

cobas[®] DPX

İkili HAV & parvovirüs B19 nükleik asit testi

In vitro diagnostik kullanım içindir

cobas [®] DPX – 192	P/N: 09171126190
cobas [®] DPX Control Kit	P/N: 09040749190
cobas [®] Buffer Negative Control Kit	P/N: 09051953190
cobas omni MGP Reagent	P/N: 06997546190
cobas omni Specimen Diluent	P/N: 06997511190
cobas omni Lysis Reagent	P/N: 06997538190
cobas omni Wash Reagent	P/N: 06997503190

İçindekiler

Kullanım amacı	4
Test özeti ve açıklaması	4
Reaktifler ve materyaller	7
cobas® DPX reaktifleri ve kontrolleri.....	7
Numune hazırlamada cobas omni reaktifleri	10
Reaktif saklama ve kullanma koşulları	11
Diğer gerekli materyaller	12
Gerekli cihazlar ve yazılımlar.....	12
Önlemler ve taşıma gereklilikleri	13
Uyarılar ve önlemler	13
Reaktif kullanımı	13
İyi laboratuvar uygulamaları.....	14
Numune toplama, taşıma, saklama ve havuzlama	14
Canlı donör numuneleri.....	14
Kullanım talimatları	17
Otomatik numune pipetleme ve havuzlama (isteğe bağlı)	17
Parvovirüs B19 için eşik değerinin ayarlanması.....	17
Prosedürle ilgili notlar	17
cobas® DPX testinin çalıştırılması.....	18
Sonuçlar	19
Kalite kontrol ve sonuçların geçerliliği.....	19
Sonuçların yorumlanması	19
Tekli numunelerin test işlemini tekrarlama	20
Prosedür ile ilgili sınırlamalar.....	20

Klinik olmayan performans değerlendirmesi.....	21
Önemli performans özellikleri – Canlı donör numuneleri.....	21
Saptama limiti (LoD).....	21
Parvovirüs B19 miktar tayininin doğrusal aralığı	22
Tekrar üretilebilirlik.....	22
Kesinlik.....	23
Genotip kapsama – HAV.....	23
Parvovirüs B19 için genotip doęrulaması.....	24
Analitik özgüllük.....	25
Analitik özgüllük – etkileşimde bulunan maddeler	26
Korelasyon	27
Tüm sistem hatası.....	28
Çapraz kontaminasyon	28
Klinik performans.....	29
Tekrar üretilebilirlik.....	29
Ek bilgiler	31
Temel test özellikleri	31
Semboller.....	32
Teknik destek.....	33
Üretici ve ithalatçı	33
Ticari markalar ve patentler.....	33
Telif hakkı.....	33
Referanslar.....	34
Belge revizyonu.....	38

Kullanım amacı

cobas® DPX testi, insan plazmasında parvovirüs B19 genotip 1, 2 ve 3 DNA'sının doğrudan kantitasyonu ve hepatit A virüsü (HAV) genotip I, II ve III RNA'sının doğrudan kalitatif saptaması için bir *in vitro* testtir.

Bu test, tam kan, kan bileşenleri veya plazma donörlerinden toplanan ve ileri üretimi amaçlanan plazmada tek başına parvovirüs B19 DNA'sını ölçmek veya eş zamanlı olarak parvovirüs B19 DNA'sını ölçmek ve HAV RNA'sını saptamak için bir proses içi test olarak kullanıma yöneliktir. Tüm donörlerden veya üretim havuzlarından alınan plazma ayrı numuneler olarak test edilebilir veya ayrı numunelerin alikotlarını içeren havuzlar halinde test edilebilirler.

Bu test, kordon kanı numunelerinde kullanıma yönelik değildir.

Bu test, parvovirüs B19 veya HAV tanısına yardımcı olarak kullanıma yönelik değildir.

Test özeti ve açıklaması

Temel bilgiler: Nakille bulaşan viral enfeksiyonlar için kanın taranması

İnsan parvovirüs B19, *Parvoviridae* familyasının Eritrovirüs cinsine ait küçük, zarfsız, tek zincirli bir DNA virüsüdür.¹ İnsan eritrovirüsleri üç ayrı genotipte gruplandırılır: genotip 1 (B19 suşları), genotip 2 (A6 suşları) ve genotip 3 (V9/D91/1 suşları).^{2,3} Neredeyse tüm virüs numuneleri genotip 1'dir.¹ Genotip 2 sporadik olarak ABD, Avrupa ve Güney Amerika'da, çoğunlukla 1940'tan önce doğan hastalarda bulunur.¹ Genotip 3 çoğunlukla Kuzey ve Batı Afrika'da görülür, ancak Fransa'da da tanımlanmıştır.¹

Parvovirüs B19 dünya çapında dağılım gösteren yaygın bir patojendir. Geçirilmiş bir enfeksiyonu işaret edecek şekilde dolaşımda olan B19 IgG antikorlarının prevalansı yaşla birlikte artmakta ve 1 ila 4 yaşındaki çocukların yaklaşık %20'sinden yetişkinlerin %60'ından fazlasına ve geriatric popülasyonda %85'e kadar çıkmaktadır.⁴⁻⁶ Antikor genel popülasyonda yaygın olmasına rağmen viremi veya viral DNA varlığı nadirdir.⁴ Klinik hastalığın manifestasyonu ve şiddeti, enfekte bireyin immünolojik ve hematolojik durumuna bağlıdır.^{1,7,8} Bağışıklık sistemi güçlü bireylerde enfeksiyon genellikle asemptomatiktir veya çocuklarda erythema infectiosum ("beşinci hastalık") veya yetişkinlerde artropati gibi hafif, kendi kendini sınırlayan hastalıklarla sonuçlanabilir.^{1,7,9,10} Ancak Parvovirüs B19, hematolojik bozukluğu olan hastalarda geçici aplastik anemi gibi ciddi hastalıklara veya hidrops fetalis, konjenital anemi ve hamile kadınlarda fetüs kaybına neden olabilir.^{1,7,11-13} Kan ve plazma donörlerinde parvovirüs B19 prevalansı %0,16 ila %0,9 arasında değişmekte olup çoğunda viral DNA seviyesi çok düşüktür.¹⁴⁻¹⁸ Plazma üreticisi sektöründe yapılan çalışmalar daha düşük bir prevalans bildirmektedir.¹⁹

Parvovirüs B19 normalde solunum yoluyla bulaşır, ancak plazma ürünleri ve kırmızı kan hücresi transfüzyonu yoluyla da bulaşma meydana gelebilir.^{1,20} Faktör VIII konsantrisi, diğer koagülasyon faktörleri ve solvent/deterjan ile işlenmiş havuzlanmış plazma dahil olmak üzere plazma ürünlerinde parvovirüs B19 DNA'sının saptanması ve alıcılara bulaşması literatürde ayrıntılı olarak açıklanmıştır.²⁰⁻³⁰ Plazma ürünleri ile ilişkili bulaşma, plazma havuzlarının büyüklüğü; akut, belirgin olmayan parvovirüs B19 enfeksiyonlarının insidansı; viremik bağışlarda yüksek viral DNA seviyeleri (10¹² IU/mL'ye kadar) ve parvovirüs B19'un solvent/deterjan (S/D) işlemi veya pastörizasyon gibi yaygın viral inaktivasyon veya giderme adımlarının çoğuna karşı olan direnci ile ilişkilendirilmiştir.^{20,21,27-30} Kırmızı kan hücresi transfüzyonundan parvovirüs B19 bulaşmasına ilişkin çok az sayıda klinik vaka bildirilmiştir.²⁰ Ayrıca, düşük ila orta seviyede parvovirüs B19 DNA'sı (< 10⁶ IU/mL) içeren bileşenlerin alıcılara bulaşması son derece nadirdir.²⁰

HAV, *Picornaviridae* familyasının Hepatovirüs grubuna ait küçük, zarfsız bir RNA virüsüdür.³¹ HAV küresel bir dağılıma sahiptir ve temel olarak yakın kişisel temas yoluyla, oral-fekal yolla bulaşır.³²⁻³⁴ Birkaç genotip ve alt tip tanımlanmıştır.³⁴ Epidemiyoloji, sağlık hizmetleri standartlarının düşük olduğu gelişmekte olan ülkelerde yaygındır ve enfeksiyon tipik olarak

yaşamın erken dönemlerinde edinilir ve nüfusun büyük bir kısmının HAV'a karşı koruyucu antikorlara sahip olmasıyla sonuçlanır.³¹⁻³⁴ Endüstriyelmiş ülkelerde, virüsün insidansındaki düşüş ve aşuların kullanılabilirliği, yetişkinlik döneminde enfeksiyona doğru bir kaymaya yol açmıştır.^{31,34} Kuzey Avrupa, Japonya, Kanada ve ABD'de virüsün genel popülasyondaki prevalansı çok düşüktür (~%0,01) ve salgınlar çoğunlukla endemik bölgelere seyahat edenler gibi risk gruplarıyla ilişkilidir.^{32,33}

İnsanlardaki HAV enfeksiyonları, çoğunlukla küçük çocuklarda görülen asemptomatik enfeksiyonlar ile bazı vakalarda ölüme yol açabilen fulminan hepatit aralığında değişmektedir.^{31,32} HAV, kronik taşıyıcı durumu olmadan iyileşen akut bir enfeksiyona neden olur; sonuç olarak HAV nadiren transfüzyonla ilişkili bir enfeksiyondur ve kan bankaları, bağışları HAV varlığı açısından test etmek yerine hepatit öyküsü olan donörleri elemek için donörün tıbbi geçmişine güvenir.³⁵ Hafif karaciğer hastalığı ile sonuçlanan ve HAV transfüzyonu ile bulaşan sadece birkaç enfeksiyon bildirilmiştir.^{36,37} Serolojik pencere döneminde kanda enfeksiyöz HAV bulunabilmesine rağmen, HAV'ın transfüzyon yoluyla bulaşma riski çok düşüktür.^{35,38} Asemptomatik viremik durumdaki donörlerden HAV bulaşması da bildirilmiştir.³⁵⁻³⁸ HAV bir lipit zarfına sahip değildir ve dolayısıyla plazma türevi üretimi sırasında olduğu gibi S/D işlemi veya pastörizasyon yoluyla kolaylıkla etkisiz hale getirilemez.³⁵ Sonuç olarak, başta koagülasyon faktörleri olmak üzere plazma ürünleri yoluyla HAV bulaşması bildirilmiştir.^{36,39,40}

Tek bir bağışın hem parvovirüs B19 DNA'sı hem de HAV RNA'sı içerebilmesine karşın, donör popülasyonunda parvovirüs B19/HAV ko-enfeksiyonunun yaygınlığı literatürde yeterince çalışılmamış veya belgelenmemiştir.⁴¹⁻⁴³ Donör popülasyonunun bir parçası olmayan bebeklerde ve çocuklarda insan parvovirüs B19/HAV ko-enfeksiyonuna ilişkin nadir vakalar bildirilmiştir.⁴¹⁻⁴³ Ko-enfeksiyon riski, her bir virüsün prevalansı kullanılarak hesaplanabilir. Donör popülasyonunda HAV prevalansı yeterince tanımlanmamış olsa da, genel popülasyondaki prevalans ~%0,01'dir ve kaynak plazma donörü popülasyonunda daha düşüktür (~%0,0004).^{32,33,44,45} ~%0,9'luk parvovirüs B19 prevalansını kullanarak¹⁴⁻¹⁸, parvovirüs B19/HAV ko-enfeksiyonunun hesaplanan riski ~%0,0000036 (%0,0004 × %0,9) veya ~28.000.000 bağışta 1'dir.

NAT testinin gerekçesi

HAV ve parvovirüs B19 kontaminasyonunu saptamak için NAT testi kullanılabilir. 2000'li yılların başlarında, bazı plazma üreticileri, her iki virüsün plazma ürünlerine bulaştığına dair raporlara yanıt olarak HAV RNA ve parvovirüs B19 DNA NAT testi ile ileri üretim için plazma taraması başlatmıştır.⁴⁶ Proses içi test olarak kabul edilen NAT testinin amacı, HAV ile kontamine olan birimleri çıkarmak ve plazma havuzlarındaki parvovirüs B19 yükünü azaltmaktır.⁴⁷ 2004 yılında Avrupa Farmakopesi, tüm üreticilerin, insan anti-D immüno globulin üretimi için kullanılan üretim havuzlarında ve virüs inaktivasyonu için işlem görmüş havuzlanmış insan plazmasında parvovirüs B19 DNA seviyelerinin 10⁴ IU/mL'nin altında olmasını sağlamasını zorunlu tutmaya başlamıştır.⁴⁸ Benzer şekilde, 2009 tarihli FDA Kılavuzu, plazma ürünü üreticilerine, üretim havuzundaki parvovirüs B19 DNA viral yükünün 10⁴ IU/mL'yi aşmadığından emin olmak için tüm plazma türevli ürünlerde parvovirüs B19 NAT gerçekleştirmelerini önermektedir.**Error! Hyperlink reference not valid.** ABD veya Avrupa düzenleyici kurumları şu anda ileri üretim için kullanılan plazma havuzlarında HAV NAT testi yapılmasını zorunlu kılmamaktadır; ancak Avrupa düzenleyici gereklilikleri, HAV NAT testlerinin üretim havuzunda proses içi testin bir parçası olarak kullanılması durumunda, testin 100 IU/mL HAV RNA içeren bir kontrolü saptayabilmesini öngörmektedir.⁴⁹

Testin açıklaması

cobas® DPX testi, **cobas® 6800** Sistemi ve **cobas® 8800** Sistemi üzerinde çalıştırılan dupleks bir testtir. **cobas® DPX** testi, insan plazmasında eş zamanlı olarak parvovirüs B19 genotip 1, 2 ve 3 DNA'sının kantitasyonunu ve hepatit A virüsü (HAV) genotip I, II ve III RNA'sının kalitatif saptamasını sağlar.

Prosedür prensipleri

cobas® DPX testi, tam otomatik numune hazırlama (nükleik asit ekstraksiyonu ve saflaştırması) ve ardından PCR amplifikasyonu ve saptama ile gerçek zamanlı PCR teknolojisine dayanır. **cobas® 6800/8800** Sistemleri; numune hazırlama modülünden, transfer modülünden, işleme modülünden ve analitik modülden oluşmaktadır. Otomatik veri yönetimi, doğrudan DSÖ B19 Uluslararası Standardına göre izlenebilir bir Kantitasyon Standardı (QS) kullanılarak parvovirüs B19 için kantitatif bir değer (IU/mL) için test sonuçlarını atayan **cobas® 6800/8800** yazılımı tarafından gerçekleştirilir.⁴⁷ **cobas® 6800/8800** yazılımı ayrıca hepatit A virüsünün varlığına ilişkin test sonuçlarını non-reaktif, reaktif veya geçersiz şeklinde atar. Sonuçlar, doğrudan sistem ekranında incelenebilir ve rapor olarak yazdırılabilir.

Numuneler tek tek veya isteğe bağlı olarak birden fazla numuneden oluşan havuzlarda test edilebilir. Havuzlama yapılacaksa, analiz öncesi adımda isteğe bağlı olarak **cobas p 680** cihazı veya Hamilton Microlab® STAR/STARlet IVD ile birlikte **cobas® Synergy** yazılımı kullanılabilir.

Donör numunesinden alınan nükleik asit ve eklenen zırlı RNA dahili kontrol (IC) ve DNA QS molekülleri (numune hazırlama ve amplifikasyon/saptama işleminde kontrol görevi görür) eş zamanlı olarak ekstrakte edilir. Viral nükleik asitler, numuneye proteinaz ve lizis reaktifi eklenerek salınır. Salınan nükleik asit, eklenen manyetik cam partiküllerinin silika yüzeyine bağlanır. Denatüre protein, hücre birikintisi ve potansiyel PCR inhibitörleri (hemoglobin gibi) gibi bağlanmayan maddeler ve safsızlıklar, sonraki reaktif yıkama adımları ile giderilir ve saflaştırılmış nükleik asit, yüksek sıcaklıkta elüsyon tamponu ile manyetik cam partiküllerden elüe edilir.

Hedef nükleik asidin donör numunesinden selektif amplifikasyonu, viral nükleik asidin yüksek oranda korunduğu bölgelerden seçilen, virüse özgü ileri ve geri primerlerin kullanımı ile elde edilir. Ters transkripsiyon ve amplifikasyon için termostabil DNA polimeraz enzimi kullanılır. Master Mix, deoksitimidin trifosfat (dTTP) yerine, yeni sentezlenen DNA'ya (amplikon) dahil edilen deoksiüridin trifosfat (dUTP) içerir.⁵⁰⁻⁵² Önceki PCR çalışmalarından kontamine edici herhangi bir amplikon, PCR Master Mix'e dahil edilen AmpErase enzimi [urasil-N-glikozilaz] tarafından ilk ısıl döngü adımında ısıtıldığında imha edilir. Ancak AmpErase enzimi 55°C üzerinde sıcaklıklara maruz kaldığında etkisiz hale geldiğinden, yeni oluşan amplikonlar imha edilmez.

cobas® DPX Master Mix, B19 ve HAV ile QS ve IC nükleik asidi için spesifik olan saptama problemleri içerir. Spesifik B19, HAV, IC ve QS saptama problemlerinin her biri, haberci olarak işlev gören dört benzersiz floresan boyadan biri ile etiketlenir. Her bir prob, ayrıca söndürücü olarak işlev gören beşinci bir boyaya sahiptir. Dört haberci boya, belirlenen dalga boylarında ölçülür ve bu sayede, amplifikasyon uygulanan B19, HAV hedefleri ile IC ve QS eş zamanlı olarak saptanabilir ve birbirinden ayırt edilebilir.^{53,54} İntakt problemlerin floresan sinyali, söndürücü boya tarafından baskılanır. PCR amplifikasyon adımı sırasında problemlerin spesifik tek zincirli DNA şablonuna 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. Dört spesifik haberci boya belirlenen dalga boylarında ölçüldüğünden, amplifikasyon uygulanan B19 ve HAV hedefi ile QS ve IC eş zamanlı olarak saptanabilir ve birbirinden ayırt edilebilir.

Reaktifler ve materyaller

cobas® DPX reaktifleri ve kontrolleri

Tüm açılmamış reaktifler ve kontroller, Tablo 1 ila Tablo 4 içinde önerilen şekilde saklanmalıdır.

Tablo 1 cobas® DPX testi

cobas® DPX test





2–8°C'de saklayın

192 test kaseti (P/N 09171126190)

Kit bileşenleri	Reaktif içeriği	Kit başına miktar
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
DPX Dahili Kontrol ve Kantitasyon Standardı (DPX IC/QS)	Tris tamponu, < %0,05 EDTA, < %0,01 dahili kontrol zırlı RNA yapısı (MS2 bakteriyofajda kapsüllenmiş bulaşıcı olmayan RNA), < %0,01 lambda bakteriyofaj kaplamalı proteinde kapsüllenmiş bulaşıcı olmayan, sentetik QS B19 DNA, < %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
DPX Master Mix Reagent 2 (DPX MMX-R2)	Trisin tamponu, potasyum asetat, gliserol, %18 dimetil sülfoksit, Tween 20, EDTA, < %0,06 dATP, dGTP, dCTP, < %0,14 dUTP, < %0,01 yukarı akışlı ve aşağı akışlı parvovirüs B19, HAV, dahili kontrol ve kantitasyon standardı primerleri, < %0,01 floresan etiketli parvovirüs B19 ve HAV problemleri, < %0,01 floresan etiketli parvovirüs B19 QS ve HAV IC problemleri, < %0,01 oligonükleotid aptamer, < %0,01 Z05D DNA polimeraz, < %0,01 AmpErase (urasil-N-glikozilaz) enzimi (mikrobik), < %0,1 sodyum azit	9,7 mL

Tablo 2 cobas® DPX Control Kit**cobas® DPX Control Kit**

2-8°C'de saklayın
(P/N 09040749190)

Kit bileşenleri	Reaktif içeriği	Kit başına miktar	Güvenlik sembolü ve uyarı*
DPX Çift Pozitif Kontrol (DPX D(+))C	<p>< %0,001 MS2 bakteriyofaj kaplamalı proteinde kapsüllenmiş sentetik (zırlı) HAV RNA, < %0,001 Lambda bakteriyofaj kaplamalı proteinde kapsüllenmiş sentetik (plazmid) parvovirüs B19 DNA, normal insan plazması, B19 antikoruna için lisanslı testler uyarınca non-reaktif, PCR yöntemleriyle saptanamayan HAV RNA, PCR yöntemleriyle saptanamayan ve kontrolün işlevselliğini etkileyen seviyenin altında B19 DNA (≤ 5 IU/mL)</p> <p>%0,1 ProClin® 300 koruyucu**</p>	8 mL (8 × 1 mL)	  <p>UYARI</p> <p>H317: Alerjik cilt reaksiyonlarına yol açar. H412: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki. P261: Sisi veya buharı 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 5-kloro-2-metil-2H-izotiyazol-3-on ve 2-metil-2H-izotiyazol-3-on (3:1) reaksiyon kütleli.</p>
DPX Yüksek Pozitif Kontrol (DPX H(+))C	<p>< %0,001 Lambda bakteriyofaj kaplamalı proteinde kapsüllenmiş sentetik (plazmid) parvovirüs B19 DNA, normal insan plazması, B19 antikoruna için lisanslı testler uyarınca non-reaktif, PCR yöntemleriyle saptanamayan HAV RNA, PCR yöntemleriyle saptanamayan veya kontrolün işlevselliğini etkileyen seviyenin altında B19 DNA (≤ 5 IU/mL)</p> <p>%0,1 ProClin® 300 koruyucu**</p>	8 mL (8 × 1 mL)	  <p>UYARI</p> <p>H317: Alerjik cilt reaksiyonlarına yol açar. H412: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, zararlı etki. P261: Sisi veya buharı 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 5-kloro-2-metil-2H-izotiyazol-3-on ve 2-metil-2H-izotiyazol-3-on (3:1) reaksiyon kütleli.</p>

* 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

(P/N 09051953190)

Kit bileşenleri	Reaktif içeriği	Kit başına miktar	Güvenlik sembolü ve uyarı
Tampon Negatif Kontrol (Buffer-NC)	Tris tamponu, EDTA, %0,002 poly rA RNA (sentetik), < %0,1 sodyum azit	16 mL (16 × 1 mL)	Uygulanmaz

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)	%42,56 (a/a) guanidin tiyosiyanat**, %5 (a/h) polidokanol**, %2 (a/h) ditiyotreitol**, dihidro sodyum sitrat	4 × 875 mL	 <p>TEHLİKE</p> <p>H302: Yutulması halinde zararlıdır. H314: Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına yol açar. H411: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, toksik etki. EUH032: Asitlerle temasında çok toksik gaz çıkarır. EUH071: Solunum yolu için aşındırıcıdır. 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</p>
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

* Bu reaktifler **cobas® DPX** test kit'e dahil edilmemiştir. Gerekli ek malzeme listesine bakın (Tablo 7).

** Ürün güvenlik etiketi öncelikli olarak AB GHS kılavuzlarına tabidir

Reaktif saklama ve kullanma koşulları

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

Reaktifler cobas® 6800/8800 Sistemlerine yüklü olmadığında, bunları Tablo 5 içinde belirtilen sıcaklıklarda saklayın.

Tablo 5 Reaktif saklama (reaktif sistemde olmadığında)

Reaktif	Saklama sıcaklığı
cobas® DPX – 192	2–8°C
cobas® DPX Control Kit	2–8°C
cobas® Buffer Negative Control Kit	2–8°C
cobas omni Lysis Reagent	2–8°C
cobas omni MGP Reagent	2–8°C
cobas omni Specimen Diluent	2–8°C
cobas omni Wash Reagent	15–30°C

cobas® 6800/8800 Sistemlerine 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® 6800/8800 Sistemleri ile sunulan reaktif kullanım koşullarını anlamasını sağlar.

Tablo 6 cobas® 6800/8800 Sistemleri ile sunulan reaktif son kullanım koşulları

Reaktif	Kit son kullanma tarihi	Açık kit stabilitesi	Bu kitin kullanılabilmesi sayısı	Cihaz üzeri stabilite (buzdolabı dışında cihaz üzeri kümülatif süre)
cobas® DPX – 192	Tarihi geçmemiş	İlk kullanımdan itibaren 90 gün	En fazla 40 çalışma	En fazla 40 saat
cobas® DPX Control Kit	Tarihi geçmemiş	Uygulanmaz	Uygulanmaz	En fazla 8 saat
cobas® Buffer Negative Control Kit	Tarihi geçmemiş	Uygulanmaz	Uygulanmaz	En fazla 10 saat
cobas omni Lysis Reagent	Tarihi geçmemiş	Yüklemeden itibaren 30 gün*	Uygulanmaz	Uygulanmaz
cobas omni MGP Reagent	Tarihi geçmemiş	Yüklemeden itibaren 30 gün*	Uygulanmaz	Uygulanmaz
cobas omni Specimen Diluent	Tarihi geçmemiş	Yüklemeden itibaren 30 gün*	Uygulanmaz	Uygulanmaz
cobas omni Wash Reagent	Tarihi geçmemiş	Yüklemeden itibaren 30 gün*	Uygulanmaz	Uygulanmaz

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

Diğer gerekli materyaller

Tablo 7 cobas® 6800/8800 Sistemleri ile kullanıma yönelik materyal 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 veya Gömmeli katı atık torbası	07435967001 veya 08030073001
Katı Atık Kabı	07094361001

Gerekli cihazlar ve yazılımlar

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

Tablo 8 Cihazlar

cobas® 6800/8800 Sistemleri	P/N
cobas® 6800 Sistemi (hareket ettirilebilir seçenek)	05524245001 ve 06379672001
cobas® 6800 Sistemi (Sabit)	05524245001 ve 06379664001
cobas® 8800 Sistemi	05412722001
Numune hazırlama modülü	06301037001
Pipetleme ve havuzlama seçenekleri	P/N
cobas p 680 cihazı	06570577001
cobas® Synergy yazılımı elektronik lisansı	09311238001
Hamilton Microlab® STAR IVD	04640535001
Hamilton Microlab® STARlet IVD	04872649001

Cihazlarda kabul edilen birincil ve ikincil numune tüpleri hakkında ek bilgi için cobas® 6800/8800 Sistemleri Yardım Asistanına ve cobas p 680 cihazı Yardım Asistanına veya cobas® Synergy yazılımı Yardım Asistanına bakın.

Not: Numune rakları, pıhtı için kullanılacak raklar ve cihazlarda kabul edilen rak tepsileri için ayrıntılı sipariş listesi için yerel Roche temsilciniz ile iletişime geçin.

Önlemler ve taşıma gereklilikleri

Uyarılar ve önlemler

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

- Sadece *in vitro* diagnostik kullanım içindir.
- Tüm numuneler, Mikrobiyoloji ve Biyomedikal Laboratuvarlarında Biyogüvenlik (*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*) ve CLSI Dokümanı M29-A4'te tanımlanan iyi laboratuvar uygulamaları kullanılarak enfeksiyöz madde gibi değerlendirilmelidir.^{55,56} Yalnızca enfeksiyöz materyallerin kullanımı ve **cobas® DPX** testinin, **cobas® 6800/8800** Sistemlerinin ve (isteğe bağlı) **cobas p 680** cihazının veya Hamilton Microlab® STAR/STARlet IVD ile **cobas® Synergy** yazılımının kullanımı konusunda uzman personel bu prosedürü gerçekleştirmelidir.
- Tüm insan kaynaklı materyaller, bulaşıcı olma potansiyeli açısından değerlendirilmeli ve evrensel önlemler uygulanarak kullanılmalıdır. Dökülme meydana gelirse, yeni hazırlanmış distile veya deiyonize suda %0,6 sodyum hipoklorit çözeltisi ile derhal dezenfekte edin veya uygun tesis prosedürlerini izleyin.
- **cobas® DPX** Control Kit, insan kanından elde edilmiş plazma içerir. Kaynak materyal, lisanslı bir antikor testi ile test edilmiş ve B19 IgG ve IgM antikor varlığı açısından non-reaktif olduğunu bulunmuştur. Normal insan plazmasının PCR yöntemleriyle test edilmesi, saptanabilir HAV RNA'sı olmadığını ve saptanamayan veya pozitif DPX kontrollerinin işlevselliğini etkilemeyecek kadar düşük B19 DNA seviyeleri olduğunu göstermiştir. Hiçbir bilinen test yöntemi, insan kanından elde edilen ürünlerin enfeksiyöz ajanlar bulaştırmayacağına dair tam bir güvence veremez.
- Tam kanı dondurmayın.
- Steril tek kullanımlık pipetlerin ve nükleaz içermeyen pipet uçlarının kullanılması önerilir. 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.
- Hücre-plazma arayüzünün parçalanması veya santrifüj sonrası materyalin difüzyonu daha yüksek geçersizlik oranlarına neden olabilir.
- Numunelerin kullanılması ve işlenmesi sırasında numune taşınması yeterli şekilde kontrol altına alınmazsa yanlış pozitif sonuçlar meydana gelebilir.
- 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 kaçınınız. Temas etmeniz durumunda, vakit kaybetmeden bol miktarda suyla yıkayınız; aksi halde yanıklar meydana gelebilir.

- **cobas® DPX** test kitleri, **cobas omni** MGP Reagent ve **cobas omni** Specimen Diluent, koruyucu olarak sodyum azit içerir. Reaktiflerin cildinize, gözlerinize veya mukoza membranlarına temas etmesinden kaçınınız. Temas etmeniz durumunda, vakit kaybetmeden bol miktarda suyla yıkayınız; 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 numune ve **cobas® DPX** kitleri ile **cobas omni** reaktiflerini kullandıktan önce ve sonra eldivenler değiştirilmelidir. Numunelerle ve kontrollerle işlem yaparken kontamine edici eldiven kullanmaktan kaçınınız.
- Numuneleri ve kit reaktiflerini kullandıktan ve eldivenleri çıkardıktan sonra ellerinizi iyice yıkayınız.
- Distile veya deiyonize suya %0,6 oranında sodyum hipoklorit ekleyerek taze hazırlayacağınız çözeltiyle laboratuvardaki tüm çalışma yüzeylerini iyice temizleyin ve dezenfekte edin. Bunun ardından %70 etanol içeren çözeltiyle yüzeyi silin.
- **cobas® 6800/8800** cihazında dökülme meydana gelirse, cihazların yüzeyini düzgün şekilde temizleyip dekontamine etmek için **cobas® 6800/8800** Sistemi Kullanıcı Kılavuzunda verilen talimatları takip edin.

Numune toplama, taşıma, saklama ve havuzlama

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

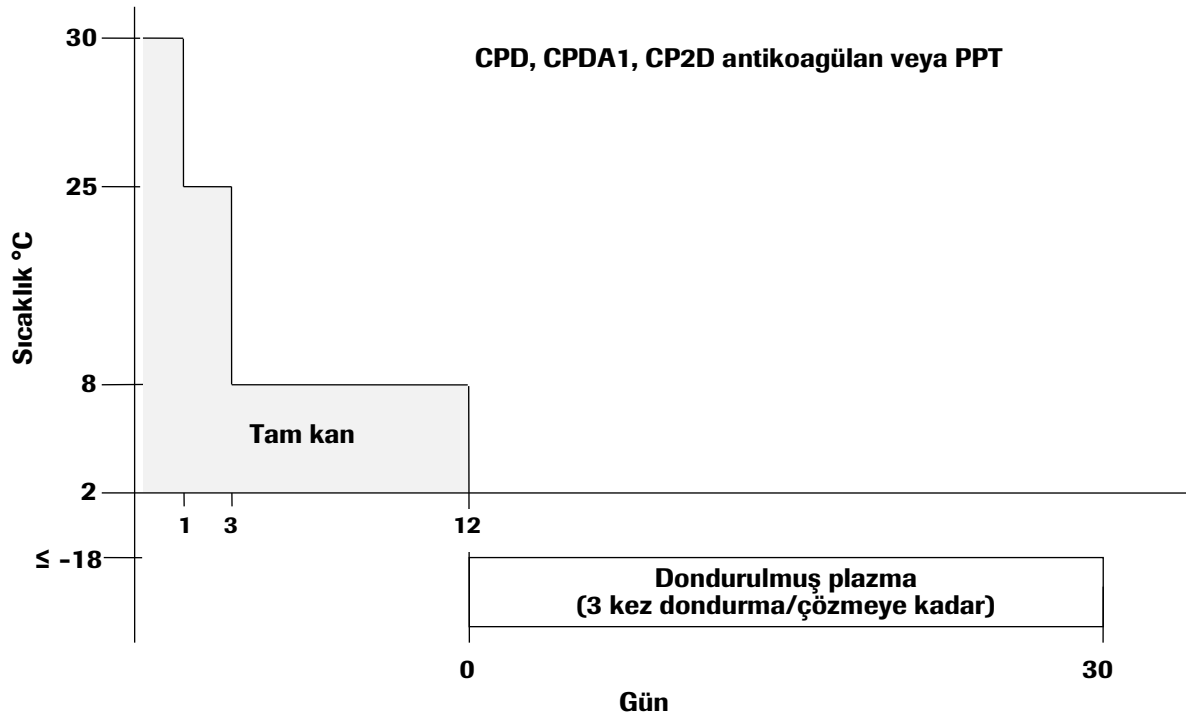
Tüm donör numunelerini belirtilen sıcaklıklarda saklayınız.

Numune stabilitesi, yüksek sıcaklıklardan etkilenir.

Canlı donör numuneleri

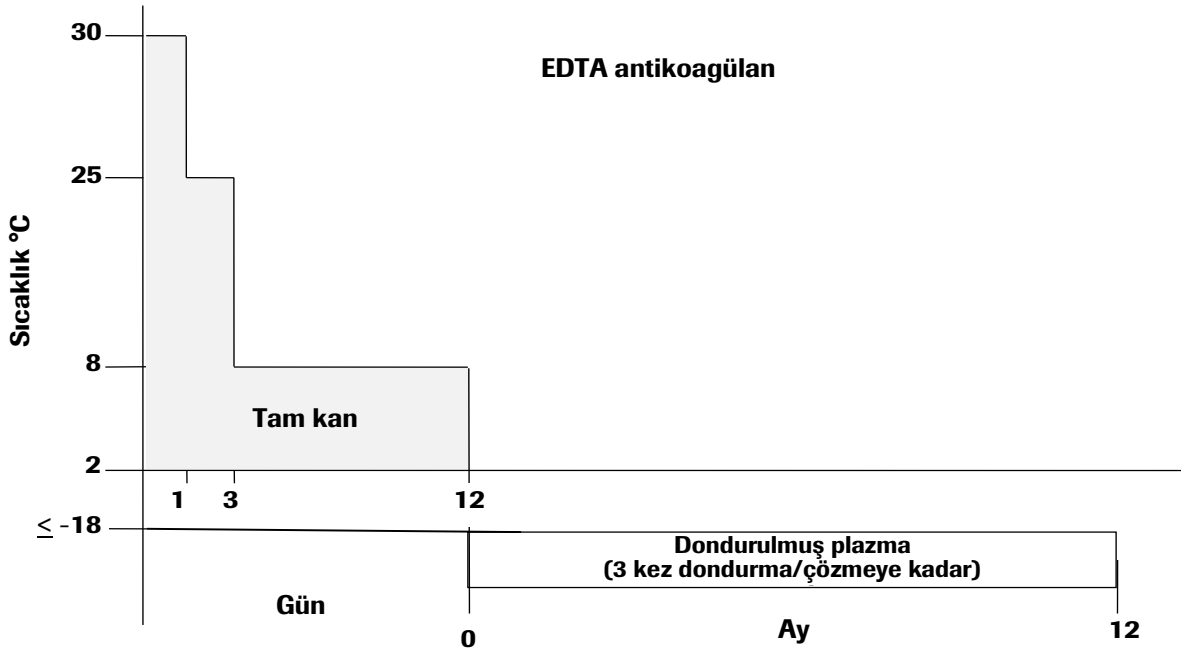
- EDTA, CPD, CPDA1, CP2D ve %4 sodyum sitrat antikoagülanda toplanan plazma, **cobas® DPX** testi ile kullanılabilir. Kullanım ve santrifüjleme işlemi için numune alma tüpü/torbası üreticisinin talimatlarına bakınız.
- EDTA antikoagülan, Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) içinde toplanan kan, yükleme, isteğe bağlı havuzlama veya yeniden testten önce 5 dakika boyunca 600 × g'de ek santrifüjleme işlemine tabi tutulabilir.
- CPD, CPDA1, CP2D antikoagülan, Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) içinde toplanan kan, aşağıdaki koşullarda 12 güne kadar saklanabilir:
 - Numuneler, alındıktan sonraki 72 saat içinde santrifüjlenmelidir.
 - 8°C üzerinde saklama için numuneler 25°C'ye kadar sıcaklıklarda 72 saat boyunca ve 72 saatlik süre içinde 30°C'ye kadar sıcaklıklarda 24 saat boyunca saklanabilir.
 - Yukarıda belirtilen dışında, numuneler 2–8°C'de saklanır. Ek olarak, hücrelerden ayrılan plazma, 3 kez dondurma/çözme ile 30 güne kadar ≤ -18°C'de saklanabilir. Bkz. Şekil 1.

Şekil 1 Donör numunesi saklama koşulları



- EDTA antikoagülan içinde toplanan kan, aşağıdaki koşullarda 12 güne kadar saklanabilir:
 - Numuneler, alındıktan sonraki 72 saat içinde santrifüjlenmelidir.
 - 8°C üzerinde saklama için numuneler 25°C'ye kadar sıcaklıklarda 72 saat boyunca ve 72 saatlik süre içinde 30°C'ye kadar sıcaklıklarda 24 saat boyunca saklanabilir.
 - Yukarıda belirtilen dışında, numuneler 2-8°C'de saklanır. Ek olarak, hücrelerden ayrılan plazma, 3 kez dondurma/çözme ile 12 aya kadar ≤ -18°C'de saklanabilir. Bkz. Şekil 2.

Şekil 2 Donör numunesi saklama koşulları



- %4 sodyum sitrat antikoagülan içindeki plazma, 2–8°C'de 30 güne kadar saklanabilir.
 - 8°C üzerinde saklama için numuneler 25°C'ye kadar sıcaklıklarda 72 saat boyunca ve 72 saatlik süre içinde 30°C'ye kadar sıcaklıklarda 24 saat boyunca saklanabilir.
 - Yukarıda belirtilen dışında, numuneler 2–8°C'de saklanır. Ek olarak, hücrelerden ayrılan plazma, 3 kez dondurma/çözme ile 12 aya kadar ≤ -18°C'de saklanabilir.
- Numuneler sevk edilecekse numunelerin ve etiyolojik ajanların taşınmasına ilişkin geçerli ülke düzenlemelerine ve/veya ulusal düzenlemelere uygun şekilde ambalajlanıp etiketlenmelidir.

Kullanım talimatları

Otomatik numune pipetleme ve havuzlama (isteğe bağlı)

cobas p 680 cihazı veya Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD ile **cobas® Synergy** yazılımı, birden fazla birincil numunenin alikotlarının otomatik olarak pipetlenip havuzlanarak tek bir havuzlanmış numune haline getirilmesi işleminde **cobas®** 6800/8800 Sistemleri ile isteğe bağlı bir bileşen olarak kullanılabilir.

Daha fazla bilgi için **cobas p** 680 cihazı Yardım Asistanına veya **cobas® Synergy** yazılımı Yardım Asistanına bakın.

Parvovirüs B19 için eşik değerinin ayarlanması

cobas® 6800/8800 Sistemleri

Laboratuvar sorumlusu B19V titre eşiğini 1'lik havuzlar için eşik değerini ayarlayarak belirler. Burada girilen değer, yazılım tarafından bir "B19V < eşik" veya "B19V ≥ eşik" sonucunu atamak için kullanılır (Tablo 10). Yazılım, girilen eşik ve havuz boyutuna göre sonucu otomatik olarak hesaplar.

B19V titre eşiğini atamak için:

DPX-B19V eşik değeri, Administration --> Settings --> Processing settings --> Roche tests (Yönetim --> Ayarlar --> İşlem ayarları --> Roche testleri) kısmında kullanıcı arayüzünde (UI) bulunabilir. DPX-B19V ASAP "Settings" (Ayarlar) kısmında eşik değeri, "Edit" (Düzenle) düğmesi kullanılarak ayarlanabilir.

cobas® Synergy çözümü

Nihai B19 ve DPX test sonuçları, **cobas®** 6800/8800 Sistemlerinde değil yalnızca **cobas® Synergy** yazılımında sağlanır.

B19V titresi eşik değerlerini (IU/mL biriminden havuz boyutu başına) atamak için **cobas® Synergy** yazılımı Yardım Asistanı'ndaki açıklamaya bakın. **cobas®** 6800/8800 yazılımında eşik değerinin 1 olarak ayarlanması önerilir.

Prosedürle ilgili notlar

- **cobas®** DPX test reaktiflerini, **cobas®** DPX Control Kit'i, **cobas®** Buffer Negative Control Kit'i veya **cobas omni** reaktiflerini son kullanma tarihlerinden sonra kullanmayın.
- Sarf malzemelerini tekrar kullanmayın. Bunlar yalnızca tek kullanımlıktır.
- Doğru cihaz bakımı için **cobas®** 6800/8800 Sistemleri Yardım Asistanına bakın.

cobas® DPX testinin çalıştırılması

Test prosedürü, **cobas®** 6800/8800 Sistemleri Yardım Asistanında ayrıntılı şekilde açıklanmıştır; isteğe bağlı havuzlama prosedürleri hakkında bilgi için uygun olduğu şekilde **cobas p** 680 cihazı Yardım Asistanına veya **cobas® Synergy** yazılımı Yardım Asistanına başvurun.

Şekil 3 aşağıda prosedür özetini göstermektedir.

Şekil 3 cobas® DPX test prosedürü

1	Pipetleme ve havuzlama
2	İstem oluşturun
3	Sistem tarafından komut verilen şekilde reaktifleri ve sarf malzemelerini tekrar doldurun: <ul style="list-style-type: none"> • Yıkama reaktifini, lizis reaktifini ve seyrelticiyi tekrar doldurun • İşleme plakalarını ve amplifikasyon plakalarını tekrar doldurun • Manyetik Cam Partikülleri tekrar doldurun • Teste özgü reaktifleri tekrar doldurun • Kontrol kasetlerini tekrar doldurun • Uç raklarını tekrar doldurun • Pıhtılaşmış uçlar için rakı değiştirin
4	Çalışmayı başlatın: <ul style="list-style-type: none"> • Raklara numuneleri yükleyin • Arayüzden Start (Başlat) düğmesini seçin
5	Sonuçları inceleyip dışa aktarın
6	Sarf malzemelerini boşaltın: <ul style="list-style-type: none"> • Amplifikasyon plakalarını analitik modülden çıkarın • Boş kontrol kasetlerini çıkarın • Katı atığı boşaltın • Sıvı atığı boşaltın

Sonuçlar

cobas® 6800/8800 Sistemi, donör numuneleri ve kontroller için parvovirüs B19 DNA konsantrasyonunu otomatik olarak belirler. Parvovirüs B19 DNA konsantrasyonu, mililitre başına Uluslararası Birim (IU/mL) olarak ifade edilir. Ayrıca, cobas® 6800/8800 Sistemleri, numuneler ve kontroller için HAV RNA'yı otomatik olarak saptar.

Kalite kontrol ve sonuçların geçerliliği

- Her seri ile bir negatif kontrol [(-) C] ve iki pozitif kontrol [DPX D(+)C ve DPX 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.
- Üç kontrolün hiçbiri için uyarı işareti görünmüyorsa seri geçerlidir.

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

Kontrol uyarı işaretleri

Tablo 9 Negatif ve pozitif kontroller için kontrol uyarı işaretleri

Negatif kontrol	Uyarı işareti	Sonuç	Yorum
(-) C	Q02	Invalid	(-) C için sonuç geçersiz olursa tüm seri geçersiz olarak atanır.
Pozitif kontrol	Uyarı işareti	Sonuç	Yorum
DPX D(+)C	Q02	Invalid	Geçersiz bir sonuç veya parvovirüs B19 için hesaplanan titre sonucu belirlenen aralık içinde değil veya HAV için sonuç non-reaktif. Yalnızca B19: Karşılık gelen QS nedeniyle geçersiz bir sonuç veya parvovirüs B19 için hesaplanan titre sonucu belirlenen aralık içinde değil. Yalnızca HAV: Karşılık gelen IC nedeniyle geçersiz bir sonuç veya HAV için sonuç non-reaktif.
DPX H(+)C	Q02	Invalid	Geçersiz bir sonuç veya yüksek pozitif kontrol için hesaplanan titre sonucu belirlenen aralık içinde değil.

Seri geçersizse, numuneler ve kontrolleri de dahil ederek tüm seride testi tekrarlayın.

Sonuçların yorumlanması

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

- Geçerli bir seri, ayrı numuneler için alınan uyarı işaretlerine bağlı olarak hem geçerli hem de geçersiz donör numunesi sonuçları içerebilir.
- Numune sonuçları, yalnızca ilgili pozitif kontroller ve karşılık gelen serinin negatif kontrolü geçerliyse geçerli olur.

Her bir numune için eş zamanlı olarak dört parametre ölçülür: parvovirüs B19 için bir, HAV için bir, kantitatif standart ve dahili kontrol için bir. cobas® DPX test için nihai numune sonuçları yazılım tarafından rapor edilir. Geçersiz bir havuzdaki donör numuneleri yeniden test edilmelidir. Genel sonuçlara ek olarak, cobas® 6800/8800 yazılımında tekli hedef sonuçları da görüntülenir ve bunlar aşağıdaki şekilde yorumlanmalıdır:

Tablo 10 Ayrı hedef sonuç yorumu için hedef sonuçları

Hedef sonuçları	Yorum
HAV Non-Reactive	Tespit edilen HAV ve IC sinyali için hedef sinyal tespit edilmemiştir.
HAV Reactive	HAV ve IC sinyali için tespit edilmiş hedef sinyal, tespit edilebilir veya edilmeyebilir.
B19 < eşik değeri	B19 titresi kullanıcı tarafından tanımlanan eşik değerinden düşüktür; titre sağlanır. B19 Non-Reaktif: B19 DNA için hedef sinyal saptanmamıştır ve QS sinyali saptanmıştır. B19 < Titre Min: B19 saptanır ve hesaplanan titre, testin alt ölçme sınırının (LLOQ) altındadır. Not: cobas p 680 – B19 eşik değeri, cobas® 6800/8800 Sistemleri Yazılımında görüntülenir. cobas® Synergy – B19 eşik değeri, cobas® Synergy yazılımında görüntülenir.
B19 ≥ eşik değeri	B19 titresi kullanıcı tarafından tanımlanan eşik değerinden yüksektir; titre sağlanır. B19 > Titre Maks: hesaplanan titre, testin üst ölçme sınırının (ULOQ) üzerindedir. ^a Not: cobas p 680 – B19 eşik değeri, cobas® 6800/8800 Sistemleri Yazılımında görüntülenir. cobas® Synergy – B19 eşik değeri, cobas® Synergy yazılımında görüntülenir.
Invalid	HAV hedefi ve dahili kontrol sinyali saptanmamıştır. HAV non-reaktif sonuçları, B19 titresi > 10 ⁶ IU/mL ise Geçersiz olarak raporlanacaktır. B19 QS sinyali saptanmamıştır ve B19 hedefi saptanabilir veya saptanamayabilir.

^a Kantitatif bir sonuç isteniyorsa, orijinal numune parvovirüs B19 negatif EDTA içeren plazma ile seyreltilmeli ve test tekrarlanmalıdır. Raporlanan test sonucunu dilüsyon faktörü ile çarpın. **cobas® Synergy** yazılımını kullanıyorsanız, **cobas® Synergy** yazılımı üzerinden nihai sonuç hesaplaması için inceleme yapılmalıdır.

Tekli numunelerin test işlemini tekrarlama

Bir hedef için Geçersiz nihai sonucuna sahip numune tüpleri, diğer hedefler için alınan geçerli sonuçlara bakılmaksızın tekrar test edilmelidir. Yüksek titrelili B19 (> 10⁶ IU/mL) nedeniyle Geçersiz olan HAV'ın tekrarlama sonucu Geçersiz olarak kalacaktır. EDTA antikoagülan, Becton-Dickinson EDTA Plasma Preparation Tubes (BD PPT™) içinde alınan kan için 5 dakika boyunca 600 × g'de ek santrifüleme, geçersiz sonuçların tekrarlanmasını azaltmaya yardımcı olabilir.

Prosedür ile ilgili sınırlamalar

- **cobas® DPX** test, yalnızca **cobas® 6800/8800** Sistemleri ile kullanıma yönelik **cobas® DPX 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.
- Heparinin PCR'yi inhibe ettiği görüldüğünden, bu testte heparinize plazma kullanmayın.
- Parvovirüs B19 DNA ve HAV RNA'nın saptanması, numunede bulunan virüs partiküllerinin sayısına bağlıdır ve numune toplama yöntemlerinden, saklama ve kullanımdan, hasta faktörlerinden (yaş, semptomların varlığı) ve/veya enfeksiyon aşamasından ve havuz boyutundan etkilenebilir.
- Nadir de olsa, **cobas® DPX** testi tarafından kapsanan ve viral genomun yüksek düzeyde korunan bölgelerindeki mutasyonlar, primerleri ve/veya prob bağlanmasını etkileyerek virüsün düşük kantitasyonuna veya virüs varlığının saptanamamasına neden olabilir.
- Teknolojiler arasındaki içsel farklılıklardan ötürü, bir teknolojidenden başka birine geçmeden önce kullanıcıların, teknoloji farklılıklarını değerlendirmek için kendi laboratuvarlarında yöntem korelasyon çalışmaları yapmaları önerilir. Kullanıcılar, kendi belirli politikalarını/prosedürlerini uygulamalıdır.

Klinik olmayan performans değerlendirmesi

Önemli performans özellikleri – Canlı donör numuneleri

Saptama limiti (LoD)

DSÖ Uluslararası Standartları

HAV RNA ve parvovirüs B19 DNA için cobas® DPX testinin saptama sınırları (LoD), HAV (NIBSC kodu 00/560) ve parvovirüs B19 (NIBSC 99/802) için DSÖ Uluslararası Standartları kullanılarak belirlenmiştir.

Her viral standardın üç bağımsız dilüsyon serisi, EDTA antikoagülan içinde toplanan havuzlanmış, virüs negatif insan plazması ile hazırlanmıştır. Her bir dilüsyon serisi, konsantrasyon başına toplamda yaklaşık 189 kopya olacak şekilde, lot başına yaklaşık 21 kopya ile üç farklı cobas® DPX reaktif kiti lotu kullanılarak test edilmiştir. Her bir virüs için test edilen tüm kopyaların birleştirilmiş verileri üzerinde yapılan PROBIT analizi, saptama sınırını ve iki taraflı %95 referans güven aralıklarını hesaplamak için kullanılmıştır. Tablo 11 ila Tablo 13, Saptama Sınırı çalışmasının genel sonuçlarını özetlemektedir.

Tablo 11 EDTA içeren plazmada viral standartlarla toplanan saptama sınırı verilerinin PROBIT analizinin sonuçları

Analit	Ölçüm birimleri	LoD	Alt %95 güven aralığı limiti	Üst %95 güven aralığı limiti
HAV	IU/mL	1,1	0,9	1,3
Parvovirüs B19	IU/mL	13,9	11,7	17,4

Tablo 12 EDTA içeren plazmada HAV için reaktivite oranlarının özeti

HAV RNA konsantrasyonu (IU/mL)	Reaktif sayısı	Geçerli kopya sayısı	% reaktif	%95 alt güven aralığı limiti (tek taraflı)
6	189	189	%100	%98,4
3	189	189	%100	%98,4
1,5	186	189	%98,4	%95,9
0,75	165	189	%87,3	%82,6
0,375	119	189	%63,0	%56,8

Tablo 13 EDTA içeren plazmada parvovirüs B19 için reaktivite oranlarının özeti

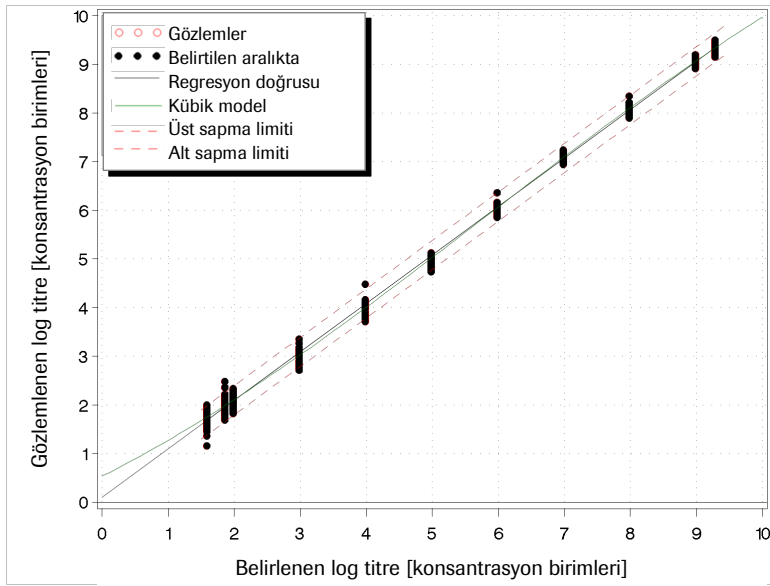
Parvovirüs B19 DNA konsantrasyonu (IU/mL)	Reaktif sayısı	Geçerli kopya sayısı	% reaktif	%95 alt güven aralığı limiti (tek taraflı)
40	187	189	%98,9	%96,7
20	184	189	%97,4	%94,5
10	175	189	%92,6	%88,7
5	145	189	%76,7	%71,1
2,5	91	189	%48,1	%42,0

Parvovirüs B19 miktar tayininin doğrusal aralığı

cobas® DPX testinin parvovirüs B19 miktar tayininin doğrusallık çalışması, baskın parvovirüs B19 genotipi 1 için amaçlanan doğrusal aralığı kapsayan 12 panel ögesinden oluşan bir dilüsyon serisi ile gerçekleştirilmiştir. Değerlendirme CLSI Kılavuzu EP6-A'ya göre gerçekleştirilmiştir. Üç reaktif lotu, üç cobas® 6800/8800 Sisteminde, üç operatörle ve 12 test gününde panel üyesi ve lot başına toplam 16 kopya analiz edilmiştir.

Çalışma, üç reaktif lotu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Doğrusal aralığın 40 IU/mL ile 1,00E+09 IU/mL (38,5 IU/mL–1,93E+09 IU/mL) arasında olduğu belirlenmiştir ve EDTA içeren insan plazmasında daha uyumlu, doğrusal olmayan regresyondan $\pm 0,3 \log_{10}$ altında mutlak sapma gösterilmiştir (bkz. Şekil 4).

Şekil 4 EDTA içeren plazmada parvovirüs B19 için doğrusal aralığın tayini



Tekrar üretilebilirlik

cobas® DPX testinin tekrar üretilebilirliği üç lot reaktif, üç farklı gün, dört ayrı sistem/operatör ve çalışmalar arası değişkenlik açısından değerlendirilmiştir. Reaktif lotları için sonuçlar Tablo 14 içinde özetlenmiştir.

Tablo 14 Reaktifin lotlar arası tekrar üretilebilirliği

Analit	Konsantrasyon	Reaktif lotu	% reaktif (reaktif/geçerli kopya)	%95 güven aralığının alt limiti	%95 güven aralığının üst limiti
HAV	2 x LoD	1	%100,0 (63/63)	%94,3	%100,0
		2	%100,0 (63/63)	%94,3	%100,0
		3	%100,0 (63/63)	%94,3	%100,0
	1 x LoD	1	%98,4 (62/63)	%91,5	%100,0
		2	%96,8 (61/63)	%89,0	%99,6
		3	%100,0 (63/63)	%94,3	%100,0
	0,5 x LoD	1	%79,4 (50/63)	%67,3	%88,5
		2	%90,5 (57/63)	%80,4	%96,4
		3	%92,1 (58/63)	%82,4	%97,4

Kesinlik

cobas® DPX testinin kesinliği, parvovirüs B19 için negatif EDTA içeren plazmada parvovirüs B19 pozitif bir numunenin seri dilüsyonlarının analizi ile belirlenmiştir. Sekiz dilüsyon seviyesi, 12 gün boyunca üç cihaz kullanılarak ve üç operatör tarafından uygulanan üç lot **cobas® DPX** test reaktifinde her seviye için 48 kopya halinde test edilmiştir. Her numune, tam otomatik **cobas® 6800/8800** Sistemlerinde **cobas® DPX** test prosedürünün tamamı boyunca gerçekleştirilmiştir. Dolayısıyla, burada raporlanan kesinlik, test prosedürünün tüm yönlerini temsil eder. Sonuçlar, Tablo 15 içinde gösterilmiştir.

Parvovirüs B19 için **cobas® DPX**, 1,00E+03 IU/mL ila 2,0E+09 IU/mL konsantrasyon aralığında test edilen üç reaktif lotu için yüksek kesinlik göstermiştir.

Tablo 15 **cobas® DPX** testinin laboratuvar içi kesinliği*

Nominal konsantrasyon (IU/mL)	Belirlenen konsantrasyon (IU/mL)	Kaynak materyal	EDTA içeren plazma			
			Lot 1	Lot 2	Lot 3	Tüm lotlar
			SD	SD	SD	Havuzlanmış SD
2,00E+09	1,93E+09	Klinik numune	0,08	0,05	0,04	0,06
1,00E+09	9,63E+08	Klinik numune	0,05	0,06	0,04	0,05
1,00E+08	9,63E+07	Klinik numune	0,04	0,07	0,04	0,05
1,00E+07	9,63E+06	Klinik numune	0,04	0,04	0,03	0,04
1,00E+06	9,63E+05	Klinik numune	0,12	0,04	0,04	0,08
1,00E+05	9,63E+04	Klinik numune	0,06	0,05	0,02	0,05
1,00E+04	9,63E+03	Klinik numune	0,06	0,12	0,04	0,08
1,00E+03	9,63E+02	Klinik numune	0,05	0,09	0,04	0,06

* 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.

Genotip kapsama – HAV

cobas® DPX testinin üç HAV genotipini saptama performansı, toplam 12 benzersiz klinik numune, HAV DSÖ standardı (NIBSC kodu 00/560) ve genotipleri bilinen kültürlenmiş sekiz HAV izolatu test edilerek belirlenmiştir. Tüm klinik numuneler ve kültürlenmiş izolatlar **cobas® DPX** testi ile kalibratör braketleme yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Klinik numunelerin tamamı seyreltilmeden ve normal, virüs negatif (HAV) EDTA içeren insan plazması ile **cobas® DPX** testi LoD değerinin 3,6 katına seyreltme sonrasında test edilmiştir. Kültürlenmiş sekiz izolatu tamamı ve HAV DSÖ standardı, normal, virüs negatif (HAV) EDTA içeren insan plazması ile **cobas® DPX** testi LoD değerinin 3,6 katına seyreltme sonrasında test edilmiştir. Tüm klinik numuneler ve kültürlenmiş izolatlar seyreltilmemiş halde ve/veya LoD değerinin 3,6 katı düzeyinde tespit edilmiştir (Tablo 16).

Tablo 16 HAV klinik numuneleri ve kültürlenmiş izolatlar

Genotip	Klinik numuneler		Kültürlenmiş izolatlar
	% reaktif (reaktif/test edilen numuneler) seyreltilmemiş	% reaktif (reaktif/test edilen numuneler) 3,6 × LoD düzeyine seyreltilmiş	% reaktif (reaktif/test edilen numuneler) 3,6 × LoD düzeyine seyreltilmiş
I A	%100,0 (11/11)	%100,0 (12/12)**	Test edilmedi*
I B	%100,0 (1/1)	%100,0 (1/1)	%100,0 (1/1)
II A	Test edilmedi*	Test edilmedi*	%100,0 (1/1)
II B	Test edilmedi*	Test edilmedi*	%100,0 (1/1)
III A	Test edilmedi*	Test edilmedi*	%100,0 (3/3)
III B	Test edilmedi*	Test edilmedi*	%100,0 (2/2)

* Seyreltilmemiş/seyreltilmiş halde test etmek için yetersiz hacim

** HAV DSÖ standardı (NIBSC kodu 00/560) dahil

Parvovirüs B19 için genotip doğrulanması

cobas® DPX testinin parvovirüs B19 genotipleri üzerindeki performansı, aşağıdaki şekilde değerlendirilmiştir:

- Genotip 1, 2 ve 3 için saptama sınırının doğrulanması
- Genotip 2 ve 3 için doğrusallığın doğrulanması.

Genotip 1, 2 ve 3 için saptama limitinin doğrulanması

Üç farklı genotip (1, 2, 3a) için parvovirüs B19 DNA klinik numuneleri EDTA içeren plazmada bir konsantrasyon seviyesine seyreltilmiştir. Genotip 3b için parvovirüs B19 plazmid, EDTA içeren plazmada bir konsantrasyon seviyesine seyreltilmiştir. Reaktivite oranı tayini, 21 kopya ile gerçekleştirilmiştir. Testler, cobas® DPX reaktiflerinin bir lotuyla yapılmıştır. EDTA içeren plazma sonuçları Tablo 17 içinde gösterilmiştir. Bu sonuçlar, cobas® DPX testinin 10,3–17,4 IU/mL konsantrasyonlarındaki üç farklı genotip için parvovirüs B19 DNA'sını %100 reaktivite oranıyla saptadığını doğrulamaktadır.

Tablo 17 Parvovirüs B19 genotip kapsama

Genotip	Konsantrasyon	% reaktif (reaktif/geçerli kopya)	%95 güven aralığının alt limiti	%95 güven aralığının üst limiti
1	17,4 IU/mL	%100 (21/21)	%83,9	%100,0
2	10,3 IU/mL	%100 (21/21)	%83,9	%100,0
3a	10,3 IU/mL	%100 (21/21)	%83,9	%100,0
3b	17,4 IU/mL	%100 (20/20)	%83,2	%100,0

Genotip 2 ve 3a için doğrusal aralığın doğrulanması

cobas® DPX testinin genotip doğrusallık çalışmasının doğrulanmasında kullanılan dilüsyon serileri, amaçlanan doğrusal aralığı içeren yedi panel ögesinden oluşur. Yüksek titreli panel üyeleri yüksek titreli plazmid DNA stokundan hazırlanırken, düşük titreli panel üyeleri parvovirüs B19 Genotipleri için 1. DSÖ Uluslararası Referans Paneli'nden (NIBSC 09/110) hazırlanmıştır. Doğrusallık paneli, iki materyal kaynağı arasında yaklaşık 2 log₁₀ titre örtüşmesi olacak şekilde tasarlanmıştır. cobas® DPX testinin doğrusal aralığı, LLoQ'dan (40 IU/mL) ULoQ'ya (1,00E+09 IU/mL) kadar uzanır ve bir tıbbi karar noktası içerir. Testler, cobas® DPX reaktifinin bir lotu ile gerçekleştirilmiştir ve EDTA içeren

plazmada seviye başına 11 tekrarlamaya ile test edilmiştir. **cobas® DPX** testinin doğrusal aralığı her iki genotip (2 ve 3a) için doğrulanmıştır. Doğrusal regresyon ve daha iyi uyum sergileyen doğrusal olmayan regresyon arasındaki maksimum sapma 0,3 log₁₀'a eşit veya daha düşüktür.

Analitik özgüllük

cobas® DPX testinin analitik özgüllüğü, Tablo 18 içinde gösterilen şekilde 10⁶ partikül, IU, kopya veya CFU/mL'de 27 mikroorganizmalı bir panelin test edilmesiyle çapraz reaktivite için değerlendirilmiştir. Mikroorganizmalar normal, virüs negatif, havuzlanmış insan plazmasına eklenmiş ve **cobas® DPX** testinin HAV için yaklaşık 3 × LoD veya parvovirüs B19 için 5 × LLoQ konsantrasyonuna HAV veya parvovirüs B19 eklenerek ve eklenmeden test edilmiştir. **cobas® DPX** testi ile HAV veya parvovirüs B19 eklenmemiş tüm mikroorganizma numunelerinde non-reaktif sonuçlar elde edilirken, HAV veya parvovirüs B19 eklenmiş tüm mikroorganizma numunelerinde reaktif sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca potansiyel olarak çapraz reaksiyona giren organizmayı içeren pozitif parvovirüs B19 numunelerinin her birinin ortalama log₁₀ titresini, ilgili ekleme yapılmış kontrolün ortalama log₁₀ titresinin ±0,5 log₁₀'u içindedir. Test edilen mikroorganizmalar, **cobas® DPX** testi ile çapraz reaksiyon göstermemektedir.

Test edilen mikroorganizmalar, **cobas® DPX** testi ile etkileşime girmemektedir.

Tablo 18 Analitik özgüllük için test edilen mikroorganizmalar

Virüsler	Sarıhumma virüsü	Bakteriler	Maya
Adenovirüs 5	Batı Nil virüsü (WNV)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Chikungunya virüsü	Dang virüsü tip 1	<i>Propionibacterium acnes</i>	-
Sitomegalovirüs (CMV)	Usutu virüsü	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Epstein-Barr virüsü (EBV)	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Hepatit B virüsü (HBV)	-	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-
Hepatit C virüsü (HCV)	-	<i>Streptococcus viridans</i>	-
Hepatit E virüsü (HEV)	-	-	-
Hepatit G virüsü (GBV C)	-	-	-
<i>Herpes simplex</i> virüsü tip 1 (HSV-1)	-	-	-
<i>Herpes simplex</i> virüsü tip 2 (HSV-2)	-	-	-
İnsan Herpes virüsü tip 6A (HHV-6)	-	-	-
İnsan İmmünyetmezlik Virüsü (Alt tipler HIV-1M ve HIV-2)	-	-	-
İnsan T-hücre lenfotropik virüs tip I (HTLV I)	-	-	-
İnsan T-hücre lenfotropik virüs tip II (HTLV II)	-	-	-
İnfluenza A virüsü	-	-	-
<i>Varicella zoster</i> virüsü (VZV)	-	-	-

Tablo 19 içinde listelenen diğer hastalık durumlarının her birinden alınan plazma numuneleri, **cobas® DPX** testinin HAV için yaklaşık 3 × LoD ve parvovirüs B19 için 5 × LLoQ konsantrasyonuna HAV veya parvovirüs B19 eklenerek ve eklenmeden test edilmiştir. **cobas® DPX** testi, HAV veya parvovirüs B19 eklenmemiş tüm hastalık durumlarına ait numuneler için non-reaktif sonuç vermiştir. **cobas® DPX** testi, HAV veya parvovirüs B19 eklenmiş tüm hastalık durumlarına ait numuneler için reaktif sonuç vermiştir. Ayrıca potansiyel olarak çapraz reaksiyona giren organizmayı içeren pozitif parvovirüs B19 numunelerinin her birinin ortalama log₁₀ titresini, ilgili ekleme yapılmış kontrolün ortalama log₁₀ titresinin ±0,5 log₁₀'u içindedir. Bu hastalık durumları, **cobas® DPX** testi ile etkileşime girmemiştir.

Tablo 19 Analitik özgüllük açısından test edilen hastalık durumlarına ait numuneler

Hastalık durumu		
Adenovirüs tip 5	Hepatit C virüsü	İnsan T-hücre lenfotropik virüs tip I
Sitomegalovirüs	Hepatit E virüsü	İnsan T-hücre lenfotropik virüs tip II
Dang Virüsü	<i>Herpes simplex</i> virüsü tip 1	Batı Nil virüsü
Epstein-Barr virüsü	<i>Herpes simplex</i> virüsü tip 2	-
Hepatit B virüsü	İnsan immünyetmezlik virüsü (HIV-1M)	-

Analitik özgüllük – etkileşimde bulunan maddeler

Endojen etkileşim maddeleri

Anormal oranda yüksek düzeylerde trigliserid (33 g/L'ye kadar), hemoglobin (2 g/L'ye kadar), konjuge olmayan bilirubin (0,2 g/L'ye kadar), konjuge bilirubin (0,2 g/L'ye kadar), albümin (60 g/L'ye kadar) veya insan DNA'sı (1,8 mg/L'ye kadar) içeren plazma numuneleri **cobas® DPX** testinin HAV için LoD değerinin yaklaşık 3 katına kadar ve parvovirüs B19 için LLoQ değerinin yaklaşık 5 katına kadar konsantrasyonda HAV veya parvovirüs B19 eklenerek ve eklenmeden test edilmiştir. Bu endojen maddeleri içeren numuneler, **cobas® DPX** testinin hassasiyeti, miktar tayini veya özgüllüğü ile etkileşime girmemiştir.

Egzojen etkileşim maddeleri

Anormal derecede yüksek ilaç konsantrasyonları (Tablo 20) içeren normal, virüs negatif EDTA içeren insan plazması numuneleri, **cobas® DPX**'in HAV için $3 \times$ LoD ve parvovirüs B19 için $5 \times$ LLoQ konsantrasyonuna HAV ve parvovirüs B19 eklenerek ve eklenmeden test edilmiştir. Bu ekzojen maddeler, **cobas® DPX** testinin hassasiyeti, miktar tayini veya özgüllüğü ile etkileşime girmemiştir.

Tablo 20 İlaçlarla test edilen klinik numuneler

Test edilen ilacın adı	Konsantrasyon
Asetaminofen	1324 µmol/L
Asetilsalisilik asit	3620 µmol/L
Askorbik asit	342 µmol/L
Atorvastatin	600 µg Eq/l
Fluoksetin	11,2 µmol/L
İbuprofen	2425 µmol/L
Loratadin	0,78 µmol/L
Nadolol	3,88 µmol/L
Naproksen	2170 µmol/L
Paroksetin	3,04 µmol/L
Fenilefrin HCL	491 µmol/L
Sertralin	1,96 µmol/L

Korelasyon

cobas® DPX testinin cobas® TaqScreen DPX Test'e kıyasla performans değerlendirilmesi

cobas® DPX testi ve cobas® TaqScreen DPX Test'in performansı 84 HAV NAT pozitif plazma numunesi, 100 parvovirüs B19 NAT pozitif numune ve 100 HAV ve parvovirüs B19 negatif numune kullanılarak karşılaştırılmıştır.

Negatif numuneler, her iki yöntemle de 100/100 non-reaktif sonuç vererek %100 özgüllük göstermiştir.

HAV pozitif numuneler için cobas® DPX testi ve cobas® TaqScreen DPX Test, 84 numunenin 84'ü için uyumludur (Tablo 21). Bu, %100 pozitif uyum yüzdesi ile sonuçlanır.

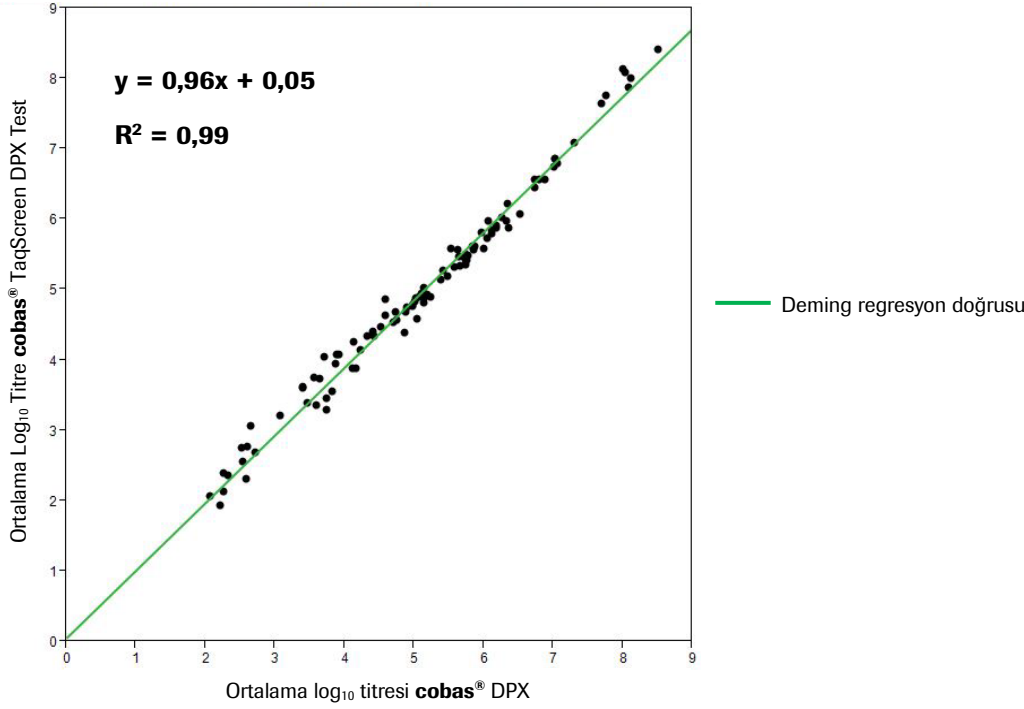
Tablo 21 HAV pozitif/negatif numunelerin korelasyonu

Yöntemler		HAV sonucu	
cobas® TaqScreen DPX	cobas® DPX	Pozitif numuneler	Negatif numuneler
Reaktif değil	Reaktif değil	0	100
Reaktif	Reaktif değil	0	0
Reaktif değil	Reaktif	0	0
Reaktif	Reaktif	84	0
Toplam		84	100
McNemar testi, p değeri (iki taraflı, $\alpha = 0,05$)		1,00	1,00

Parvovirüs B19 pozitif numuneler cobas® DPX testi ve cobas® TaqScreen DPX Test ile iki kopya halinde test edilmiştir. Deming regresyon analizi gerçekleştirilmiştir. Test edilen numunelerin ortalama titre sapması, $0,15 \log_{10}$ 'dur. Ayrıca, $1,0E+03-1,0E+06$ IU/mL titre aralığında iki test ile ortalama titre sapması $0,14 \log_{10}$ 'dur.

Deming regresyonu sonuçları Şekil 5 içinde gösterilmiştir.

Şekil 5 cobas® DPX ve cobas® TaqScreen DPX Test'in regresyon analizi, 100 pozitif parvovirüs B19 numunesi



Tüm sistem hatası

cobas® DPX testi için tüm sistem hata oranı, HAV ve parvovirüs B19 eklenmiş 100 kopya EDTA içeren plazma test edilerek belirlenmiştir. Bu numuneler, yaklaşık $3 \times \text{LoD}$ hedef konsantrasyon düzeyinde test edilmiş ve birlik havuzlarda (seyreltilmemiş) çalışılmıştır. Çalışma, cobas p 680 cihazı ile cobas® 8800 Sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (pipetleme ve havuzlama).

Bu çalışmanın sonuçları, tüm kopyaların parvovirüs B19 için reaktif olduğunu belirlemiş ve %0 tüm sistem hata oranı sonucunu vermiştir. İki taraflı %95 tam güven aralığı, alt sınır için %0 ve üst sınır için %3,62 olmuştur [%0: %3,62].

Bu çalışmanın sonuçları, 100 kopyanın 99'unun HAV için reaktif olduğunu belirlemiş ve %1 tüm sistem hata oranı sonucunu vermiştir. İki taraflı %95 tam güven aralığı, alt sınır için %0 ve üst sınır için %5,45 olmuştur [%0: %5,45].

Çapraz kontaminasyon

cobas® DPX testi için çapraz kontaminasyon oranı, negatif kontrol tamponunun 239 kopyası ve $1,00E+08$ IU/mL'de yüksek titreli parvovirüs B19 numunesinin 223 kopyası test edilerek belirlenmiştir. Çalışma, cobas® 8800 Sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Dama tahtası konfigürasyonunda pozitif ve negatif numunelerle toplamda 5 çalışma yapılmıştır.

239 negatif kontrol tamponu kopyasının tümü non-reaktif olmuş ve %0 çapraz kontaminasyon sonucu vermiştir. İki taraflı %95 tam güven aralığı, alt sınır için %0 ve üst sınır için %1,53 olmuştur [%0: %1,53].

Klinik performans

Tekrar üretilebilirlik

cobas® DPX'in tekrar üretilebilirliği, HAV için negatif ve parvovirüs B19 için alt ölçme sınırından (LLOQ) düşük iki plazma paneli üyesinden oluşan 16 üyeli panel ve 3 farklı konsantrasyonun (HAV için cobas® DPX'in yaklaşık $0,5 \times \text{LoD}$, $1,0 \times \text{LoD}$ ve $3,0 \times \text{LoD}$ değerinde) her birinde HAV için pozitif iki numune ve 4 farklı konsantrasyonun (10^3 ila 10^6 IU/mL aralığında) her birinde parvovirüs B19 için iki numuneden oluşan 14 pozitif plazma numunesi test edilerek belirlenmiştir.

Üç cobas® DPX tesisinin her birindeki operatörler, gün başına iki geçerli seri elde etmek üzere 3 cobas® DPX reaktif lotu kullanarak beş gün test gerçekleştirmiştir. HAV için üç konsantrasyonun her birinde ve parvovirüs B19 için dört konsantrasyonun her birinde panel üyesi virüs başına en fazla 180 test elde etmek üzere konsantrasyon başına iki kopya test edilmiştir.

HAV için, tüm geçerli seriler ve test sonuçları, her bir panel üyesi için reaktif test sonuçlarının oranı ve negatif kontrol paneli üyesi için non-reaktif sonuçların oranı hesaplanarak analiz edilmiştir (Tablo 22). Bu çalışma, cobas® DPX'in test edilen üç farklı HAV konsantrasyonunun her birinde değerlendirilen değişkenler (lot, tesis/cihaz, gün, seri ve seri içi) arasında tekrar üretilebilir performans göstermiştir.

Tablo 22 Tesis/cihaz, lot, gün ve seriye göre özetlenen HAV test sonuçları (pozitif panel üyeleri)

HAV Konsantrasyonu	Ortalama Ct	Ct SD	Ct CV%	Reaktif Testlerin Sayısı/Geçerli Sonuçların Toplam Sayısı											
				Lot			Tesis/Cihaz			Gün			Seri		
				ID	Reaktif/Geçerli	%	ID	Reaktif/Geçerli	%	ID	Reaktif/Geçerli	%	ID	Reaktif/Geçerli	%
0,5 × LoD	37,50	0,799	2,1	1	53/60	88,3	1	48/60	80,0	1	30/36	83,3	1	76/90	84,4
				2	48/60	80,0	2	51/60	85,0	2	33/36	91,7	2	77/90	85,6
				3	52/60	86,7	3	54/60	90,0	3	31/36	86,1			
										4	26/36	72,2			
										5	33/36	91,7			
1,0 × LoD	37,04	0,763	2,1	1	57/59	96,6	1	55/60	91,7	1	34/36	94,4	1	88/89	98,9
				2	58/60	96,7	2	59/59	100,0	2	35/35	100,0	2	85/90	94,4
				3	58/60	96,7	3	59/60	98,3	3	36/36	100,0			
										4	34/36	94,4			
										5	34/36	94,4			
3,0 × LoD	35,95	0,725	2,0	1	60/60	100,0	1	60/60	100,0	1	36/36	100,0	1	90/90	100,0
				2	60/60	100,0	2	60/60	100,0	2	36/36	100,0	2	90/90	100,0
				3	60/60	100,0	3	60/60	100,0	3	36/36	100,0			
										4	36/36	100,0			
										5	36/36	100,0			

Not: Ct = döngü eşiği

Parvovirüs B19 için, tüm geçerli seriler ve test sonuçları, değişkenlerin her biri için standart sapma (lot, tesis/cihaz, gün, seri ve seri içi) ve her B19 konsantrasyonu için toplam kesinliğin standart sapması hesaplanarak analiz edilmiştir (Tablo 23). Bu çalışma, cobas® DPX'in test edilen dört farklı parvovirüs B19 konsantrasyonunun her birinde değerlendirilen değişkenler (lot, tesis/cihaz, gün, seri ve seri içi) arasında tekrar üretilebilir performansı gösterdiğini göstermiştir.

Tablo 23 Tesis/cihaz, lot, gün ve seriye göre özetlenen Parvovirüs B19 test sonuçları (pozitif panel üyeleri)

Beklenen B19 DNA Konsantrasyonu (log ₁₀ IU/mL)	Beklenen B19 DNA Konsantrasyonu (IU/mL)	Ortalama B19 DNA Konsantrasyonu (log ₁₀ IU/mL)	Lognormal Ortalama B19 DNA Konsantrasyonu (IU/mL) ^a	Test sayısı ^b	Lot	Tesis/Cihaz	Gün	Seri	Seri İçi	Log ₁₀ B19 DNA Konsantrasyonunun Toplam Standart Sapması
3,000	1000	3,09	1252	176	0,0444	0,0092	0,0000	0,0000	0,0559	0,072
4,000	10.000	4,04	11.008	178	0,0348	0,0141	0,0248	0,0135	0,0543	0,072
5,000	100.000	5,04	111.745	179	0,0305	0,0221	0,0000	0,0265	0,0663	0,081
6,000	1.000.000	6,08	1.216.471	179	0,0248	0,0181	0,0166	0,0141	0,0718	0,081

^a Lognormal ortalama = $10^{\hat{\mu} + \hat{\sigma}^2 \cdot 1.151}$ Burada ortalama ve standart sapma rastgele etki varyans bileşeni modellerinden elde edilen tahminlerdir.

^b Saptanabilir viral yüke sahip olan testlerin sayısı. En az 180 test/panel üyesi planlanmıştır. Geçersiz testler tekrarlanmamıştır.

Ek bilgiler

Temel test özellikleri












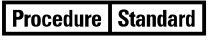








































Numune tipi	Plazma*
Gereken numune miktarı	1000 µL
İşlenen numune miktarı	850 µL

* Test için kullanılan tüplerin farklı ölçü hacimleri 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 24 Roche PCR diagnostik ürünlerinin etiketlenmesinde kullanılan semboller

 Yaş veya doğum tarihi	 Hasta yanında test için uygun olmayan cihaz	 PCR reaksiyonu başına QS IU, sonuçların hesaplanmasında PCR reaksiyonu başına QS ulusal birimlerini (IU) kullanın.
 Yardımcı yazılım	 Kendi kendine test için uygun olmayan cihaz	 Seri numarası
 Atanan aralık (kopya/mL)	 Distribütör (Not: Sembolün altında geçerli ülke/bölge belirtilmiş olabilir)	 Tesis
 Atanan aralık (IU/mL)	 Tekrar kullanmayın	 Standart prosedür
 Avrupa Topluluğundaki yetkili temsilci	 Kadın	 Etilen oksit ile sterilize edilmiştir
 Barkod Veri Sayfası	 Sadece IVD performans değerlendirmesi için	 Karanlık ortamda muhafaza edin
 Seri kodu	 Küresel ticaret ürün numarası	 Sıcaklık sınırı
 Biyolojik riskler	 İthalatçı	 Test tanım dosyası
 Katalog numarası	 <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	 Belirlenen aralığın alt limiti	 Ultra hassas prosedür
 Numune alma tarihi	 Erkek	 Benzersiz cihaz tanımlayıcı
 Kullanım talimatlarına bakın	 Üretici	 Belirlenen aralığın üst limiti
 <n> test için yeterli miktarda içerir	 Negatif kontrol	 İdrar dolum çizgisi
 Kit içeriği	 Steril değil	 Yalnızca ABD: Federal yasalar, bu cihazın yalnızca bir hekim tarafından veya hekimin siparişiyle satışına izin verir.
 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	 Pozitif kontrol	
	 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 25 Üretici ve ithalatçı



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

ABD'de imal edilir



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Ticari markalar ve patentler

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

Telif hakkı

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referanslar

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

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

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

49. Council of Europe. Human plasma pooled and treated for virus inactivation (monograph 1646) (since 1/2011). In: *European Pharmacopoeia*. 6th Edition. Supplement 6.3. Strasbourg, France: Council of Europe; 2011.
50. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8.
51. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93.
52. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78.
53. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7.
54. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
55. Chosewood LC, Wilson DE, eds. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. US Department of Health and Human Services; 2009.
56. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*. 4th ed. M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2014.

Belge revizyonu

Belge revizyonu bilgileri	
Doc Rev. 1.0 01/2023	Birinci basım.

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