦ EDTA içeren plazma numunelerini tanımlamak için “Plasma” (Plazma) öğesini seçin ◦ cobas® PCR Media içinde alınan idrar numunelerini tanımlamak için “Urine” (İdrar) öğesini seçin ▪ Tüpün kapağını çıkarın ▪ Tüpü doğrudan raka transfer edin
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 gerekliyse 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® BKV testini çalıştırma

cobas® BKV testini çalıştırmak için gereken minimum numune hacmi, EDTA içeren plazma için 375 µL (numune iş akışı için 200 µL) ve stabilize edilmiş idrar numuneleri için 575 µL'dir (numune iş akışı için 400 µL). Cihazın test prosedürü, cobas® 6800/8800 Sistemleri Yardım Asistanında ve/veya Kullanıcı Kılavuzunda ayrıntılı şekilde açıklanmıştır. Şekil 4 aşağıda prosedür özetini göstermektedir.

- cobas® 6800/8800 Sistemlerinde işlenmeleri için numunelerin kapağı açılmalı ve numuneler doğrudan raklara yüklenmelidir.
- Tek bir çalışmada numune kombinasyonu (plazma, stabilize edilmiş idrar) kullanılabilir.
- EDTA içeren plazma ve stabilize edilmiş idrar numuneleri, Şekil 4 adım 1'de açıklandığı şekilde cobas® BKV'nin kullanıcı arayüzünde (UI) numune tipi seçimi kullanılarak işlenmelidir.

Şekil 4 cobas® 6800/8800 Sistemlerinde üzerinde cobas® BKV test prosedürü

1	Sistemde oturum açın Sistemi başlatmak için Start (Başlat) düğmesine basın Test isteği gönderin: • EDTA içeren plazma numunelerini tanımlamak için "Plasma" (Plazma) ögesini seçin • cobas® PCR Media içinde alınan idrar numunelerini tanımlamak için "Urine" (İdrar) ögesini seçin
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: • cobas® PCR Media içinde alınmış primer idrar numuneleri için - o Tüpün kapağını çıkarın - o Tüpü doğrudan raka transfer edin • Numune rakını ve pıhtı uç raklarını 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 BKV DNA konsantrasyonunu otomatik olarak belirler. BKV 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 12 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 13 Ayrı hedef sonuç yorumu için hedef sonuçları

Sonuçlar	Yorum
Target Not Detected	BKV DNA saptanmadı. Sonuçları "BKV saptanmadı" olarak raporlayın.
< Titer Min ^a	Hesaplanan titre, testin Alt Ölçüm Sınırının (LLoQ) altında. Sonuçları "BKV saptandı, (Titer Min) altında" olarak raporlayın. EDTA içeren plazma Titer Min = 21,5 IU/mL İdrar Titer Min = 200 IU/mL
Titre	Hesaplanan titre, testin Doğrusal Aralığı içinde – Titer Min'den büyük veya eşit ve Titer Maks'tan küçük veya eşit. Sonuçları "(Titer) BKV saptandı" olarak raporlayın.
> Titer Max ^b	Hesaplanan titre, testin Üst Ölçüm Sınırının (ULoQ) üzerinde. Sonuçları "BKV saptandı, (Titer Maks) üzerinde" olarak raporlayın. EDTA içeren plazma ve idrar 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 BKV pozitif numuneleri anlamına gelir. EDTA içeren plazma numuneleri için kantitatif bir sonuç isteniyorsa, orijinal numune BKV 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 13 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 bildirildiyse, 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 13 içinde gösterilen şekilde yorumlanmalıdır.

Prosedür ile ilgili sınırlamalar

- **cobas®** BKV 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 stabilize edilmiş idrar ve EDTA içeren plazma ile kullanım için doğrulanmıştır. Başka numune tiplerinin **cobas®** BKV ile test edilmesi hatalı sonuçlara neden olabilir. Plazma ve stabilize edilmiş idrar DNA seviyesi ölçümleri birbirleriyle veya diğer numune tipleriyle doğrudan karşılaştırılamaz.
- BKV DNA kantitasyonu, numune alma yöntemlerinden, hasta faktörlerinden (yaş, semptomların varlığı) ve/veya enfeksiyon evresinden etkilenebilir.
- BKV DNA'nın seyreltilmemiş idrarda bozunması miktar tayinini etkileyebilir.¹⁷ Numune stabilitesinin sağlanması için idrarın **cobas®** PCR Media içine aktarılması gerekmektedir.
- Farklı numune alma zamanlarında (seyreltilmemiş idrar) veya aynı numunenin farklı alikotlarında (seyreltilmemiş idrar ve **cobas®** PCR Media içinde stabilize edilmiş idrar) yapılan numune stabilitesi deneylerinde BKV DNA'nın idrara özgü kantitatif değişkenliği gözlemlenmiştir.
- Bu kısıtlamalar nedeniyle, idrar BKV DNA sonuçları, klinik ve diğer laboratuvar bulguları bağlamında dikkatli bir şekilde yorumlanmalıdır ve tedavi kararları için tek dayanak olmamalıdır.
- İdrarda yüksek seviyelerde BKV DNA mevcut olabilir ve taşınma kontaminasyonu riski söz konusudur.¹⁸
- Diğer moleküler testlerde olduğu gibi, **cobas®** BKV için hedef bölgeler içinde yer alan mutasyonlar, primer ve/veya prob bağlanmasını etkileyerek virüs kantitasyonunun 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®** BKV'nin kanda veya kan ürünlerinde BKV varlığı için bir tarama testi olarak kullanılması amaçlanmamıştır.

Klinik olmayan performans değerlendirmesi

cobas® 6800/8800 Sistemlerinde EDTA içeren plazma numunesi tipine yönelik testin temel performans zellikleri

Saptama Limiti (LoD) DSÖ Uluslararası Standardı

DSÖ Uluslararası Standardı için cobas® BKV'nin saptama limiti, NIBSC'den alınmış 1. DSÖ BKV Uluslararası Standardının (NIBSC 14/212) BKV negatif EDTA içeren insan plazması içindeki seri dilüsyonları analiz edilerek belirlenmiştir. Altı konsantrasyon seviyesi artı bir boş numuneden oluşan paneller,  cobas® BKV reaktifi lotunda birden fazla çalışma, gün, operatör ve cihaz ile test edilmiştir.

EDTA içeren plazma sonuçları Tablo 14 ile Tablo 16 arasında gösterilmiştir. Çalışma, hassasiyeti en düşük olan lotta, EDTA içeren plazmada %95 eşleşme oranının beklendiği PROBIT konsantrasyonunun 21,5 IU/mL, %95 güven aralığının 16,3 ila 32,4 IU/mL olduğunu ortaya koymuştur. EDTA içeren plazmada eşleşme oranı $\geq$ %95 olan en düşük konsantrasyon 19,0 IU/mL'di.

Tablo 14 EDTA içeren plazmada saptama limiti, Lot 1

Girdi titre konsantrasyonu (BKV DNA IU/mL)	Geçerli kopya sayısı	Pozitif sayısı	% cinsinden eşleşme oranı
80,0	63	63	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	60	95,2
9,5	63	46	73,0
4,75	63	36	57,1
2,38	63	23	36,5
0	62	0	0,0
%95 isabet oranında PROBIT ile LoD	21,5 IU/mL %95 güven aralığı: 16,3–32,4 IU/mL		

Tablo 15 EDTA içeren plazmada saptama limiti, Lot 2

Girdi titre konsantrasyonu (BKV DNA IU/mL)	Geçerli kopya sayısı	Pozitif sayısı	% cinsinden eşleşme oranı
80,0	62	62	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	61	96,8
9,5	63	48	76,2
4,75	63	34	54,0
2,38	62	23	37,1
0	62	0	0,0
%95 isabet oranında PROBIT ile LoD 19,7 IU/mL %95 güven aralığı: 15,0–29,2 IU/mL			

Tablo 16 EDTA içeren plazmada saptama limiti, Lot 3

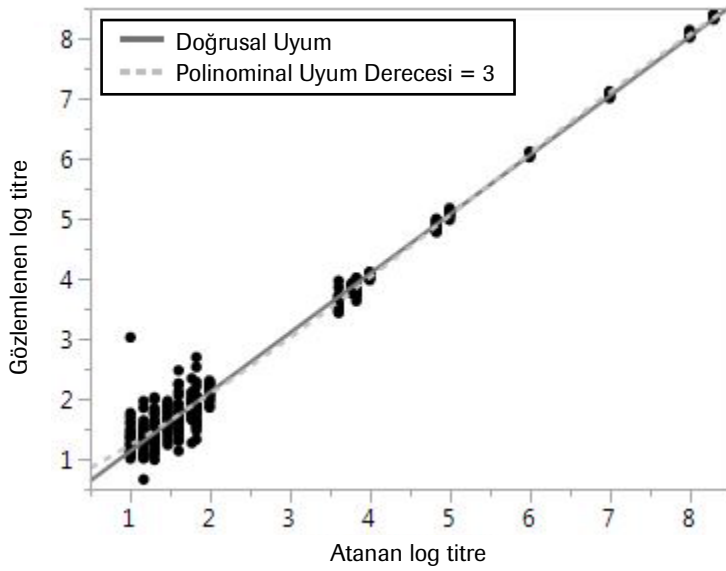
Girdi titre konsantrasyonu (BKV DNA IU/mL)	Geçerli kopya sayısı	Pozitif sayısı	% cinsinden eşleşme oranı
80,0	63	63	100,0
38,0	63	63	100,0
19,0	63	60	95,2
9,5	63	50	79,4
4,75	63	35	55,6
2,38	63	22	35,0
0	63	0	0,0
%95 isabet oranında PROBIT ile LoD 19,3 IU/mL %95 güven aralığı: 14,8–28,5 IU/mL			

Doğrusal aralık

cobas® BKV'nin doğrusallığı, testin doğrusal aralığını kapsayan baskın BKV alt grubu Ib DNA'sına sahip 18 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 yedi panel üyesi hazırlamak için klinik bir numune kullanılmıştır.

Panel üyelerinin her biri, **cobas®** BKV reaktiflerinin üç lotu genelindeki 36 kopyada test edilmiştir ve çalışmanın sonucu Şekil 5 içinde sunulmaktadır.

cobas® BKV'nin 1,01E+01'den 1,97E+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 5). Doğrusal aralık boyunca, testin doğruluğu $\pm 0,2 \log_{10}$ içindedir.

Şekil 5 EDTA içeren plazmada doğrusal aralığın tayini

Kesinlik – laboratuvar içi

cobas® BKV kesinliği, BKV negatif EDTA içeren plazma içindeki yüksek titreli BKV DNA'sının (alt grup Ib) seri dilüsyonları analiz edilerek belirlenmiştir. Beş dilüsyon seviyesi, 12 gün boyunca dört cihaz ve iki operatör kullanılarak üç lot **cobas®** BKV reaktifinde her seviye için 72 kopya halinde test edilmiştir. Her numune, tam otomatik **cobas®** 6800/8800 Sistemlerinde **cobas®** BKV prosedürünün tamamı boyunca gerçekleştirilmiştir. Dolayısıyla, burada raporlanan kesinlik, test prosedürünün tüm yönlerini temsil eder. Sonuçlar, Tablo 17 içinde gösterilmiştir.

cobas® BKV, 9,83E+01 IU/mL ila 9,83E+05 IU/mL konsantrasyon aralığında test edilen üç reaktif lotu için yüksek kesinlik göstermiştir.

Tablo 17 **cobas®** BKV'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
1,00E+06	9,83E+05	0,02	0,02	0,04	0,03
1,00E+05	9,83E+04	0,03	0,04	0,04	0,04
1,00E+04	9,83E+03	0,04	0,05	0,03	0,04
6,00E+03	5,90E+03	0,03	0,05	0,03	0,04
1,00E+02	9,83E+01	0,09	0,11	0,11	0,11

* Titre verilerinin log-normal olarak dağıldığı kabul edilir ve log₁₀ dönüşümünün ardından analiz edilir. Standart sapma (SD) sütunları, üç reaktif lotunun her biri için log-dönüştürülmüş titrenin toplamını gösterir.

Alt tip doğrulaması

cobas® BKV'nin BKV alt tipleri I (alt grup Ia ve Ic ile), II, III ve IV'ün performansı aşağıdaki işlemlerle değerlendirilmiştir:

- Saptama limitinin doğrulanması
- Doğrusal aralığın doğrulanması

Alt tip I (alt grup Ia ve Ic ile), II, III ve IV için saptama limitinin doğrulanması

Beş farklı alt tipin/alt grubun (Ia, Ic, II, III ve IV) BKV DNA'sı, BKV negatif EDTA içeren plazma içinde üç farklı konsantrasyon seviyesine seyreltilmiştir. Eşleşme oranı tayini, her seviye için 63 kopya ile gerçekleştirilmiştir. Testler; cobas® BKV reaktiflerinin üç lotu, birden fazla çalışma, gün, operatör ve cihaz ile yapılmıştır. Bu sonuçlar, cobas® BKV testinin 21,5 IU/mL konsantrasyondaki beş farklı alt tipin/alt grubun BKV DNA'sını $\geq$ %95 eşleşme oranıyla saptadığını doğrulamaktadır.

Alt tip I (alt grup Ia ve Ic ile), II, III ve IV için doğrusal aralığın doğrulanması

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

cobas® BKV'nin doğrusal aralığı, beş alt tipin/alt grubun (Ia, Ic, II, III ve IV) her birinde doğrulanmıştır.

Özgüllük

cobas® BKV'in özgüllüğü, ayrı donörlerden BKV negatif EDTA içeren plazma numunelerinin analiz edilmesiyle saptanmıştır. Üç lot cobas® BKV reaktifi ile 104 ayrı EDTA içeren plazma numunesi test edilmiştir. Tüm numuneler BKV DNA için negatif sonuçlanmıştır. Test panelinde cobas® BKV'nin özgüllüğü %100'dür (alt tek taraflı %95 güven aralığı: %97,16).

Analitik özgüllük

cobas® BKV'nin analitik özgüllüğü, bakteriler ve maya için 1,00E+06 birim/mL (CFU/mL, hücre/mL, CCU/mL, IFU/mL) ve virüsler için 1,00E+05 birim/mL ila 1,00E+06 birim/mL (kopya/mL, TCID₅₀/mL, IU/mL, hücre/mL) konsantrasyonda test edilen bir mikroorganizma paneli kullanılarak değerlendirilmiştir. Mikroorganizmalar, BKV DNA negatif EDTA içeren insan plazması içine ve BKV DNA bulunan (100 IU/mL) EDTA içeren insan plazması içine seyreltilmiştir. Test edilen spesifik organizmalar Tablo 18 içinde listelenmektedir. Her bir numune üç kopya halinde test edilmiştir. BKV olmayan patojenlerin hiçbirisi, test edilen konsantrasyonlarda test performansı ile interferans oluşturmamıştır. BKV hedefi olmayan tüm mikroorganizma numuneleri için cobas® BKV ile negatif, BKV hedefi olan tüm mikroorganizma numuneleri için pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca potansiyel olarak çapraz reaksiyona giren organizmaları içeren pozitif BKV numunelerinin her birinin ortalama log₁₀ titresi, ilgili pozitif ekleme yapılmış kontrolün ortalama log₁₀ titresinin $\pm 0,5$ log₁₀'u içindedir.

Tablo 18 Çapraz reaktivite için test edilen mikroorganizmalar

Virüsler	Bakteriler	Maya
Adenovirüs tip 5	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Sitomegalovirüs	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Epstein-Barr virüsü	<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	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Simian virüs 40	-	-
Varicella Zoster virüs	-	-

Analitik özgüllük – etkileşimde bulunan maddeler

Trigliseritler (33 g/L), konjuge bilirubin (0,2 g/L), konjuge olmayan bilirubin (0,2 g/L), albümin (60 g/L), hemoglobin (2 g/L) ve insan DNA'sının (2 mg/L) artmış seviyeleri, BKV DNA'nın varlığında (100 IU/mL) ve yokluğunda test edilmiştir. Test edilen endojen interferansların, **cobas® BKV**'nin test performansında interferansa neden olmadığı gösterilmiştir.

Ayrıca, Tablo 19 içinde listelenen ilaç bileşikleri, BKV DNA varlığında ve yokluğunda üç kat C_{max} değerinde test edilmiştir.

Etkileşimde bulunma potansiyeli olan maddelerin hiçbirinin test performansında interferansa neden olmadığı gösterilmiştir. BKV hedefi olmayan tüm numuneler için **cobas® BKV** ile negatif, BKV hedefi olan numunelerin tamamında ise pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca potansiyel olarak etkileşimde bulunan maddeleri içeren pozitif BKV numunelerinin her birinin ortalama $\log_{10}$ titresi, ilgili pozitif spike kontrolün ortalama $\log_{10}$ titresinin $\pm 0,5 \log_{10}$ 'u içindedir.

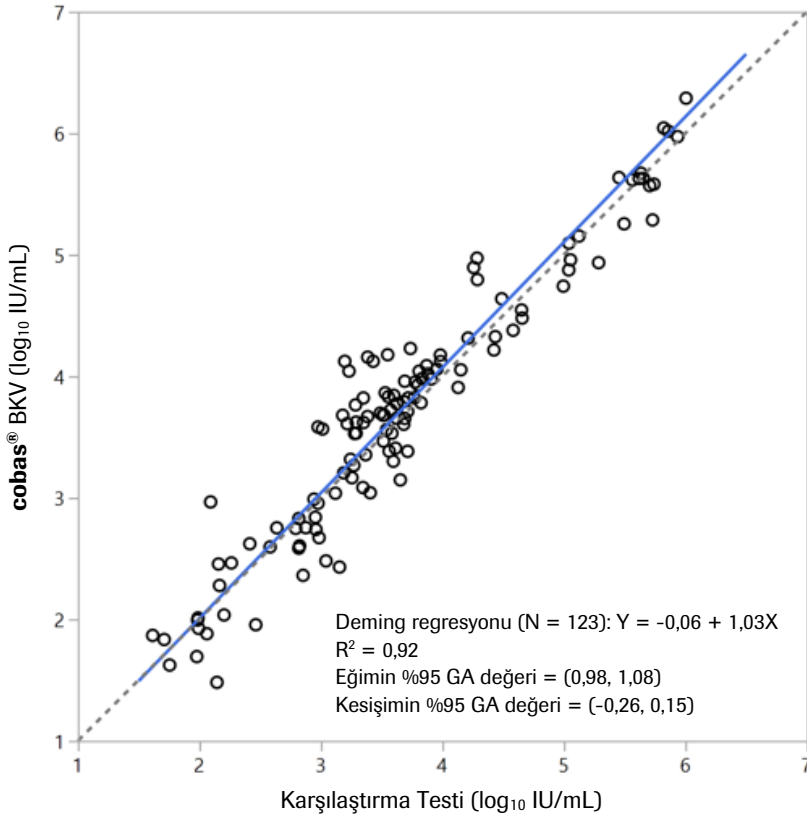
Tablo 19 **cobas® BKV** ile BKV DNA'nın kantitasyonunda interferans için test edilen ilaç bileşikleri

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

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

Deming regresyonu sonuçları Şekil 6 içinde gösterilmiştir.

Şekil 6 cobas® BKV'nin karşılaştırma testiyle kıyaslandığı regresyon analizi

Tüm sistem hatası

cobas® BKV için tüm sistem hatası oranı, BKV 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 BKV hedefi için pozitif olduğunu belirlemiş ve tüm sistem hata oranı %0 olarak bulunmuştur (üst tek taraflı %95 güven aralığı %2,95).

Çapraz kontaminasyon

cobas® BKV için çapraz kontaminasyon oranı, BKV negatif matris numunesinin 240 kopyası ve yaklaşık $2,00E+07$ IU/mL'de yüksek titreli BKV DNA 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 Sistemlerinde idrar numunesi tipine yönelik testin temel performans özellikleri

Saptama Limiti (LoD) DSÖ Uluslararası Standardı

DSÖ Uluslararası Standardı için cobas® BKV'nin saptama limiti; cobas® PCR Media'da stabilize edilen BKV negatif havuzlanmış idrar içinde, NIBSC'den alınmış 1. DSÖ BKV Uluslararası Standardının (NIBSC 14/212) seri dilüsyonları analiz edilerek belirlenmiştir. Altı konsantrasyon seviyesi artı bir boş numuneden oluşan paneller, üç cobas® BKV reaktifli lotunda birden fazla çalışma, gün, operatör ve cihaz ile test edilmiştir.

cobas® PCR Media içinde stabilize edilen havuzlanmış idrar için sonuçlar Tablo 20 ile Tablo 22 arasında gösterilmektedir. Çalışma, hassasiyeti en düşük olan lotta, seyreltilmemiş idrarda %95 eşleşme oranının beklendiği PROBIT konsantrasyonunun 12,2 IU/mL, %95 güven aralığının 9,2 ila 18,3 IU/mL olduğunu ortaya koymuştur. Seyreltilmemiş idrarda eşleşme oranı $\geq$ %95 olan en düşük konsantrasyon 10,0 IU/mL'dir.

Tablo 20 İdrarda saptama limiti, Lot 1

Girdi titre konsantrasyonu (BKV DNA IU/mL)	Geçerli kopya sayısı	Pozitif sayısı	% cinsinden eşleşme oranı
40,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	60	95,2
5,0	63	47	74,6
2,5	63	25	39,7
1,25	63	26	41,3
0	63	0	0,0
%95 isabet oranında PROBIT ile LoD	12,2 IU/mL %95 güven aralığı: 9,2–18,3 IU/mL		

Tablo 21 İdrarda saptama limiti, Lot 2

Girdi titre konsantrasyonu (BKV DNA IU/mL)	Geçerli kopya sayısı	Pozitif sayısı	% cinsinden eşleşme oranı
40,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	60	95,2
5,0	63	42	66,7
2,5	63	32	50,8
1,25	63	17	27,0
0	63	0	0,0
%95 isabet oranında PROBIT ile LoD 11,9 IU/mL %95 güven aralığı: 9,2–17,3 IU/mL			

* **cobas®** PCR Media içinde stabilize edilmiş idrar numunesi testleri. Giriş titre konsantrasyonu, seyreltilmemiş idrara dayanan hesaplama için kullanılır.

Tablo 22 İdrarda saptama limiti, Lot 3

Girdi titre konsantrasyonu (BKV DNA IU/mL)	Geçerli kopya sayısı	Pozitif sayısı	% cinsinden eşleşme oranı
40,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	61	96,8
5,0	63	46	73,0
2,5	63	39	61,9
1,25	63	19	30,2
0	63	0	0,0
%95 isabet oranında PROBIT ile LoD 10,1 IU/mL %95 güven aralığı: 7,8–14,7 IU/mL			

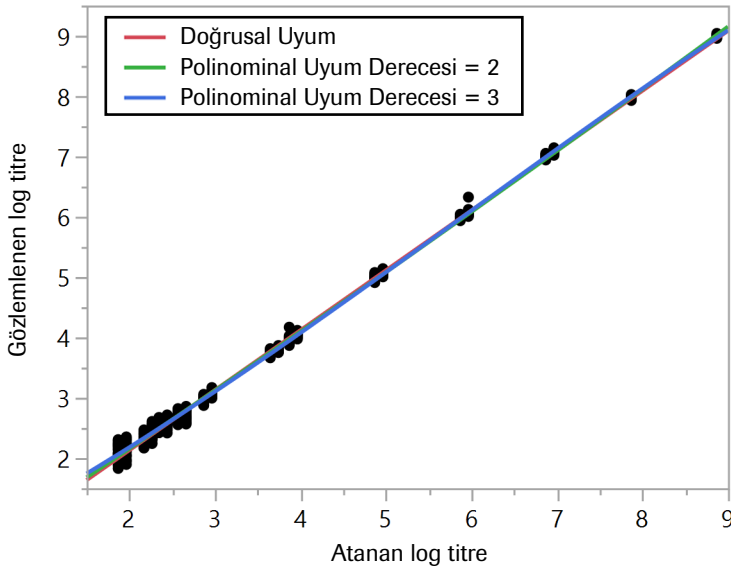
* **cobas®** PCR Media içinde stabilize edilmiş idrar numunesi testleri. Giriş titre konsantrasyonu, seyreltilmemiş idrara dayanan hesaplama için kullanılır.

Doğrusal aralık

cobas® BKV'nin doğrusallığı, testin doğrusal aralığını kapsayan bir klinik numunenin (BKV alt grubu Ib) kullanıldığı 10 panel üyesini içeren bir dilüsyon serisi kullanılarak değerlendirilmiştir. Doğrusal aralığın tamamını kapsayan 12 panel üyesi hazırlamak için yüksek titreli lambda DNA stoku kullanılmıştır.

Panel üyelerinin her biri, **cobas®** BKV reaktiflerinin üç lotu genelindeki 36 kopyada test edilmiştir ve çalışmanın sonucu Şekil 7 içinde sunulmaktadır.

cobas® BKV'nin 7,41E+01 IU/mL'den 7,41E+08 IU/mL'ye kadar doğrusal olduğu ortaya koyulmuştur ve **cobas®** PCR Media içinde stabilize edilen havuzlanmış idrarda daha uyumlu, $\pm 0,1 \log_{10}$ 'a eşit veya daha düşük bir doğrusal olmayan regresyondan mutlak sapma gösterilmiştir (bkz. Şekil 7). Doğrusal aralık boyunca, testin doğruluğu $\pm 0,2 \log_{10}$ içindedir.

Şekil 7 İdrarda doğrusal aralığın tayini

Kesinlik – laboratuvar içi

BKV negatif olan ve **cobas®** PCR Media içinde stabilize edilen havuzlanmış idrar içindeki yüksek titreli BKV DNA'sının (alt grup Ib) seri dilüsyonları analiz edilerek **cobas®** BKV kesinliği belirlenmiştir. Beş dilüsyon seviyesi, 12 gün boyunca iki cihaz ve iki operatör kullanılarak üç lot **cobas®** BKV reaktifinde her seviye için 72 kopya halinde test edilmiştir. Her numune, tam otomatik **cobas®** 6800/8800 Sistemlerinde **cobas®** BKV prosedürünün tamamı boyunca gerçekleştirilmiştir. Dolayısıyla, burada raporlanan kesinlik, test prosedürünün tüm yönlerini temsil eder. Sonuçlar, Tablo 23 içinde gösterilmiştir.

cobas® BKV, 7,41E+02 IU/mL ila 7,41E+05 IU/mL konsantrasyon aralığında test edilen üç reaktif lotu için yüksek kesinlik göstermiştir.

Tablo 23 **cobas®** BKV'nin laboratuvar içi kesinliği*

Nominal konsantrasyon [IU/mL]	Belirlenen konsantrasyon [IU/mL]	cobas® PCR Media içinde stabilize edilmiş İdrar			
		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Tüm lotlar
		SD	SD	SD	Havuzlanmış SD
1,00E+06	7,41E+05	0,02	0,02	0,02	0,02
1,00E+05	7,41E+04	0,02	0,03	0,02	0,03
1,00E+04	7,41E+03	0,03	0,03	0,03	0,03
6,00E+03	4,44E+03	0,04	0,03	0,04	0,03
1,00E+03	7,41E+02	0,05	0,05	0,04	0,05

* Titre verilerinin log-normal olarak dağıldığı kabul edilir ve log₁₀ dönüşümünün ardından analiz edilir. Standart sapma (SD) sütunları, üç reaktif lotunun her biri için log-dönüştürülmüş titrenin toplamını gösterir.

Alt tip doğrulaması

cobas® BKV'nin BKV alt tipleri I (alt grup Ia ve Ic ile), II, III ve IV'ün performansı aşağıdaki işlemlerle değerlendirilmiştir:

- Saptama limitinin doğrulanması
- Doğrusal aralığın doğrulanması

Alt tip I (alt grup Ia ve Ic ile), II, III ve IV için saptama limitinin doğrulanması

Beş farklı alt tipin/alt grubun (Ia, Ic, II, III ve IV) BKV DNA'sı; cobas® PCR Media içinde stabilize edilmiş, havuzlanmış BKV negatif idrar içinde üç farklı konsantrasyon seviyesine seyreltilmiştir. Eşleşme oranı tayini, her seviye için 63 kopya ile gerçekleştirilmiştir. Testler; cobas® BKV reaktiflerinin üç lotu, birden fazla çalışma, gün, operatör ve cihaz ile yapılmıştır. Bu sonuçlar, cobas® BKV testinin 12,2 IU/mL konsantrasyondaki beş farklı alt tipin/alt grubun BKV DNA'sını $\geq$ %95 eşleşme oranıyla saptadığını doğrulamaktadır.

Alt tip I (alt grup Ia ve Ic ile), II, III ve IV için doğrusal aralığın doğrulanması

cobas® BKV için alt tipin/alt grubun doğrusallığının doğrulanması çalışmasında kullanılan dilüsyon serileri, testin doğrusal aralığını kapsayan sekiz panel üyesinden oluşmaktadır. Testler, cobas® BKV reaktifinin üç lotu ile gerçekleştirilmiştir ve cobas® PCR Media içinde stabilize edilmiş idrarda seviye başına 12 kopya test edilmiştir.

cobas® BKV'nin doğrusal aralığı, beş alt tipin/alt grubun (Ia, Ic, II, III ve IV) her birinde doğrulanmıştır.

Özgüllük

cobas® BKV'in özgüllüğü, ayrı donörlerden alınmış ve cobas® PCR Media içinde stabilize edilmiş BKV negatif idrar numunelerinin analiz edilmesiyle belirlenmiştir. Üç lot cobas® BKV reaktifi ile yüz ayrı idrar numunesi test edilmiştir. Tüm numuneler BKV DNA için negatif sonuçlanmıştır. Test panelinde cobas® BKV'nin özgüllüğü %100'dür (alt tek taraflı %95 güven aralığı: %97,05).

Analitik özgüllük

cobas® BKV'nin analitik özgüllüğü, bakteriler ve maya için 1,00E+06 birim/mL ila 2,00E+06 birim/mL (CFU/mL, hücre/mL, CCU/mL, IFU/mL) ve virüsler için 1,00E+05 birim/mL (kopya/mL, TCID₅₀/mL, IU/mL, hücre/mL) konsantrasyonda test edilen bir mikroorganizmalar paneli kullanılarak değerlendirilmiştir. Mikroorganizmalar, BKV DNA negatif idrar içine ve BKV DNA içeren (600 IU/mL) idrar içine seyreltilmiştir. Test edilen spesifik organizmalar Tablo 24 içinde listelenmektedir. Her bir numune üç kopya halinde test edilmiştir. BKV olmayan patojenlerin hiçbirisi, test edilen konsantrasyonlarda test performansı ile interferans oluşturmamıştır. BKV hedefi olmayan tüm mikroorganizma numuneleri için cobas® BKV ile negatif, BKV hedefi olan tüm mikroorganizma numuneleri için pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca potansiyel olarak çapraz reaksiyona giren organizmaları içeren pozitif BKV numunelerinin her birinin ortalama log₁₀ titresi, ilgili pozitif ekleme yapılmış kontrolün ortalama log₁₀ titresinin $\pm 0,5$ log₁₀'u içindedir.

Tablo 24 Çapraz reaktivite için test edilen mikroorganizmalar

Virüsler	Bakteriler	Bakteriler	Maya
Herpes Simplex virüsü 2	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
İnsan Papillomavirüsü 16	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida glabrata</i>
-	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Candida parapsilosis</i>
-	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Candida tropicalis</i>
-	<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	-
-	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
-	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus oralis/viridans</i>	-
-	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	-
-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
-	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	-
-	<i>Treponema pallidum</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>	-
-	<i>Lactobacillus crispatus</i>	-	-
-	<i>Trichomonas vaginalis</i>	-	-
-	<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	-
-	<i>Lactobacillus jensenii</i>	-	-
-	<i>Lactobacillus vaginalis</i>	-	-
-	<i>Morganella morganii</i>	-	-

Analitik özgüllük – etkileşimde bulunan maddeler

BKV DNA bulunan (600 IU/mL) ve bulunmayan numunelerde yüksek seviyelerde albümin (%0,5 a/h), konjuge bilirubin (%1 a/h), glukoz (%1 a/h), perifer kan mononükleer hücreleri (1,00E+06 hücre/mL), mukus (4,3 mL numune başına 1 mukus sürüntüsü varlığında), asidik pH (pH 4), alkalın pH (pH 9), semen (4,3 mL numune başına, semene batırılmış 1 sürüntü çubuğu), sodyum (300 mEq/L) ve tam kan (%10 h/h) test edilmiştir. Test edilen endojen interferansların, **cobas® BKV**'nin test performansında interferansa neden olmadığı gösterilmiştir.

Ayrıca, Tablo 25 içinde listelenen ilaç bileşikler BKV DNA varlığında ve yokluğunda test edilmiştir.

Talk pudrası haricinde, etkileşimde bulunma potansiyeli olan maddelerin hiçbirinin test performansında interferansa neden olmadığı gösterilmiştir. $\leq 0,05$ talk pudrası, **cobas® BKV** ile interferans oluşturmamıştır. BKV hedefi olmayan tüm numuneler için **cobas® BKV** ile negatif, BKV hedefi olan numunelerin tamamında ise pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca potansiyel olarak etkileşimde bulunan maddeleri içeren pozitif BKV numunelerinin her birinin ortalama $\log_{10}$ titresi, ilgili pozitif spike kontrolün ortalama $\log_{10}$ titresinin $\pm 0,5 \log_{10}$ 'u içindedir.

Tablo 25 cobas® BKV ile BKV DNA'nın kantitasyonunda interferans için test edilen ilaç bileşikleri

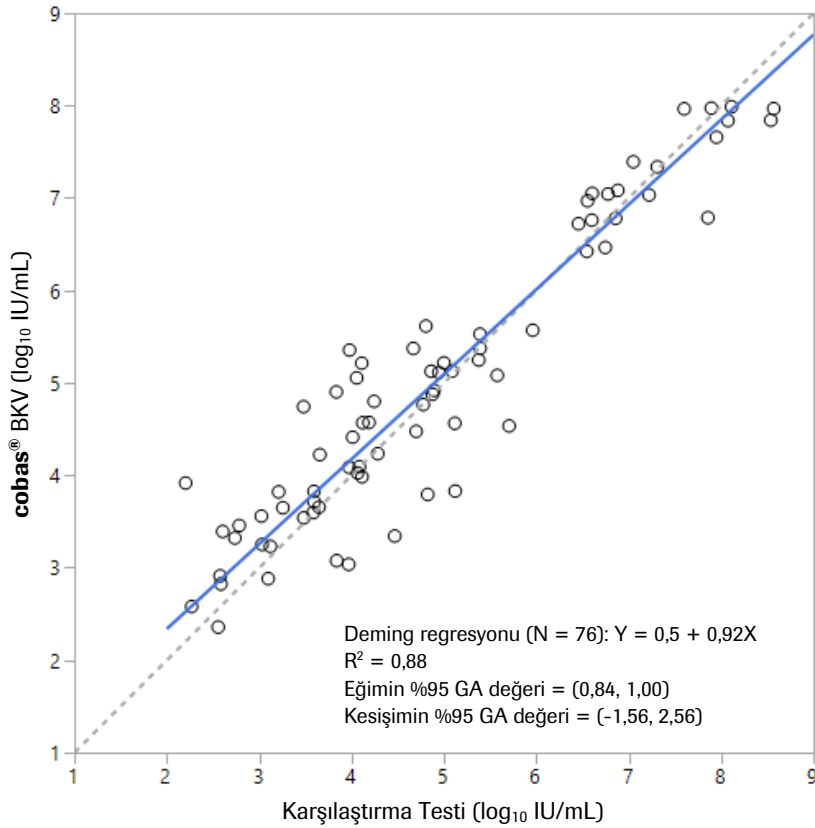
İlaç sınıfı	Etkin Bileşen	Konsantrasyon	Jenerik ilaç adı
Antimikrobiyal	Klotrimazol	100 µg/mL	Gyne-Lotrimin 7
	Metronidazol	701 µmol/L	Arilin rapid Vajinal supozituarlar Vagi Metro Kremi Nidazea Jel
Östrojen steroid hormonu	Estradiol	4,41 nmol/L	Estrace
Analjezikler	Fenazopiridin Hidroklorür	200 µg/mL	Azo Standard
	Asetaminofen	1324 µmol/L	Asetaminofen
Kayganlaştırıcı	Propilen Glikol	1000 µg/mL	K-Y UltraGel
Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaç	Asetilsalisilik asit	3,62 mmol/L	Asetilsalisilik asit
	Naproksen	2170 µmol/L	Naproksen
	İbuprofen	2425 µmol/L	İbuprofen
Uygulanmaz	Talk	%0,05 (a/h)	Talk pudrası

Yöntem korelasyonu

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

Deming regresyonu sonuçları Şekil 8 içinde gösterilmiştir.

Şekil 8 **cobas®** BKV'nin karşılaştırma testiyle kıyaslandığı regresyon analizi



Çapraz kontaminasyon

cobas® BKV için çapraz kontaminasyon oranı, BKV negatif matris numunesinin 240 kopyası ve yaklaşık $1,00E+09$ IU/mL'de yüksek titreli BKV DNA 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 %0,0 olarak saptanmıştır (üst tek taraflı %95 güven aralığı %1,24).

cobas® 6800/8800 Sistemleri üzerinde gerçekleştirilen klinik performans değerlendirmesi

EDTA içeren plazma numunesi tipi için cobas® BKV'nin yeniden üretilebilirliği

cobas® BKV'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 konsantrasyon başına toplamda 270 testte (kontroller hariç) değerlendirme yapılmıştır. Paneller, BKV VCA IgG negatif olan ve plazma NAT salma protokolüyle BKV için test edilip BKV DSÖ uluslararası standardı veya BKV genotip 1b (en yaygın genotip) kültürlü virüs DNA'sı eklenmiş EDTA içeren plazmadan oluşturulmuştur. Merkezlerin her birinde ikişer operatör, her bir reaktif lotunu 5 gün boyunca test etmiştir. Her gün 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 26 içinde özetlenmiştir.

Tablo 26 Pozitif panel üyesine göre toplam varyansın atfedilebilir yüzdesi (%TV), toplam kesinlik Standart Sapması (SD) ve BKV DNA konsantrasyonu ($\log_{10}$ IU/mL) için lognormal CV (%)

Beklenen BKV DNA Konsantrasyonu ($\log_{10}$ IU/mL)	Gözlemlenen Ortalama ^a BKV 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 Lognormal CV (%) ^d
1,81	1,74	270	%9 (20,63)	%6 (17,69)	%0 (0,00)	%7 (19,15)	%78 (68,05)	0,304	79,43
3,70	3,52	270	%10 (9,79)	%10 (9,57)	%14 (11,44)	%25 (15,16)	%40 (19,38)	0,131	30,91
4,70	4,51	270	%3 (4,42)	%24 (13,46)	%0 (0,00)	%56 (20,58)	%17 (11,27)	0,118	27,71
5,70	5,54	270	%7 (5,66)	%28 (11,50)	%0 (0,00)	%40 (13,85)	%25 (10,84)	0,094	21,94
7,70	7,62	269	%4 (3,27)	%49 (11,00)	%0 (0,00)	%13 (5,60)	%34 (9,10)	0,068	15,74

^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; BKV = BK virüsü.

cobas® BKV, doğrusal aralık genelindeki konsantrasyonlarda kabul edilebilir 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® BKV kullanıldığında eşdeğerlik göstermiştir. Aynı gönüllüden yapılan 2 ölçüm arasındaki fark için tahmini %95 güven limitlerinin (CL'ler) hepsi $\pm 0,84 \log_{10}$ IU/mL değerindeydi. Bu, testin klinik olarak önemli olduğu düşünülen BKV DNA seviyelerindeki değişiklikleri değerlendirebildiğine işaret etmektedir.

cobas® 6800/8800 Sistemlerinde gerçekleştirilen negatif panel üyelerine yönelik 270 geçerli testin her birinde numune “Hedef Saptanmadı” sonucu vermiştir, bu nedenle negatif uyum yüzdesi (NPA) %100'dür ve tam %95 GA değeri %98,6 ila %100'dür.

EDTA içeren plazma numunesi tipi için cobas® BKV'nin performansı

Üç test merkezinde, BKV enfeksiyonu olan ve olmayan hastaların klinik numunelerindeki (seyreltilmiş ve seyreltilmemiş) ve kültürlenmiş BKV virüsü katılmış EDTA içeren yapay plazma numunelerindeki BKV DNA seviyeleri ölçülmüş ve yaygın kullanılan, laboratuvarında geliştirilmiş nükleik asit testiyle (LDT) (karşılaştırma testi BKV LDT) karşılaştırılarak **cobas®** BKV'nin klinik performansı daha ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmiştir. **cobas®** BKV ve karşılaştırma amaçlı BKV testi ile test edilen numunelerden toplam 550'si (129 transplantasyon hastasından alınan 217 seyreltilmemiş ve 303 seyreltilmiş klinik numune ve 30 yapay numune) her iki testte de geçerli ve klinik uyum analizi bakımından değerlendirilebilir olmuştur (Tablo 27).

Tablo 27 **cobas®** BKV'nin ve karşılaştırma testi LDT'nin BKV DNA seviyesi sonuçları arasında uyum analizi

cobas® BKV (log ₁₀ IU/mL)	Karşılaştırma Testi BKV LDT (log ₁₀ IU/mL) Hedef Saptanmadı	Karşılaştırma Testi BKV LDT (log ₁₀ IU/mL) < LLoQ (< 2,3)	Karşılaştırma Testi BKV LDT (log ₁₀ IU/mL) 2,3 ila < 3,0	Karşılaştırma Testi BKV LDT (log ₁₀ IU/mL) 3,0 ila < 3,7	Karşılaştırma Testi BKV LDT (log ₁₀ IU/mL) 3,7 ila 4,4	Karşılaştırma Testi BKV LDT (log ₁₀ IU/mL) > 4,4	Top- lam
Hedef Saptanmadı	107	7	5	0	0	0	119
< LLoQ (< 2,3)	23	51	39	0	0	0	113
2,3 ila < 3,0	0	3	40	62	1	0	106
3,0 ila < 3,7	0	0	1	71	42	0	114
3,7 ila 4,4	0	0	0	0	26	26	52
> 4,4	0	0	0	0	1	45	46
Toplam	130	61	85	133	70	71	550
Sütun Uyumu (%)	(130/130) %100,0	(61/61) %100,0	(80/85) %94,1	(133/133) %100,0	(69/70) %98,6	(71/71) %100,0	-
(%95 GA skoru) ^a	(%97,1, %100)	(%94,1, %100,0)	(%87,0, %97,5)	(%97,2, %100,0)	(%92,3, %99,7)	(%94,9, %100,0)	-

Not: CI = Güven Aralığı; LLoQ = Karşılaştırma Testi BKV LDT'nin alt ölçme sınırı (200 IU/mL = 2,3 log₁₀ IU/mL). Karşılaştırma Testi BKV LDT'nin Standart Sapmasının 0,37 log₁₀ IU/mL olduğu tahmin edilmektedir (Indiana University BKV LDT analitik kesinlik çalışması). 2σ aralıklarında, 3,0 log₁₀ IU/mL analit konsantrasyonu LLoQ + 2σ göstermiş, 3,7 log₁₀ IU/mL analit konsantrasyonu LLoQ + 4σ göstermiş ve 4,4 log₁₀ IU/mL analit konsantrasyonu LLoQ + 6σ göstermiştir. Klinik uyum analizi için değerlendirilebilir olan eşlenmiş numuneler bu tabloya dahil edilmiştir.

^a Tüm numuneler arasındaki varsayılan bağımsızlık.

Uyumsuz sonuçlar, çaprazdan (gölgelemeyle belirtilmiştir) bir kutudan daha uzak olan sonuçlar olarak tanımlanmıştır. LDT Sütun Uyumuna göre Hedef Saptanmadı (HS) için, **cobas®** BKV Hedef Saptanmadı ve < LLoQ (< 2,3) 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® BKV ile NPA'nın tahmin edilmesi için alınan 43 BKV DNA negatif numuneden 43'ünde de **cobas®** BKV testiyle negatif sonuç alınmıştır, bu nedenle NPA %100 olup, %95 Tam GA %91,8 ila %100'dür.

cobas® BKV ile karşılaştırma testi BKV LDT arasındaki uyum farklı klinik eşikler kullanılarak da değerlendirilmiştir (Tablo 28).

Tablo 28 Tüm numuneler için farklı eşikler kullanıldığında **cobas®** BKV ile karşılaştırma testi BKV LDT arasındaki uyumunun özeti

Eşikler*	Uyum Yüzdesi < Eşik %95 GA (n/N)	Uyum Yüzdesi ≥ Eşik %95 GA (n/N)
Hedef Saptanmadı	%82,3 (107/130) (%74,8, %87,9)	%97,1 (408/420) (%95,1, %98,4)
LLoQ (2,3 log ₁₀ IU/mL)	%98,4 (188/191) (%95,5, %99,5)	%87,7 (315/359) (%83,9, %90,7)
3,0 log ₁₀ IU/mL	%99,6 (275/276) (%98,0, %99,9)	%77,0 (211/274) (%71,7, %81,6)
4,0 log ₁₀ IU/mL	%100,0 (447/447) (%99,1, %100,0)	%67,0 (69/103) (%57,4, %75,3)

Not: Hedef Saptanmadı sonucu alınan numuneler, IU/mL cinsinden < eşik değeri şeklinde kategorize edilmiştir.

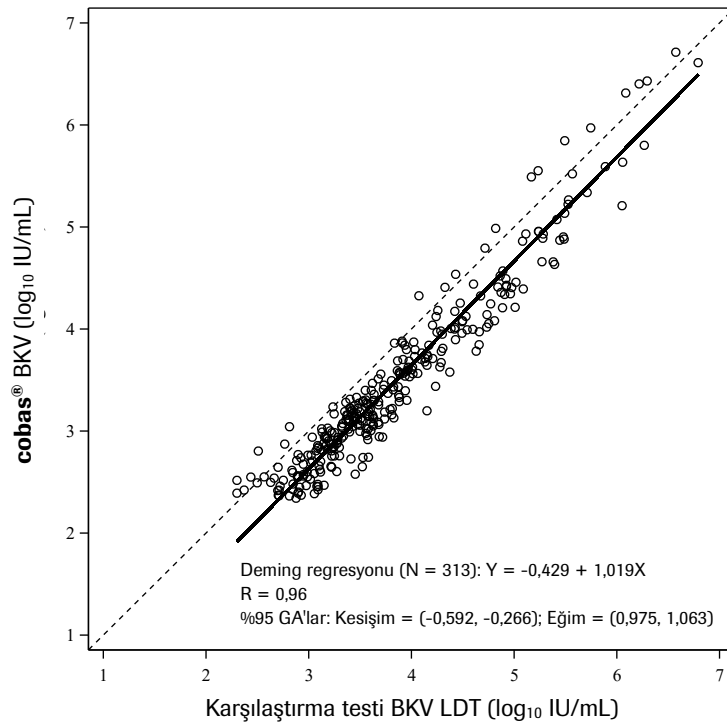
LLoQ = Karşılaştırma Testi BKV LDT'nin alt ölçme sınırı (200 IU/mL = 2,3 log₁₀ IU/mL).

%95 güven aralığı (GA), numuneler arasında bağımsızlık olduğu varsayılarak Skor yöntemiyle hesaplanmıştır.

* 1000 IU/ml = 3,0 log₁₀ IU/ml ve 10.000 IU/ml = 4,0 log₁₀ IU/ml eşikleri.

cobas® BKV ile test edilen tüm numunelerden, karşılaştırma amaçlı BKV testinde BKV pozitif çıkan numune sayısı toplam 313'tür (68 transplantasyon hastasından alınan 133 seyreltilmemiş ve 159 seyreltilmiş klinik numune ve 21 yapay numune) ve bunlar üç test merkezinde korelasyon analizi için değerlendirilebilir olmuştur (Şekil 9).

Şekil 9 Tüm numuneler için **cobas®** BKV ve karşılaştırma testi BKV 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 (-0,404 ila -0,168) olmuştur ve bu değer, $\pm 0,74 \log_{10}$ IU/mL ($\pm$ karşılaştırma testi BKV LDT'nin analitik kesinlik standart sapmasının 2 katı) dahilindedir. Ayrıca ortalama yanlışlık -0,357 $\log_{10}$ IU/mL olarak tahmin edilmektedir ve yanlışlık grafiklerindeki uydurulmuş doğru denklemi kullanıldığında, 3 ve 4 $\log_{10}$ IU/mL DNA seviyelerine sahip numuneler için iki test arasındaki sistematik fark sırasıyla -0,343 $\log_{10}$ IU/mL ve -0,362 $\log_{10}$ IU/mL olarak gerçekleşmiştir.

Stabilize edilmiş idrar numunesi tipi için cobas® BKV'nin yeniden üretilebilirliği

cobas® BKV'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 konsantrasyon başına toplamda 270 testte (kontroller hariç) değerlendirme yapılmıştır. Paneller; idrar nükleik asit testi (NAT) salma protokolü kullanılarak BKV DNA için negatif olduğu doğrulanmış ve BKV DSÖ uluslararası standardı veya BKV genotip Ia kültürlü virüs DNA'sı eklenen, cobas® PCR Media ile stabilize edilmiş idrardan oluşturulmuştur. Merkezlerin her birinde ikişer operatör, her bir reaktif lotunu 5 gün boyunca test etmiştir. Her gün 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 29 içinde özetlenmiştir.

Tablo 29 Pozitif panel üyesine (stabilize edilmiş idrar) göre toplam varyansın atfedilebilir yüzdesi (%TV), toplam kesinlik Standart Sapması (SD) ve BKV DNA konsantrasyonu ($\log_{10}$ IU/mL) için lognormal CV (%)

Beklenen BKV DNA Konsantrasyonu	Gözlemlenen Ortalama ^a BKV DNA Konsantrasyonu	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
2,78	2,92	270	%59 (12,64)	%0 (1,15)	%0 (0,00)	%0 (0,00)	%40 (10,41)	0,071	16,47
3,70	3,78	270	%47 (8,14)	%2 (1,62)	%8 (3,31)	%0 (0,00)	%43 (7,72)	0,051	11,83
4,70	4,80	270	%38 (5,02)	%2 (1,28)	%6 (2,07)	%0 (0,00)	%53 (5,96)	0,035	8,17
5,70	5,70	270	%21 (3,12)	%0 (0,00)	%0 (0,00)	%0 (0,00)	%79 (6,12)	0,030	6,87
7,70	7,69	270	%2 (1,51)	%19 (4,84)	%6 (2,79)	%0 (0,00)	%73 (9,53)	0,048	11,17

Not: Tabloya yalnızca saptanabilir DNA seviyeleri olan sonuçlar dahil edilmiştir. SD = standart sapma; CV = yüzdelik varyasyon katsayısı; BKV = BK Virüsü.

^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.

cobas® BKV, doğrusal aralık genelindeki konsantrasyonlarda kabul edilebilir klinik yeniden üretilebilirlik göstermiştir. Ayrıca sistem $3 \times \text{LLoQ}$ numunelerin %100'ünü saptamıştır. cobas® 6800 ve cobas® 8800 Sistemleri aynı modüler tasarıma sahiptir ve cobas® BKV kullanıldığında eşdeğerlik göstermiştir. Aynı gönüllüden yapılan 2 ölçüm arasındaki fark için tahmini %95 güven limitlerinin (CL'ler) hepsi $\pm 0,20 \log_{10}$ IU/mL değerindeydi. Bu, testin klinik olarak önemli olduğu düşünülen BKV DNA seviyelerindeki değişiklikleri değerlendirebildiğine işaret etmektedir. Sistem, %99,26 değerinde

negatif uyum yüzdesi göstermiş ve GA %97,3 ile %99,9 olmuştur. Negatif panel üyelerine yönelik 270 geçerli testten 2 numune (%0,74), < LLoQ pozitiflik DNA seviyesi göstermiştir. Bu sonuçlara ilişkin daha ayrıntılı araştırma, bunların belli bir cihaz/merkez veya reaktif lotuyla ilişkili olmadığını göstermiştir. İlave DNA sekanslama, BKV varlığını doğrulamıştır. Tanımlanan BKV sekansları, panel hazırlığında kullanılan pozitif kontrolden ve BKV suşundan farklıdır. Bu durum, panel hazırlığı sırasında kontaminasyonu elemekte ve negatif panel hazırlığında kullanılan havuzlanmış idrar numunesini oluşturan 25 idrar numunesinden birinde eser miktarda virüri olduğuna işaret etmektedir.

Stabilize edilmiş idrar numunesi tipi için cobas® BKV'nin performansı

Üç test merkezinde, BKV enfeksiyonu olan ve olmayan hastaların cobas® PCR Media içinde stabilize edilmiş klinik idrar numunelerindeki BKV DNA seviyeleri ölçülmüş ve yaygın kullanılan bir LDT (karşılaştırma testi BKV LDT) ile karşılaştırılarak cobas® BKV'nin klinik performansı daha ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmiştir.

cobas® BKV ve karşılaştırma amaçlı BKV testi ile test edilen numuneler arasında, 84 transplantasyon gönüllüsünden alınmış, cobas® PCR Media içinde stabilize edilmiş ve seyreltilmemiş idrar numunelerinden toplam 308'i her iki testte de geçerli ve klinik uyum analizi bakımından değerlendirilebilir olmuştur (Tablo 30).

Tablo 30 Tüm numuneler için (stabilize edilmiş idrar) cobas® BKV'nin ve karşılaştırma testi LDT'nin BKV DNA seviyesi (log₁₀ IU/mL) sonuçları arasında uyum analizi

cobas® BKV (log ₁₀ IU/mL)	Karşılaştırma Testi BKV LDT Hedef Saptanmadı	Karşılaştırma Testi BKV LDT < LLoQ (< 3,0)	Karşılaştırma Testi BKV LDT 3,0 ila < 3,3	Karşılaştırma Testi BKV LDT 3,3 ila < 3,6	Karşılaştırma Testi BKV LDT 3,6 ila 3,9	Karşılaştırma Testi BKV LDT > 3,9	Toplam
Hedef Saptanmadı	62	6	0	0	0	0	68
< LLoQ (< 3,0)	4	22	0	0	0	1	27
3,0 ila < 3,3	0	2	0	0	0	0	2
3,3 ila < 3,6	0	0	6	3	0	0	9
3,6 ila 3,9	0	0	2	11	10	0	23
> 3,9	0	0	0	2	8	169	179
Toplam	66	30	8	16	18	170	308
Sütun Uyumu (%)	(66/66) %100,0	(30/30) %100,0	(6/8) %75,0	(14/16) %87,5	(18/18) %100,0	(169/170) %99,4	-
(%95 GA skoru) ^a	(%94,5, %100,0)	(%88,6, %100,0)	(%40,9, %92,9)	(%64,0, %96,5)	(%82,4, %100,0)	(%96,7, %99,9)	-

Not: CI = Güven Aralığı; LLoQ = Karşılaştırma Testi BKV LDT'nin alt ölçme sınırı (1000 IU/mL = 3,0 log₁₀ IU/mL); LDT = laboratuvarında geliştirilmiş test; BKV = BK virüsü.

Karşılaştırma Testi BKV LDT'nin Standart Sapmasının 0,15 log₁₀ IU/mL olduğu tahmin edilmektedir (karşılaştırma Testi BKV LDT doğrulama çalışması).

2σ aralıklarında, 3,3 log₁₀ IU/mL analit konsantrasyonu LLoQ + 2σ göstermiş, 3,6 log₁₀ IU/mL analit konsantrasyonu LLoQ + 4σ göstermiş ve 3,9 log₁₀ IU/mL analit konsantrasyonu LLoQ + 6σ göstermiştir.

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

^a Tüm numuneler arasındaki varsayılan bağımsızlık.

Sonuçları istikrarlı bir şekilde $1 \log_{10}$ IU/mL DNA'dan fazla kaçık olan gönüllülerin temsili numunelerindeki DNA sekanslaması, **cobas®** BKV 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®** BKV Hedef Saptanmadı ve $< \text{LLOQ}$ ($< 3,0$) hücreleri birleştirilmiştir. HS sütunu için yan yana $< \text{LLOQ}$ ve HS hücreleri konmasının sebebi, HS ile $< \text{LLOQ}$ arasındaki farkın klinik bakımdan anlamlı olmaması ve bunların analitik olarak, ölçüm aralığının rastgele hatadan etkilenebilen alt ucunda olmasıdır. **cobas®** BKV ile NPA'nın tahmin edilmesi için alınan 66 BKV DNA negatif numuneden 61'i geçerli sonuçlar sağlamış, 61 numunenin her birinde **cobas®** BKV testiyle negatif sonuç alınmıştır, bu nedenle NPA %100 olup, %95 Tam GA %94,1 ila %100'dür.

cobas® BKV ile karşılaştırma testi BKV LDT arasındaki uyum farklı klinik eşikler kullanılarak da değerlendirilmiştir (Tablo 31).

Tablo 31 Tüm numuneler (stabilize edilmiş idrar) için farklı eşikler kullanıldığında **cobas®** BKV ile karşılaştırma testi BKV LDT arasındaki uyumunun özeti

Eşik*	Uyum Yüzdesi < Eşik %95 GA (n/N)	Uyum Yüzdesi ≥ Eşik %95 GA (n/N)
Hedef Saptanmadı	%93,9 (62/66) (%85,4, %97,6)	%97,5 (236/242) (%94,7, %98,9)
LLOQ ($3,0 \log_{10}$ IU/mL)	%97,9 (94/96) (%92,7, %99,4)	%99,5 (211/212) (%97,4, %99,9)
$4,0 \log_{10}$ IU/mL	%90,9 (130/143) (%85,1, %94,6)	%99,4 (164/165) (%96,6, %99,9)
$7,0 \log_{10}$ IU/mL	%97,2 (242/249) (%94,3, %98,6)	%94,9 (56/59) (%86,1, %98,3)

Not: Hedef Saptanmadı sonucu alınan numuneler, IU/mL cinsinden $<$ eşik değeri şeklinde kategorize edilmiştir.

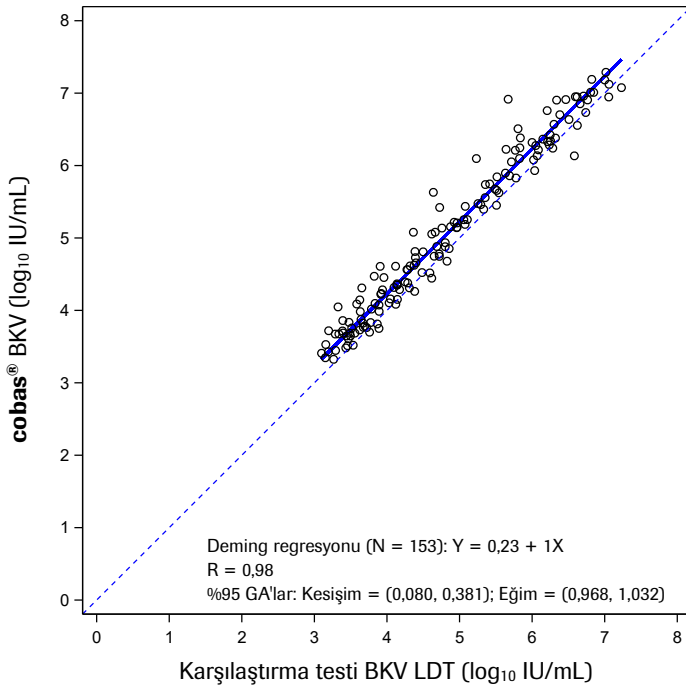
LLOQ = Karşılaştırma Testi BKV LDT'nin alt ölçme sınırı ($1000 \text{ IU/mL} = 3,0 \log_{10} \text{ IU/mL}$).

%95 güven aralığı (GA), numuneler arasında bağımsızlık olduğu varsayılarak Skor yöntemiyle hesaplanmıştır.

* $10.000 \text{ IU/mL} = 4,0 \log_{10} \text{ IU/mL}$ ve $10.000.000 \text{ IU/mL} = 7,0 \log_{10} \text{ IU/mL}$ eşikleri.

cobas® BKV ile test edilen tüm numunelerden, karşılaştırma amaçlı BKV testinde BKV pozitif çıkan **cobas®** PCR Media içinde stabilize edilmiş, seyreltilmemiş numune sayısı toplam 153'tür (55 transplantasyon hastasından alınmıştır) ve bunlar üç test merkezinde korelasyon analizi için değerlendirilebilir olmuştur (Şekil 10).

Şekil 10 Tüm numuneler için **cobas®** BKV ve karşılaştırma testi BKV LDT arasındaki korelasyon: DNA seviyelerinin Deming doğrusal regresyon grafiği ($\log_{10}$ IU/mL) (stabilize edilmiş idrar)



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 (0,168 ila 0,488) olmuştur ve bu değer, $\pm 0,5 \log_{10}$ IU/mL dahilindedir. Ayrıca ortalama yanlışlık $0,231 \log_{10}$ IU/mL olarak tahmin edilmektedir ve yanlışlık grafiklerindeki uydurulmuş doğru denklemi kullanıldığında, $4 \log_{10}$ IU/mL ve $7 \log_{10}$ IU/mL DNA seviyelerine sahip numuneler için iki test arasındaki sistematik fark sırasıyla $0,248 \log_{10}$ IU/mL ve $0,188 \log_{10}$ 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	cobas® PCR Media içinde stabilize edilmiş İdrar
Gereken minimum numune miktarı	375 µL*	575 µL*
Numune işlemi hacmi	200 µL	400 µL
Analitik hassasiyet	21,5 IU/mL (iki taraflı %95 güven aralığı: 16,3–32,4 IU/mL)	12,2 IU/mL (iki taraflı %95 güven aralığı: 9,2–18,3 IU/mL)
Doğrusal aralık	21,5 IU/mL ila 1E+08 IU/mL	200 IU/mL ila 1E+08 IU/mL
Özgüllük	%100	%100
Saptanan alt tipler	BKV alt tipleri I (alt grup Ia ve Ic ile), II, III ve IV	

* **cobas omni** sekonder tüpler için 175 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 32 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
 Σ $<n>$ 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 33 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

©2022 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. Morel V, Martin E, Francois C, et al. A Simple and Reliable Strategy for BK Virus Subtyping and Subgrouping. *J Clin Microbiol*. 2017;55:1177-85. PMID: 28151406.
4. Egli A, Infanti L, Dumoulin A, et al. Prevalence of polyomavirus BK and JC infection and replication in 400 healthy blood donors. *J Infect Dis*. 2009;199:837-46. PMID: 19434930.
5. Pinto M, Dobson S. BK and JC virus: a review. *J Infect*. 2014;68 Suppl 1:S2-8. PMID: 24119828.
6. Hirsch HH, Randhawa PS, AST Infectious Diseases Community of Practice. BK polyomavirus in solid organ transplantation-Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clin Transplant*. 2019;33:e13528. PMID: 30859620.
7. Ambalathingal GR, Francis RS, Smyth MJ, Smith C, Khanna R. BK Polyomavirus: Clinical Aspects, Immune Regulation, and Emerging Therapies. *Clin Microbiol Rev*. 2017;30:503-28. PMID: 28298471.
8. Yamada Y, Tsuchiya T, Inagaki I, Seishima M, Deguchi T. Prediction of Early BK Virus Infection in Kidney Transplant Recipients by the Number of Cells With Intranuclear Inclusion Bodies (Decoy Cells). *Transplant Direct*. 2018;4:e340. PMID: 29464201.
9. Nickeleit V, Singh HK. Polyomaviruses and disease: is there more to know than viremia and viruria? *Curr Opin Organ Transplant*. 2015;20:348-58. PMID: 25933251.
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 Services, 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-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.
17. Goetsch HE, Zhao L, Gnegy M, et al. Fate of the Urinary Tract Virus BK Human Polyomavirus in Source-Separated Urine. *Appl Environ Microbiol*. 2018;84. PMID: 29374036.

18. Boan P, Hewison C, Swaminathan R, et al. Optimal use of plasma and urine BK viral loads for screening and predicting BK nephropathy. *BMC Infect Dis.* 2016;16:342. PMID: 27448566.

Belge revizyonu

Belge revizyonu bilgileri	
Doc Rev. 1.0 03/2022	Birinci basım.
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.

Güvenlik ve performans raporunun özeti, aşağıdaki bağlantı adresi kullanılarak bulunabilir:

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