Özgün Çalışma/Original Article *Mikrobiyol Bul 2024;58(3):284-292*/doi: 10.5578/mb.20249727

Geliş Tarihi (Received): 20.02.2024 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 06.05.2024

Tam Otomatize Sistemlerde Çalışılan Sitomegalovirüs Polimeraz Zincir Reaksiyonu Test Sonuçlarının Karşılaştırılması: Roche Cobas 6800 ile Qiagen NeuMoDx Deneyimi

Comparison of Cytomegalovirus Polymerase Chain Reaction Test Results Obtained with Fully Automated Systems: Roche Cobas 6800 and Qiagen NeuMoDx Experience

Tuğba BOZDEMİR[1](ID), Aylin Erman DALOĞLU[2](ID), Dilek ÇOLAK[3](ID), Nazlı GÜRKAN[4](ID), Gözde ÖNGÜT[3](ID), Derya MUTLU[3](ID)

[1] Bursa Şehir Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Bursa.
[1] *Bursa City Hospital, Medical Microbiology Laboratory, Bursa, Türkiye.*

[2] Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Kliniği, Antalya.
[2] *Antalya Training and Research Hospital, Medical Microbiology Laboratory, Antalya, Türkiye.*

[3] Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji Bilim Dalı, Antalya.
[3] *Akdeniz University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Division of Medical Virology, Antalya, Türkiye.*

[4] Gaziantep Şehir Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Gaziantep.
[4] *Gaziantep City Hospital, Medical Microbiology Laboratory, Gaziantep, Türkiye.*

**Bu çalışma, 4. Ulusal Viroloji Günleri (2 Kasım 2023, Bodrum)'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.*

Makale Atıfı: *Bozdemir T, Daloğlu AE, Çolak D, Gürkan N, Öngüt G, Mutlu D. Tam otomatize sistemlerde çalışılan sitomegalovirüs polimeraz zincir reaksiyonu test sonuçlarının karşılaştırılması: Roche Cobas 6800 ile Qiagen NeuMoDx deneyimi. Mikrobiyol Bul 2024;58(3):284-292.*

ÖZ

Transplantasyon sonrası sitomegalovirüs [cytomegalovirus (CMV)] ile ilişkili komplikasyon gelişme riski olan hastaların belirlenmesinde viral yük izlemi önemlidir ve bu amaçla en çok kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu [quantitative real-time polymerase chain reaction (Rt-qPCR)] testleri kullanılmaktadır. Kantitatif ölçüm yapan CMV DNA Rt-qPCR testlerinde en büyük sorun farklı laboratuvarlarda, farklı kitlerle yapılan ölçümlerde önemli ölçüm farklarının olmasıdır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından geliştirilen CMV Uluslararası Kantitasyon Standardı (UKS) ile kalibre edilmiş RT-qPCR testlerinin kullanılmaya başlanmasıyla birlikte laboratuvarlar arası viral yük ölçümlerinin karşılaştırılabilirliği artmıştır ancak farklı kitlerle yapılan ölçümler arasında kantitatif uyum hala tam olarak sağlanamamıştır. Bu çalışmada, DSÖ CMV UKS ile kalibre edilmiş, tam otomatize yeni nesil sistemler olan Cobas 6800 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) ve NeuMoDx (Qiagen, Ann Arbor, ABD) CMV DNA Rt-qPCR testleri ile yapılan ölçümler arasında kantitatif uyumun araştırılması amaçlanmıştır. Cobas 6800 CMV Rt-qPCR ve NeuMoDx CMV Rt-qPCR testleriyle eş zamanlı olarak çalışılmış 214 plazma örneğinin sonuçları analiz edilmiştir. Testlerde ekstraksiyon, amplifikasyon ve saptama aşamaları tam otomatik olarak gerçekleştirilmiştir. CMV DNA her iki testte 144 (%67.28) örnekte saptanmış, 53 (%24.76) örnekte saptanmamıştır.

İletişim (Correspondence): *Prof. Dr. Dilek Çolak, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji Bilim Dalı Antalya, Türkiye.* ***Tel (Phone):*** *+90 (242) 249 6000/6405-6911,* ***E-posta (E-mail):*** *dcolak@akdeniz.edu.tr*

Toplam 17 (%7.94) örnekte uyumsuz sonuç elde edilmiştir. Her iki testin kalitatif sonuçları arasında iyi düzeyde uyum saptanmıştır (kappa= 0.80, p< 0.001). Her iki testin dinamik ölçüm aralığında elde edilen kantitatif sonuçlar (n= 129) incelendiğinde Cobas 6800 CMV Rt-qPCR ve NeuMoDx CMV Rt-qPCR testleriyle ölçülen ortanca viral yük değerleri sırasıyla 513 IU/mL (aralık= 35-37000) ve 741 IU/mL (aralık= 68-48978) olarak hesaplanmıştır. Korelasyon analizine göre her iki testin sonuçları arasında çok kuvvetli korelasyon saptanmıştır (r= 0.94, p< 0.001). Bland-Altman analizine göre NeuMoDx CMV Rt-qPCR testiyle Cobas 6800 CMV Rt-qPCR testi sonuçları arasında ortalama fark -0.14 $\log_{10}$ [standart sapma (SS)= 0.23] IU/mL olarak bulunmuş, Cobas 6800 CMV Rt-qPCR testiyle NeuMoDx CMV Rt-qPCR testinden daha düşük ölçümler yapıldığı saptanmıştır. Her iki testin dinamik ölçüm aralığında sonucu olan 129 örneğin 120 (%93)'sinde ölçüm farkı ± 0.5 $\log_{10}$ IU/mL sınırları içinde, 9 (%7)'unda ise ± 0.5 $\log_{10}$'dan fazla olarak gözlenmiştir (ortanca 0.54 $\log_{10}$ IU/ml; aralık= 0.51-0.81). Hiçbir örnekte ± 1.0 $\log_{10}$'dan fazla ölçüm farkı saptanmamıştır. Bu çalışmada CMV UKS ile kalibre edilmiş tam otomatize Cobas 6800 CMV Rt-qPCR ve NeuMoDx CMV Rt-qPCR testleriyle plazma örneklerinde yapılan ölçümlerde kantitatif uyum saptanmıştır. CMV DNA saptanmasında Cobas 6800 ve NeuMoDx tam otomatize sistemleriyle yapılan viral yük ölçümlerinin karşılaştırıldığı bir çalışma ulaşılabildiği kadarıyla bugüne kadar henüz yapılmamıştır, bu çalışma bu konuda ilk çalışmadır.

Anahtar kelimeler: *CMV; DSÖ; PCR; kantitatif uyum; NeuMoDx, Cobas 6800.*

ABSTRACT

Viral load monitoring is important in identifying patients at risk of developing cytomegalovirus (CMV) related complications after transplantation and for this purpose, quantitative real-time polymerase chain reaction (Rt-qPCR) tests are most commonly used. The main problem in CMV DNA Rt-qPCR tests that make quantitative measurements is that there are significant differences in measurements performed with different kits in different laboratories. Comparability of viral load measurements between laboratories has increased with the introduction of quantitative PCR tests calibrated with the CMV International Quantitation Standard (IQS) developed by the World Health Organization (WHO). However, quantitative agreement between measurements made with different kits has still not been fully achieved. In this study, it was aimed to investigate the quantitative compatibility between measurements made with Cobas 6800 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) and NeuMoDx (Qiagen, Ann Arbor, USA) CMV DNA Rt-qPCR tests, which are fully automated new generation systems calibrated with the WHO CMV IQS. The results of 214 plasma samples, which were studied simultaneously with Cobas 6800 CMV Rt-qPCR and NeuMoDx CMV Rt-qPCR tests were analyzed. In the tests, the extraction, amplification and detection stages were carried out fully automatically. CMV DNA was detected in 144 (67.28%) samples in both tests and was not detected in 53 (24.76%) samples. Incompatible results were obtained in a total of 17 (7.94%) samples. Good agreement was found between the qualitative results of both tests (kappa= 0.80, p< 0.001). When the quantitative results (n= 129) obtained in the dynamic measurement range of both tests were examined, the median viral load values measured by Cobas 6800 CMV Rt-qPCR and NeuMoDx CMV Rt-qPCR tests were 513 IU/mL (range= 35-37000) and 741 IU/mL (range= 68-48978), respectively. According to the correlation analysis, a very strong correlation was found between the results of both tests (r= 0.94, p< 0.001). According to Bland-Altman analysis; the average difference between the results of the NeuMoDx CMV Rt-qPCR test and the Cobas 6800 CMV Rt-qPCR test was found to be -0.14 $\log_{10}$ [standard deviation (SD)= 0.23] IU/mL and it was determined that the Cobas 6800 CMV Rt-qPCR test had lower measurements than the NeuMoDx CMV Rt-qPCR test. In 120 of 129 samples (93%) whose results were within the dynamic measurement range of both tests, the measurement difference was within ± 0.5 $\log_{10}$ IU/mL and in 9 (7%), it was detected as more than ± 0.5 $\log_{10}$ (median 0.54 $\log_{10}$ IU/ml; range= 0.51-0.81). No measurement difference of more than ± 1.0 $\log_{10}$ was detected in any sample. In this study, quantitative agreement was found in the measurements made in plasma samples with the fully automated Cobas 6800 CMV Rt-qPCR and NeuMoDx CMV Rt-qPCR tests calibrated with the CMV IQS. To the best of our knowledge, a study comparing viral load measurements made with Cobas 6800 and NeuMoDx fully automated systems in the detection of CMV DNA has not yet been conducted, and this is the first study on this subject.

Keywords: *CMV; WHO; PCR; quantitative agreement; NeuMoDx, Cobas 6800.*

GİRİŞ

Sitomegalovirüs (CMV), primer enfeksiyon sonrası kişinin yaşamı boyunca latent olarak kalabilen bir virüstür. Solid organ veya kemik iliği transplant alıcıları, insan immün yetmezlik virüsü [human immundeficiency virus (HIV)] ile enfekte hastalar gibi immün sistemi baskılanmış bireylerde reaktive olarak ciddi morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır[1]. CMV enfeksiyonu, direkt etkileri sonucu organ tutulumları ve indirekt etkileri sonucu akut rejeksiyon, kronik allogreft hasarı, fırsatçı enfeksiyonlar, bronşiyolitis obliterans ve koroner vaskülopati ile ilişkilidir. CMV enfeksiyonu ile hasta sağ kalımındaki azalma arasındaki anlamlı ilişki nedeniyle CMV enfeksiyonunun takip ve tedavisi önem taşımaktadır[2].

Transplantasyon sonrası CMV ile ilişkili komplikasyon gelişme riski taşıyan hastaların belirlenmesinde kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu [quantitative real time polymerase chain reaction (RT-qPCR)], önemli viral yük miktarının saptanması için altın standarttır. Kandaki viral yükün hassas ve doğru ölçümü, tanı konulmasının yanında tedavi stratejilerinin yönetimi ve hastanın tedaviye yanıtını değerlendirmede de önemlidir[3]. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından geliştirilen CMV Uluslararası Kantitasyon Standardı (UKS) ile kalibre edilmiş kantitatif PCR testlerinin kullanılmaya başlanmasıyla birlikte laboratuvarlar arası viral yük ölçümlerinin karşılaştırılabilirliği artmıştır. Bununla birlikte farklı kitlerle yapılan ölçümler arasında kantitatif uyum hala tam olarak sağlanamamıştır[4]. Hastaların takibinde farklı laboratuvarlarda yapılan test sonuçlarının değerlendirilmesi ya da laboratuvarlarda cihaz değişimleri gibi durumlarda klinisyenlerin laboratuvar sonuçlarının karşılaştırılabilir ve birbirinin yerine kullanılabilir olup olmadığını bilmesi gerekmektedir[5].

Bu çalışmada, DSÖ CMV UKS ile kalibre edilmiş, tam otomatize yeni nesil sistemler olan Cobas 6800 (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) ve NeuMoDx (Qiagen, Ann Arbor, ABD) ile ölçülen CMV DNA PCR test sonuçları karşılaştırılarak ölçümler arasında kantitatif uyumun araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından (Tarih: 08.03.2023 ve Karar No: 210) onaylandı.

Rutin istem ile Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı Moleküler Testler Birimi tarafından iki farklı CMV PCR testiyle çalışılan 220 plazma örneğinin sonuçları retrospektif olarak analiz edildi. CMV tetkiki için gönderilen kan örnekleri 4000 g'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra ayrılan plazmaları testin çalışma gününe kadar -20 °C'de saklandı. Plazma örneklerinde otomatik ekstraksiyon, gerçek zamanlı PCR aşamaları ve sonuç analizi eş zamanlı olarak yapıldı. Cobas 6800 CMV PCR ve NeuMoDx CMV PCR testi üretici firma önerileri doğrultusunda çalışıldı.

Cobas 6800 CMV PCR testi (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) için plazma örnekleri 650 µl (cihaz pipetaj kaybı için 350 µl hacim kullanmaktadır) ile sisteme yüklendi. Ekstraksiyon, gerçek zamanlı amplifikasyon ve sonuç analizi dahil olmak üzere otomatik adımlar Cobas 6800 ile üretici firma önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi.

Cobas 6800 CMV PCR testinin hedef gen bölgesi UL54 (CMV DNA polimeraz) bölgesinde olup amplikon büyüklükleri 105 ve 135 baz çifti [base pair (bp)] olan iki farklı bölgedir. Testin alt saptama sınırı 34.5 IU/mL, dinamik ölçüm aralığı 34.5-1 x 10^7 IU/mL'dir. Saptanan genotipler CMV glikoprotein B genotip 1-4'tür.

NeuMoDx CMV PCR Testi (Quant Assay, Qiagen, Ann Arbor, ABD) için plazma örnekleri 1 ml (cihaz pipetaj kaybı için 550 µl hacim kullanmaktadır) hacimle sisteme yüklendi. Testler NeuMoDxTM 96 Molecular System platformunda gerçekleştirildi. Ekstraksiyon, gerçek zamanlı amplifikasyon ve sonuç analizi dahil olmak üzere otomatik adımlar üretici firma önerileri doğrultusunda gerçekleştirildi.

NeuMoDx CMV PCR testinde UL54 ve UL71 gen bölgelerinde sırasıyla 84 ve 71 bp'lik bölgeler hedef bölgelerdir. Testin alt saptama sınırı 17.7 IU/mL ve dinamik ölçüm aralığı 20-1 x 10^8 IU/mL'dir. Saptanan genotipler CMV glikoprotein B genotip 1-4'tür.

Verilerin istatistiksel analizinde SPSS version 22.0 ve GraphPad Prism version 8.0. programları kullanıldı. İki farklı testle elde edilen, CMV DNA saptanmadı ve saptandı şeklindeki sonuçlar kategorik değişken olarak kaydedildi. Bu kalitatif sonuçların arasındaki uyum Mc-Nemar testiyle kappa değeri hesaplanarak analiz edildi. Ayrıca yüzde kalitatif uyum (her iki testle pozitif ve negatif sonuç alınan örneklerde) ve yüzde kantitatif uyum (her iki testin dinamik ölçüm aralığında ve ölçüm farkı ± 0.5 $\log_{10}$ IU/mL sınırları içinde anlamlı ölçülebilir fark olmayan örneklerde) hesaplandı. Her iki testin dinamik ölçüm aralığında elde edilen CMV DNA viral yük değerleri sürekli değişken olarak kaydedildi. Bu kantitatif sonuçlar için öncelikle normal dağılıma uygunluğu açısından Kolmogorov-Smirnov normallik testi yapıldı. Her iki testin dinamik ölçüm aralığında elde edilen CMV DNA viral yük değerlerinin korelasyon analizi yapıldı ve korelasyon katsayısı olan "r" değeri hesaplandı. Ayrıca her iki testin dinamik ölçüm aralığında elde edilen $\log_{10}$ IU/mL birimlerinde hesaplanan kantitatif sonuçları Bland-Altman analizi yapılarak; ortalamalarına karşı farklarının saçılımı incelendi. İstatistiksel olarak $p< 0.05$ anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

İki yüz yirmi örnekten altısında Cobas 6800 CMV PCR testiyle PCR inhibitörü saptanmış ve bu örnekler çalışma dışı bırakılarak analizler 214 örnek üzerinden gerçekleştirilmiştir.

CMV DNA her iki testte 144 (%67.28) örnekte saptanmış, 53 (%24.76) örnekte saptanmamıştır. Toplam 17 (%7.94) örnekte uyumsuz sonuç elde edilmiştir (Tablo I). Her iki testin kalitatif sonuçları arasında iyi düzeyde uyum saptanmıştır (kappa= 0.80, $p< 0.001$). Uyumsuz sonuç alınan 17 örneğin Cobas 6800 CMV PCR ile viral yük saptanmayan

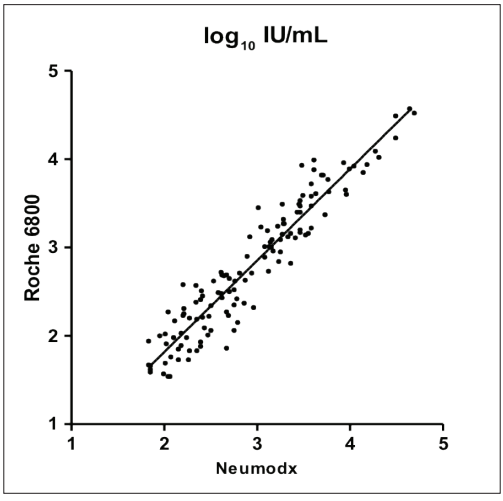
Tablo I. *Cobas 6800 CMV PCR ve NeuMoDx CMV PCR Testlerinin Dinamik Ölçüm Aralıklarına Göre Sonuçları*

			Cobas 6800			
				Saptandı (IU/mL)		
Sitomegalovirüs DNA			**Saptanmadı**	**< 34.5**	**≥ 34.5**	**Toplam**
NeuMoDx	Saptanmadı		53	7	0	60
	Saptandı (IU/mL)	< 20	0	0	0	0
		≥ 20	10	15	129	154
Toplam			63	22	129	214

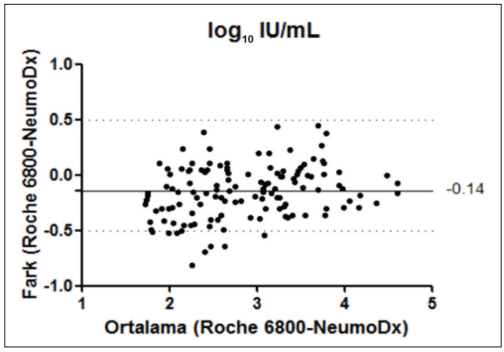
10'unda NeuMoDx CMV PCR testiyle elde edilen viral yük değerlerinin ortancası 46 IU/mL (aralık= 28-107 IU/mL) olarak hesaplanmıştır. NeuMoDx CMV PCR testiyle viral yük saptanmayan yedisinde Cobas 6800 CMV PCR testiyle elde edilen viral yük değeri < 34.5 IU/mL olarak bulunmuştur. Kalitatif uyum %85 (182/214) olarak hesaplanmıştır.

Her iki testin dinamik ölçüm aralığında elde edilen kantitatif sonuçlar (n= 129) incelendiğinde Cobas 6800 CMV PCR ve NeuMoDx CMV PCR testleriyle ölçülen ortanca viral yük değerleri sırasıyla 513 IU/mL (Aralık= 35-37000) ve 741 IU/mL (Aralık= 68-48978) olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar $\log_{10}$ IU/mL olarak incelendiğinde Cobas 6800 ve NeuMoDx testiyle ölçülen ortanca viral yük değerleri sırasıyla 2.71 $\log_{10}$ IU/mL (Aralık= 1.54-4.57) ve 2.87 $\log_{10}$ IU/mL (Aralık= 1.83-4.69) olmuştur.

Korelasyon analizine göre her iki testin sonuçlarının karşılaştırılmasında çok kuvvetli korelasyon saptanmıştır (r= 0.94, p< 0.001) (Şekil 1).



Şekil 1. *Cobas 6800 CMV PCR ve NeuMoDx CMV PCR testlerinde dinamik ölçüm aralığındaki $\log_{10}$ IU/mL birimlerinde olan kantitatif sonuçların korelasyon analizi.*



Şekil 2. *Cobas 6800 CMV PCR ve NeuMoDx CMV PCR testlerinde dinamik ölçüm aralığındaki log_{10} IU/mL birimlerinde olan kantitatif sonuçların ortalamalarına karşı farklarının dağılımının verildiği Bland-Altman grafiği. Düz çizgi ortalama farkı, kesikli çizgiler ± 0.5 log_{10} farkı göstermektedir.*

Her iki testin dinamik ölçüm aralığında elde edilen log_{10} IU/mL birimlerinde hesaplanan kantitatif sonuçların (n= 129) ortalamalarına karşı farklarının saçılımı Bland-Altman plot grafiğinde gösterilmiştir (Şekil 2). Buna göre; NeuMoDx CMV PCR testiyle Cobas 6800 CMV PCR testi değerleri arasındaki en düşük fark -0.001, en yüksek fark 0.813 log_{10} IU/mL ve ortalama fark -0.14 log_{10} [standart sapma (SS)= 0.23] IU/mL olarak bulunmuş, Cobas 6800 CMV PCR testiyle NeuMoDx CMV PCR testinden daha düşük ölçümler yapıldığı saptanmıştır. Her iki testin dinamik ölçüm aralığında sonucu olan 129 örnekten 120 (%93)'sinde ölçüm farkı ± 0.5 log_{10} IU/mL sınırları içinde, 9 (%7)'unda ise ± 0.5 log_{10}'dan fazla olarak gözlenmiştir (ortanca 0.54 log_{10} IU/ml; aralık= 0.51-0.81). Hiçbir örnekte ± 1.0 log_{10}'dan fazla ölçüm farkı saptanmamıştır.

TARTIŞMA

Kantitatif PCR testleri özellikle transplantasyon yapılmış hastalarda CMV enfeksiyonu ve hastalığının yönetiminde rutin uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada CMV DNA saptamada tam otomatize sistemler olan Cobas 6800 ve NeuMoDx sistemleriyle elde edilen CMV viral yük ölçümleri karşılaştırılmıştır.

Kantitatif ölçüm yapan CMV PCR test kitleri, DSÖ UKS ile kalibre edilmelerine rağmen klinik örneklerde viral yük ölçümlerinde kantitatif uyumun henüz sağlanamadığı farklı çalışmalarda bildirilmiştir[5-9]. Bir önceki çalışmamızda Roche CMV Cobas Amplirep-Cobas Taqman ve Artus CMV QIASymphony-Rotorgene testleri arasında ölçüm farkı 0.5 log_{10} IU/mL'den fazla olan örnek sayısı %44 olarak bulunmuştur[6]. Bu çalışmada ise Cobas 6800 CMV PCR ve NeuMoDx CMV PCR testlerinin kalitatif sonuçları arasında iyi düzeyde uyum saptanmış, %7.94 örnekte ise uyumsuz sonuç elde edilmiştir. Uyumsuz sonuç elde edilen örnekler, her iki testte de düşük düzeylerde viral yük değerleri gözlenen örneklerdir. Düşük pozitif ölçümlerde testler arasında uyumsuz sonuçların olabileceği daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir[6,10]. Çalışmamızda örneklerin %93'ünde ölçüm

farkı 0.5 $\log_{10}$'dan az bulunmuştur ve 1 $\log_{10}$ ve üstünde ölçüm farkı saptanmamıştır. Günümüzde, seri viral yük ölçümlerindeki değişimlerin, biyolojik olarak anlamlı viral yük artışını temsil etmesi için en az üç kat (0.5 $\log_{10}$) olması gerektiği kılavuzlarda bildirilmiştir. Düşük viral yük düzeylerinde ise bu değişimin 0.7 $\log_{10}$'dan (beş kat) fazla olması gerektiği belirtilmiştir[11]. Buna göre bu çalışmada karşılaştırdığımız iki sistemde örneklerin çok büyük çoğunluğunda (%93) ölçüm farkı kabul edilebilir sınır içerisindedir. Örneklerin %7'sinde ise ölçüm farkı 0.5 $\log_{10}$'dan fazladır.

Çalışmamızda her iki testin dinamik ölçüm aralığında elde edilen kantitatif sonuçlar arasında çok kuvvetli korelasyon saptanmıştır. İki yöntem arasında çok kuvvetli korelasyon olması sonuçların her zaman birbirine yakın olduğu anlamına gelmeyebileceği için bu sonuçların birbirlerine yakınlık derecesi Bland Altman analizi ile incelenmiştir. Buna göre NeuMoDx CMV PCR testiyle daha yüksek ölçüm yapılmakla birlikte Cobas 6800 CMV PCR testiyle aradaki ortalama fark yalnızca 0.14 $\log_{10}$ IU/mL'dir ve bu sonuç PCR testlerinde biyolojik olarak anlamlı viral yük artışına işaret eden 0.5 $\log_{10}$ IU/mL miktarının altındadır. Kantitatif PCR testlerinde hedeflenen amplikon boyutu kısa olan kitlerle daha yüksek viral yük değerlerinin saptandığı daha önce bildirilmiştir[7]. Meesing ve arkadaşları[12] Cobas 6800 CMV PCR testiyle Cobas Ampliprep-Cobas Taqman CMV PCR testini karşılaştırmışlar ve amplikon boyutu kısa olan Cobas 6800 CMV PCR testiyle daha yüksek ölçüm sonuçları elde etmişlerdir. Laboratuvarımızda yapılan bir önceki çalışmada amplikon boyutu daha kısa (105 bp) olan Artus CMV QIASymphony-Rotorgene testiyle daha uzun olan (340 bp) Roche CMV Cobas Ampliprep-Cobas Taqman testinden daha yüksek ölçümler yapıldığı saptanmıştır[6]. Hasta örneklerinde plazmadaki serbest CMV DNA fragmante halde bulunduğundan kısa amplikon oluşturan kantitatif PCR testleriyle büyük amplikon hedefleyenlere göre daha fazla çoğalma olmaktadır. Bir başka deyişle plazmadaki küçük CMV DNA fragmanları, uzun amplikon ölçümü yapan testlerle saptanamayabilmektedir[7,13,14]. Sunulan çalışmada bu farkın az olması her iki testte çoğaltılan amplikon büyüklüklerinin birbirine yakın olması (Cobas 6800 CMV PCR testinde 10^5 ve 135 bp, NeuMoDx CMV PCR testinde 84 ve 71 bp) ile açıklanabilir. NeuMoDx testinin farklı testlerle karşılaştırıldığı az da olsa ulaşılabilen çalışmalarda da daha kısa amplikon boyutuna sahip NeuMoDx CMV PCR testiyle daha yüksek ölçümler elde edildiği bildirilmiştir[15-17]. Kantitatif PCR testlerinde aynı örnekte ölçüm farkı olmasının diğer nedenleri olarak farklı ekstraksiyon sistemlerinin kullanılması, farklı hedef gen bölgelerinin seçilmesi ve örnek matriksinin ve başlangıç hacminin farklı olması sayılabilir[10]. CMV PCR kitlerinin DSÖ UKS ile kalibre edilmesiyle kitler arası kantitatif uyum varlığı başka araştırmalarda da incelenmektedir. Mourik ve arkadaşları[15] NeuMoDx CMV ile Abbott m2000 CMV arasında kalitatif ve kantitatif ölçümler için sırasıyla %92 ve %87 uyum saptamışlardır. Benzer şekilde Herdina ve arkadaşları[16] NeuMoDx CMV ile Abbott m2000 CMV ölçümleri arasında %96.8 kalitatif uyum bulmuşlar ve her iki testin dinamik ölçüm aralığındaki test sonuçları arasında -0.14 $\log_{10}$ fark olduğunu bildirmişlerdir. Luciani ve arkadaşları[17] ise NeuMoDx CMV ile R-GENE CMV PCR kitleriyle yapılan viral yük ölçümlerini arasında orta derecede uyum olduğunu belirtmişlerdir.

Ekonomik açıdan gereksiz tedavi uygulamalarının önüne geçmek, sağlık hizmeti açısından hasta takibi, yönetimi ve sağ kalımını en iyi şekilde organize etmek için farklı kit ve sistemlerle çalışılan kantitatif CMV PCR test sonuçlarının karşılaştırılabilir ve birbirinin yerine kullanılabilir olup olmadığının bilinmesi gereklidir[18]. Bu amaçla eski ve yeni test birlikte çalışılarak sonuçlarının istatistiksel yöntemlerle karşılaştırılması, sonuçlar arasında ölçüm farkı ve kantitatif uyumun araştırılması ve bu konuda klinisyenlerin bilgilendirilmesi gerekir. Bu mümkün olamayacaksa özellikle transplantasyon merkezlerinin aynı örnek türü ve aynı testle hastalarını izlemesi en uygun yaklaşım olacaktır. Sunulan çalışmada; CMV UKS ile kalibre edilmiş tam otomatize Cobas 6800 CMV PCR ve NeuMoDx CMV PCR testleriyle plazma örneklerinde yapılan ölçümlerde kantitatif uyum saptanmıştır. Bu çalışma, ulaşılabildiği kadarıyla, CMV viral yük ölçümünde DSÖ CMV UKS ile kalibre edilmiş iki büyük tam otomatize sistem olan Cobas 6800 CMV PCR ve NeuMoDx CMV PCR testleriyle yapılan CMV viral yük ölçümlerinin karşılaştırıldığı ilk çalışmadır. Sonuç olarak bu iki sistemden birinden diğerine geçişte viral yük ölçümleri benzer olacak, ölçüm farkları kabul edilebilir sınırlar içinde kalacaktır. Bununla birlikte bu sonuçların laboratuvar koşullarımızda elde edildiği akılda tutulmalıdır.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Tarih: 08.03.2023 ve Karar no: 210).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Griffiths P, Reeves M. Pathogenesis of human cytomegalovirus in the immunocompromised host. Nat Rev Microbiol 2021; 19(12): 759-73. https://doi.org/10.1038/s41579-021-00582-z
2. Minz RW, Kumar M, Kanwar DB, Sharma A, Singh P, Singh J, et al. Cytomegalovirus infection in postrenal transplant recipients: 18 years' experience from a tertiary referral center. Transplant Proc 2020; 52(10): 3173-8. https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2020.02.162
3. Limaye AP, Babu TM, Boeckh M. Progress and challenges in the prevention, diagnosis, and management of cytomegalovirus infection in transplantation. Clin Microbiol Rev 2021; 34(1): e00043-19. https://doi.org/10.1128/CMR.00043-19
4. Lee H, Oh EJ. Laboratory diagnostic testing for cytomegalovirus infection in solid organ transplant patients. Korean J Transplant 2022; 36(1): 15-28. https://doi.org/10.4285/kjt.22.0001
5. Hayden RT, Preiksaitis J, Tong Y, Pang X, Sun Y, Tang L, et al. Commutability of the first World Health Organization international standard for human cytomegalovirus. J Clin Microbiol 2015; 53(10): 3325-33. https://doi.org/10.1128/JCM.01495-15
6. Çolak D, Sağlık İ, Can Sarınoğlu R, Mutlu D, Peker BO, Erman Daloğlu A, et al. Dünya Sağlık Örgütü uluslararası sitomegalovirüs (CMV) standardı ile kalibre edilmiş iki ticari kantitatif CMV polimeraz zincir reaksiyonu testinin karşılaştırılması. Mikrobiyol Bul 2020; 54(2): 257-65. https://doi.org/10.5578/mb.68628
7. Preiksaitis JK, Hayden RT, Tong Y, Pang XL, Fryer JF, Heath AB, et al. Are we there yet? Impact of the first international standard for cytomegalovirus DNA on the harmonization of results reported on plasma samples. Clin Infect Dis 2016; 63(5): 583-9. https://doi.org/10.1093/cid/ciw370

8. Mannonen L, Loginov R, Helanterä I, Dumoulin A, Vilchez RA, Cobb B, et al. Comparison of two quantitative real-time CMV-PCR tests calibrated against the 1st WHO international standard for viral load monitoring of renal transplant patients. J Med Virol 2014; 86(4): 576-84. https://doi.org/10.1002/jmv.23733
9. Engelmann I, Alidjinou EK, Lazrek M, Ogiez J, Pouillaude JM, Chazard E, et al. Comparison of two commercial quantitative PCR assays and correlation with the first WHO International Standard for human CMV. Diagn Microbiol Infect Dis 2018; 91(1): 27-33. https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.12.021
10. Kraft CS, Armstrong WS, Caliendo AM. Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: Understanding the laboratory perspective. Clin Infect Dis 2012; 54(12): 1793-7. https://doi.org/10.1093/cid/cis212
11. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Huprikar S, Chou S, Danziger-Isakov L, et al. The third international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. Transplantation 2018; 102(6): 900-31. https://doi.org/10.1097/TP.0000000000002191
12. Meesing A, Germer JJ, Yao JD, Gartner ML, Digmann BJ, Razonable RR. Differences in duration and degree of cytomegalovirus DNAemia observed with two standardized quantitative nucleic acid tests and implications for clinical care. J Infect Dis 2020; 221(2): 251-5. https://doi.org/10.1093/infdis/jiz452
13. Boom R, Sol CJ, Schuurman T, Van Breda A, Weel JF, Beld M, et al. Human cytomegalovirus DNA in plasma and serum specimens of renal transplant recipients is highly fragmented. J Clin Microbiol 2002; 40(11): 4105-13. https://doi.org/10.1128/JCM.40.11.4105-4113.2002
14. Hayden RT, Tang L, Su Y, Cook L, Gu Z, Jerome KR, et al. Impact of fragmentation on commutability of Epstein-Barr virus and cytomegalovirus quantitative standards. J Clin Microbiol 2020; 58(1): e00888-19. https://doi.org/10.1128/JCM.00888-19
15. Mourik K, Boers SA, van Rijn AL, Thijssen JCP, Doorn R, Svraka S, et al. Evaluation of the sample-to-result, random access NeuMoDx platform for viral load testing of cytomegalovirus and epstein barr virus in clinical specimens. J Clin Virol 2022; 149: 105122. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2022.105122
16. Herdina AN, Ratzinger F, Breuer M, Schellnegger J, Chen RQ, Watkins-Riedel T, et al. Performance evaluation of the fully automated NeuMoDx RT-PCR platform for the quantification of CMV and EBV DNA in EDTA plasma: Implications for clinical management and establishment of a conversion formula. Microbiol Spectr 2022; 10(6): e0215722. https://doi.org/10.1128/spectrum.02157-22
17. Luciani L, Mongin D, Ninove L, Nougairède A, Bardy K, Gazin C, et al. Cytomegalovirus viral load in transplanted patients using the NeuMoDxTM (Qiagen) automated system: A 1-Month experience feedback. Viruses 2021; 13(8): 1619. https://doi.org/10.3390/v13081619
18. Razonable RR, Inoue N, Pinninti SG, Boppana SB, Lazzarotto T, Gabrielli L, et al. Clinical diagnostic testing for human cytomegalovirus infections. J Infect Dis 2020; 221(Suppl 1): 74-85. https://doi.org/10.1093/infdis/jiz601