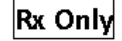




201800 NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip

DİKKAT: Yalnızca ABD İhracatı için



NeuMoDx™ 288 ve NeuMoDx™ 96 Molecular System'lar ile *in vitro* tanı amaçlı kullanım için



Ürün kullanılmadan önce prospektüs dikkatlice okunmalıdır. Prospektüs talimatları uygun şekilde izlenmelidir. Prospektüsteki talimatlardan farklı uygulama durumunda tayin sonuçlarının güvenilirliği garanti edilemez. Ayrıntılı talimatlar için NeuMoDx™ 288 Molecular System Operatör Kılavuzu; P/N 40600108 belgesine başvurun. Ayrıntılı talimatlar için NeuMoDx™ 96 Molecular System Operatör Kılavuzu; P/N 40600317 belgesine başvurun



KULLANIM AMACI

NeuMoDx™ BKV Quant Assay, insan plazma/Serum ve İdrarından ekstrakte edilen örneklerde BK virüsü (BKV) DNA'sının tanımlanması ve kantifikasyonuna yönelik otomatik, *in vitro* bir nükleik asit amplifikasyon testidir. NeuMoDx™ 288 Molecular System ve NeuMoDx™ 96 Molecular System (NeuMoDx™ System'lar) üzerinde uygulanan NeuMoDx BKV Assay, hedef nükleik asidi numuneden izole etme amaçlı otomatik DNA ekstraksiyonunu ve BKV genomundaki sekansları hedefleme amaçlı gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunu (Polymerase Chain Reaction, PCR) içerir.

NeuMoDx BKV Quant Assay, diğer klinik bulgular ve laboratuvar bulgularıyla birlikte, BK virüsü enfeksiyonunun teşhisi ve izlenmesinde yardımcı olarak tasarlanmıştır.

ÖZET VE AÇIKLAMA

Plazmanın hazırlanması için antikoagülasyon ajanı olarak EDTA içeren steril kan toplama tüplerinde veya plazma hazırlama tüplerinde (Plasma Preparation Tubes, PPT) toplanan insan tam kanı kullanılabilir. Serum ise serum toplama tüpleri veya serum ayırma tüplerinde (Serum Separation Tubes, SST) toplanmalıdır. Bir idrar numunesini test etmek için idrar örneği, koruyucu veya katkı maddesi olmadan standart idrar toplama kabında toplanır. Teste hazırlık amacıyla NeuMoDx™ System ile uyumlu bir birincil veya ikincil numune tüpündeki plazma/serum veya idrar, otomatik işlemeye başlanması için özel bir numune tüpü taşıyıcı kullanılarak NeuMoDx™ System'a yüklenir. Plazma/serum numuneleri için örneğin 550 µL'lik bir alikotu cihazdan NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 ile veya alternatif olarak, plazma/serum örneğinin 100 µL'lik bir alikotu NeuMoDx™ Lysis Buffer 5 ile karıştırılır. İdrar örnekleri için örneğin 550 µL'lik bir alikotu cihazdan NeuMoDx™ Lysis Buffer 2 ile karıştırılır. NeuMoDx™ System, hedef nükleik asidi ekstrakte etmek, gerçek zamanlı PCR amplifikasyonu için izole DNA'yı hazırlamak ve mevcutsa amplifikasyon ürünlerini amplifiye etmek ve saptamak için gereken tüm adımları otomatik olarak gerçekleştirir. NeuMoDx™ BKV Quant Assay, ekstraksiyon ve amplifikasyon işleminde karşılaşılabilecek NeuMoDx™ System veya reaktif hatalarının yanı sıra, potansiyel inhibe edici maddelerin varlığını izlemeye yardımcı olması amacıyla bir DNA Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC1) içerir.

BK polyomavirüs (BKV), çift sarmallı DNA (double-stranded DNA, dsDNA) virüslerinin Polyomaviridae ailesinin bir üyesidir. BKV, önemli klinik sekel bırakmaksızın yaygın bir çocukluk enfeksiyonuna neden olur ve yetişkinleri >%80'i BKV bakımından seropozitifdir.¹ Bu dsDNA virüsü ile birincil enfeksiyon genellikle asemptomatiktir ve çocuklukta gerçekleşir. Semptom görülmesi halinde en yaygın görülen semptom ateş ve spesifik olmayan üst solunum yolu enfeksiyonudur.² Birincil enfeksiyon gerçekleştiği zaman virüs birçok bölgede, en çok da böbrekte latent kalır. Bulaşma, vücut sıvılarına maruz kalma yoluyla gerçekleşebilir. Bağlı veya mutlak hücrel immün yetmezliği durumlarında virüs yeniden aktive olabilir ve hastalığa neden olabilir.²

Plazma/serum ve idrarda PCR bazlı viral yük kantifikasyonu, BKV'nin yeniden aktivasyonunun izlenmesinde standart klinik araçtır. Kantitatif BKV PCR sonuçları raporlayan çalışmalar, yüksek viral yükler ile BKV ile ilişkili nefropati (BKV-Associated Nephropathy, BKVAN) gelişmesi olasılığının artması arasında pozitif bir korelasyon göstermektedir.¹ İdrardaki BKV kümelenmelerini açıklamak için kullanılan diğer klinik araçlar arasında, döküm benzeri üç boyutlu BKV kümelenmelerini gösteren elektron mikroskopisi yer alır. Bununla birlikte tayin, maliyeti ve elektron mikroskopisinin sınırlı kullanılabilirliği nedeniyle rutin klinik uygulama için uygun değildir.¹

PROSEDÜR PRENSİPLERİ

NeuMoDx™ System'da NeuMoDx™ BKV Quant Assay, analizi gerçekleştirmek için NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit, NeuMoDx™ BKV External Control Kit, NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, NeuMoDx™ Lysis Buffer 2, NeuMoDx™ Lysis Buffer 5 ve NeuMoDx™ genel amaçlı kullanılan reaktiflerini kullanır. Reaktiflerin saklama sıcaklığı +15/+30°C'dir.

NeuMoDx™ BKV Quant Assay, gerçek zamanlı PCR ile otomatik DNA ekstraksiyonu, amplifikasyonu ve saptamasını bir araya getirir. NeuMoDx™ System ile uyumlu birincil veya ikincil numune tüplerinde yer alan plazma/serum veya idrar numuneleri, işleme amacıyla NeuMoDx™ System'a yüklenecek olan bir numune tüpü taşıyıcıya yerleştirilir. Başka operatör müdahalesi gerekmez.

NeuMoDx™ System'lar; hücre lizisi, DNA ekstraksiyonu ve inhibitörlerin giderilmesi işlemlerini otomatik olarak gerçekleştirmek için ısı, litik enzim ve ekstraksiyon reaktiflerinin bir bileşimini kullanır. Serbest kalan nükleik asitler, paramanyetik partiküller tarafından yakalanır. Partiküller, bağlanan nükleik asitler ile birlikte, bağlanmayan, DNA dışı bileşenlerin NeuMoDx™ Wash Reagent ile yıkanarak daha fazla giderildiği ve bağlanan DNA'nın, NeuMoDx™ Release Reagent kullanılarak elüsyonunu yapıldığı NeuMoDx™ Cartridge'e yüklenir. NeuMoDx™ System'lar daha sonra, BKV'ye özgü hedeflerin ve SPC1 hedeflerinin PCR amplifikasyonu için gerekli olan tüm öğeleri içeren Sentinel CH tescilli dondurularak kurutulmuş amplifikasyon reaktiflerini (STAT-NAT® teknolojisi) rehidre etmek için elüsyonu yapılan DNA'yı kullanır. Liyofilize PCR reaktifleri sulandırıldıktan sonra NeuMoDx™ System, hazırlanan PCR'ye hazır karışımı, NeuMoDx™ Cartridge'in içine dağıtır. Kontrol ve hedef DNA sekanslarının (mevcutsa) amplifikasyonu ve saptanması, NeuMoDx™ Cartridge'in PCR bölgesi alanında gerçekleşir. NeuMoDx™ Cartridge, gerçek zamanlı PCR sonrasında amplikonu bulunduracak ve böylece, amplifikasyon sonrası kontaminasyon riskini temelde tamamen ortadan kaldıracak şekilde tasarlanmıştır.

Amplifiye hedefler, amplikonların ilgili hedeflerine özgü florojenik oligonükleotid prob moleküllerinin kullanıldığı hidroliz probu kimyası (yaygın olarak TaqMan® kimyası olarak adlandırılır) kullanılarak gerçek zamanlı olarak saptanır.

TaqMan® problemleri, oligonükleotid probunun 5' ucuna kovalent bağlanan bir florofordan ve 3' ucunda bir baskılayıcıdan oluşur. Prob intakt durumdayken florofor ve baskılayıcı birbirine yakındır. Bu da, baskılayıcı molekülünün, florofor tarafından FRET (Förster Rezonans Enerji Transferi) aracılığıyla yayılan floresansı baskılamasına yol açar.

TaqMan® problemleri, belirli bir primer seti tarafından amplifiye edilen bir DNA bölgesi içinde bağlanacak şekilde tasarlanmıştır. Taq DNA polimerazı primeri uzattıkça ve yeni iplikçığı sentezledikçe Taq DNA polimerazının 5' ile 3' ekzonükleaz aktivitesi, şablona bağlanan probu degrade eder. Probu degradasyonu, floroforun salınmasına ve baskılayıcı ile yakın mesafeyi aşarak FRET kaynaklı baskılama etkisinin aşılmasına yol açar ve floroforun floresans ile saptanmasını sağlar. NeuMoDx™ System kantitatif PCR ısı döngüleyicide saptanan floresan sinyali, salınan florofor ile doğru orantılıdır ve mevcut olan hedef DNA miktarı ile korele edilebilir.³

5' ucunda floroforlar ve 3' ucunda baskılayıcılar ile etiketlenen TaqMan® problemleri BKV DNA'sı ve SPC1 DNA'sını saptamak için kullanılır. NeuMoDx™ System yazılımı, her amplifikasyon döngüsünün sonunda TaqMan problemleri tarafından yayılan floresan sinyalini izler. Amplifikasyon tamamlandığında NeuMoDx™ System yazılımı, verileri analiz eder ve nihai sonucu (POSITIVE (POZİTİF) / NEGATIVE (NEGATİF) / INDETERMINATE (ŞÜPHELİ) / UNRESOLVED (ÇÖZÜMLENMEMİ) / NO RESULT (SONUÇ YOK)) raporlar. Bir sonuç pozitifse ve hesaplanan konsantrasyon kantitasyon sınırları dahilindeyse NeuMoDx System yazılımı aynı zamanda örnekle ilişkili bir kantitatif değer sunar.

REAKTİFLER/SARF MALZEMELERİ

Sağlanan Materyal

REF	İçindekiler	Paket başına birim	Ünite başına test	Paket başına test
201800	NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip SPC1'e özgü TaqMan® prob ve primerlerine ek olarak BKV'ye özgü TaqMan® prob ve primerlerini içeren kurutulmuş PCR reaktifleri.	6	16	96

Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Reaktifler ve Sarf Malzemeleri (NeuMoDx'ten Ayrı Olarak Temin Edilebilir)

REF	İçindekiler
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate Kurutulmuş paramanyetik partiküller, litik enzim ve örnek işleme kontrolleri
800600	NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit Standart eğrinin geçerliliğini belirlemek için tek kullanımlık BKV Yüksek ve Düşük Kurutulmuş Kalibratör setleri
900601	NeuMoDx™ BKV External Control Kit NeuMoDx BKV Quant Assay'in günlük geçerliliğini belirlemek için tek kullanımlık BKV Pozitif kurutulmuş kontrol ve Negatif kontrol setleri
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400500	NeuMoDx™ Lysis Buffer 2
400900	NeuMoDx™ Lysis Buffer 5
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Filtreler ile Hamilton CO-RE Uçlar (300 µL)
235905	Filtreler ile Hamilton CO-RE Uçlar (1000 µL)

Gerekli Cihazlar

NeuMoDx™ 288 Molecular System [REF 500100] veya NeuMoDx™ 96 Molecular System [REF 500200]

UYARILAR VE ÖNLEMLER

- NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, yalnızca NeuMoDx™ System'lar ile *in vitro* tanı amaçlı kullanım içindir.
- Testi gerçekleştirmeden önce, kit prospektüsünde yer alan tüm talimatları okuyun.
- Listelenen son kullanma tarihini geçmiş reaktifleri veya sarf malzemelerini kullanmayın.

- Ürün geldiğinde güvenlik mührü kırılmışsa veya ambalaj hasar görmüşse reaktifleri kullanmayın.
- Ürün geldiğinde koruyucu kese açık veya kırıkta sarf malzemelerini veya reaktifleri kullanmayın.
- Başka ticari kitlerden amplifikasyon reaktifleriyle karıştırmayın.
- Yeniden kullanmayın.
- Tüm NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'leri alüminyum zarflarında ışık ve nemden koruyarak muhafaza edin.
- Klinik örnekleri için test sonuçlarının oluşturulabilmesi için geçerli bir test kalibrasyonu (NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit'ten [REF 800600] yüksek ve düşük kalibratörler işlenerek oluşturulur) bulunmalıdır.
- NeuMoDx™ BKV Quant Assay ile test boyunca 24 saatte bir olmak üzere NeuMoDx™ BKV External Control Kit'in (REF 900601) işlenmesi gerekir.
- Minimum numune hacmi, aşağıda tanımlandığı şekilde tüp boyutu, numune taşıyıcı ve numune hacmi iş akışına bağlıdır. Belirtilen minimum değer altındaki hacim "Quantity Not Sufficient" (Miktar Yeterli Değil) Hatasına neden olur.
- Uygun olmayan sıcaklıklarda veya belirtilen saklama sürelerinden daha uzun süre saklanmış numuneler üzerinde BKV tayininin gerçekleştirilmesi, NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip kullanılırken geçersiz veya hatalı sonuçlara yol açabilir.
- Tüm reaktiflerin ve sarf malzemelerinin mikrobiyal ve deoksiribonükleaz (DNaz) kontaminasyonundan kaçının. İkincil numune tüpleri kullanılıyorsa steril, DNaz içermeyen tek kullanımlık transfer pipetleri kullanmanız tavsiye edilir. Her numune için yeni bir pipet kullanın.
- Kontaminasyonu önlemek için NeuMoDx™ Cartridge'i amplifikasyondan sonra kullanmayın veya parçalarına ayırmayın. NeuMoDx™ Cartridge'leri hiçbir durumda Biyolojik Tehlikeli Atık Kabından (NeuMoDx™ 288 Molecular System) veya Biyolojik Tehlikeli Atık Kutusundan (NeuMoDx™ 96 Molecular System) almayın. NeuMoDx™ Cartridge, kontaminasyonu engellemek üzere tasarlanmıştır.
- Açık tüp PCR testlerinin de laboratuvar tarafından yürütüldüğü durumlarda, NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'in, test için gerekli olan ilave sarf malzemelerinin ve reaktiflerin; eldiven ve laboratuvar önlüğü gibi kişisel koruyucu donanımların ve NeuMoDx™ System'in kontamine olmamasına dikkat edilmelidir.
- NeuMoDx™ reaktifleri ve sarf malzemeleri kullanılırken temiz, pudrasız, nitril eldivenler kullanılmalıdır. NeuMoDx™ Cartridge'in üst yüzeyine, NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'in veya NeuMoDx™ Extraction Plate'in folyo mührüne veya NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, 2 ve 5 kaplarının üst yüzeyine dokunmamaya dikkat edilmelidir. Sarf malzemeleri ve reaktifler yalnızca yan yüzeylere dokunarak kullanılmalıdır.
- Her reaktif için uygun olduğu durumlarda Güvenlik Veri Sayfaları (Safety Data Sheets, SDS) sağlanmıştır: www.neumodx.com/client-resources.
- Metin kenar boşluğundaki dikey bir çubuk, önceki kullanım talimatları versiyonuyla karşılaştırmalı olarak değişiklikleri gösterir.
- Testi yaptıktan sonra ellerinizi iyice yıkayın.
- Ağızla pipetlemeyin. Numunelerin veya reaktiflerin kullanıldığı yerlerde sigara içmeyin ve bir şey yiyip içmeyin.
- Numuneleri her zaman enfeksiyöz gibi düşünerek ve OSHA Kan Yoluyla Bulaşan Patojenler Standardı⁴, Biyolojik Güvenlik Seviyesi 2⁵ içinde açıklananlar gibi güvenli laboratuvar prosedürleri doğrultusunda kullanın veya enfeksiyöz ajan içeren veya içerdiğinden şüphelenilen materyaller için diğer uygun biyolojik güvenlik uygulamalarını^{6,7} kullanın.
- Kullanılmayan reaktifleri ve atığı, ülkeye özel, federal, bölgesel, eyalete özel ve yerel yönetmelikler doğrultusunda bertaraf edin.
- NeuMoDx™ BKV Quant Assay'den elde edilen sonuçlar, diğer klinik bulgular ve laboratuvar bulgularıyla birlikte yorumlanmalıdır.
- Diğer testlerde olduğu gibi, negatif sonuçlar BKV enfeksiyonunu ihtimal dışı bırakmaz.

ÜRÜNÜ SAKLAMA, KULLANMA VE STABİLİTE

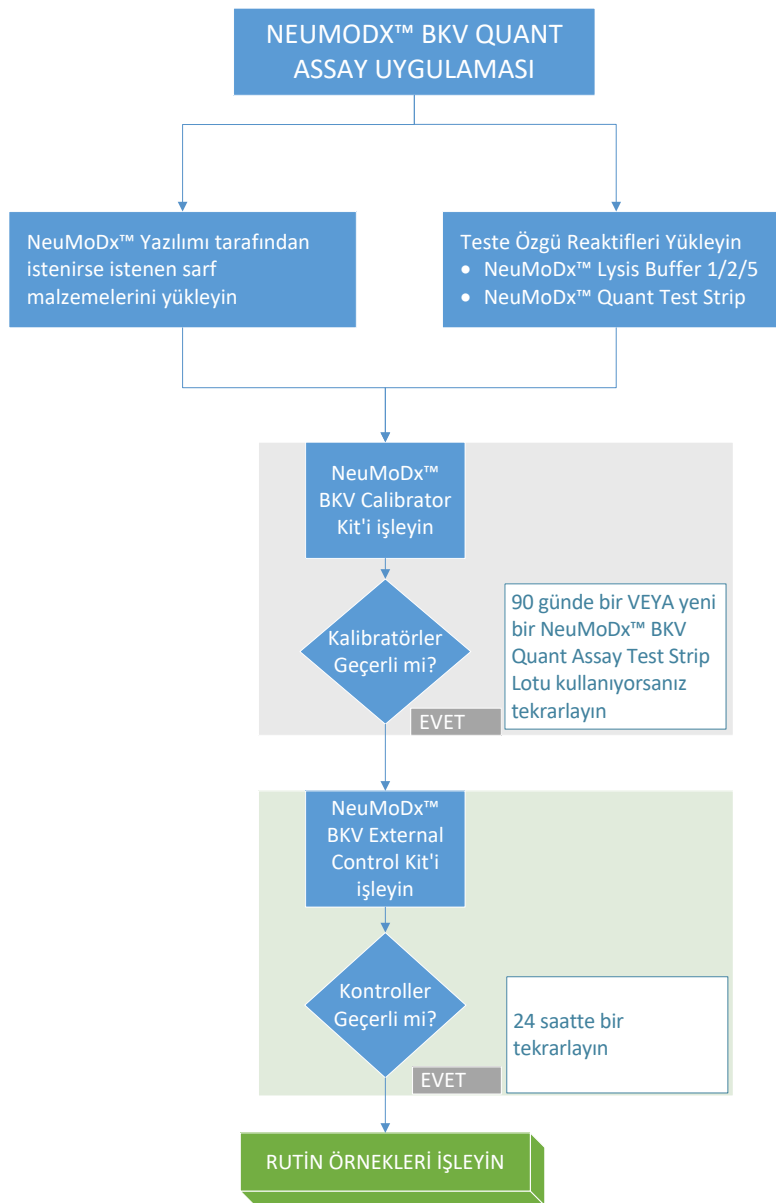
- NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'ler, birincil ambalajında, 15 ila 30°C sıcaklıkta, ürünün üzerindeki etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir.
- NeuMoDx™ System'a yüklenen bir NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip, 32 gün boyunca stabildir. NeuMoDx™ System yazılımı, NeuMoDx™ System üzerinde 32 günden daha uzun süre kullanımda olan test şeritlerinin çıkarılmasını isteyecek ve yeni NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'lerin açılması (şeritleri torbadan çıkarın) ve NeuMoDx System'a yüklenmesi gerekecektir. NeuMoDx System'a yükleme sırasında şeridin alüminyum folyosunu çıkarmayın.
- NeuMoDx™ kalibratörler ve kontroller enfeksiyöz değildir ancak sistemde işlendikten sonra, uygun kullanılmadığı takdirde kontaminasyona yol açabilecek hedef materyal içerdiklerinden kullanımdan sonra laboratuvarın biyolojik tehlikeli atığına atılmalıdır.

NUMUNE TOPLAMA, TAŞIMA VE SAKLAMA

1. Tüm numuneleri, enfeksiyöz ajan bulaştırma olasılığı varmış gibi kullanın.
2. Birincil tüplerde saklanan tam kan veya plazma/serum numunelerini dondurmuyun.
3. Plazma numunelerini hazırlamak için tam kan, antikoagülan olarak EDTA kullanılarak steril tüplerde toplanmalıdır. Serum numuneleri, serum ayırma tüplerinde hazırlanmalıdır. İdrar örnekleri, steril tüplerde veya kaplarda toplanmalıdır. Numune tüpü üreticisinin talimatlarını izleyin.
4. Yukarıda listelenen cihazlarda toplanan tam kan, plazma/serum hazırlığı için 2°C ila 8°C sıcaklıkta, 24 saate kadar saklanabilir ve/veya taşınabilir. Örnek hazırlığı üreticinin talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmelidir.
5. Taze işlenmemiş İdrarın ortam sıcaklığında saklanması en aza indirilmelidir çünkü düşük pH ve yüksek üre, özellikle 25°C ve üzeri sıcaklıklarda DNA'yı hızlıca denatüre eder.

6. Hazırlanan plazma/serum ve idrar numuneleri, işlenmeden önce NeuMoDx™ System'da 24 saate kadar saklanabilir. İlave saklama süresi gerekiyorsa numunelerin soğutulması veya ikincil alikotlar olarak dondurulması önerilir.
7. Hazırlanan plazma/serum ve idrar numuneleri testten önce, 8 günü aşmamak kaydıyla 2 ila 8°C sıcaklıkta ve oda sıcaklığında maksimum 24 saat saklanmalıdır.
8. Hazırlanan numuneler, plazma için 8 haftaya kadar <-20°C'de, serum için ise işlenmeden önce 2 hafta olmak üzere saklanabilir. Ne plazma ne de serum örnekleri, kullanılmadan önce 2'nin üzerinde dondurma/çözdürme döngüsüne tabi tutulmamalıdır:
 - a. Örnekler dondurulmuşsa örneklerin oda sıcaklığında (15-30°C) tamamen çözünmesini bekleyin; eşit dağılımlı bir örnek elde etmek için vorteksleyin.
 - b. Dondurulmuş örnekler çözürüldükten sonra 24 saat içinde test gerçekleştirilmelidir.
 - c. Plazma/serumun birincil toplama tüplerinde dondurulması önerilmez.
9. İdrar örnekleri işlendikten sonra 2 ila 8°C'de saklanabilir.
10. Gönderilen numuneler ambalajlanmalı ve uygun ülke düzenlemeleri ve/veya uluslararası düzenlemeler ile uyumlu bir şekilde etiketlenmelidir.
11. Numuneleri anlaşılır bir şekilde etiketleyin ve numunelerin BKV testi için olduğunu belirtin.
12. *Test Hazırlığı* bölümüne geçin.

NeuMoDx™ BKV Quant Assay'in genel uygulama süreci, aşağıda *Şekil 1* üzerinde özetlenmiştir.



Şekil 1: NeuMoDx BKV Quant Assay Uygulaması İş Akışı

KULLANMA TALİMATI

Test Hazırlığı

Plazma/Serum örnekleri için NeuMoDx BKV Quant Assay doğrudan birincil kan toplama tüplerinden veya ikincil tüplerdeki numune alikotlarından çalışılabilir. İşleme, iki numune hacmi işleme iş akışından biri kullanılarak gerçekleştirilebilir: 550 µL numune işleme iş akışı veya 100 µL numune işleme iş akışı. İdrar örnekleri yalnızca 550 µL numune iş akışı kullanılarak çalışılır.

1. Numune barkod etiketini, NeuMoDx™ System ile uyumlu numune tüpüne uygulayın. Birincil kan toplama tüpü etiketlenebilir ve üreticinin talimatları doğrultusunda santrifügasyon sonrası doğrudan 32 tüplü bir Numune Tüpü Taşıyıcıya yerleştirilebilir.
2. Birincil toplama tüpündeki plazma/serum numunesini test ediyorsanız barkodlu tüpü bir Numune Tüpü Taşıyıcısına yerleştirin ve NeuMoDx System'a yüklemeyen önce kapağının çıkarıldığından emin olun. Jel/beyaz kan hücresi katmanının **üzerindeki** minimum hacimler aşağıda tanımlanmıştır ve numuneler, tüp üreticisinin talimatları doğrultusunda toplandığı ve işlendiği sürece elde edilecektir. Uygun şekilde toplanmayan numuneler için performans garanti edilemez.

Kan Toplama Tüp Tipi	Minimum Gerekli Numune Hacmi	
	550 µL İş Akışı	100 µL İş Akışı
SST – 3,5 mL	1550 µL	1150 µL
PPT/SST – 5,0 mL	1800 µL	1400 µL
PPT/SST – 8,5 mL	2500 µL	2150 µL
K ₂ EDTA/Serum – 4,0 mL	1050 µL	650 µL
K ₂ EDTA/Serum – 6,0 mL	1250 µL	850 µL
K ₂ EDTA/Serum – 10,0 mL	1600 µL	1200 µL

3. İdrar örnekleri veya ikincil tüpteki Plazma/Serum örnekleri için aşağıda tanımlanan hacimlere göre, NeuMoDx System ile uyumlu olan barkodlu numune tüpüne numunenin bir alikotunu aktarın:

Numune Tüpü Taşıyıcısı	Tüp Boyutu	Minimum Gerekli Numune Hacmi	
		550 µL İş Akışı	100 µL İş Akışı (Yalnızca Plazma/Serum)
32-Tube Specimen Tube Carrier (32 Tüplü Numune Tüpü Taşıyıcısı)	11-14 mm çap x 60-120 mm yükseklik	700 µL	350 µL
24-Tube Specimen Tube Carrier (24 Tüplü Numune Tüpü Taşıyıcısı)	14,5-18 mm çap x 60-120 mm yükseklik	1100 µL	750 µL
Low Volume Specimen Tube Carrier (Düşük Hacimli Numune Tüpü Taşıyıcısı)	1,5 mL'lik konik tabanlı mikrosantrifüj tüpü	650 µL	250 µL

NeuMoDx System Çalışması

Ayrıntılı talimatlar için NeuMoDx™ 288 ve 96 Molecular Systems'ların Operatör Kılavuzlarına başvurun (p/n 40600108 ve 40600317)

1. Test isteğini, istenen numune ve tüp tipine göre NeuMoDx System'a yükleyin:
 - 550 µL numune hacmi, numune tipi "**Plasma**" (Plazma), "**Serum**" veya "**Urine**" (İdrar) olarak tanımlanarak test edilir
 - 100 µL numune hacmi, numune tipi "**Plasma2**" (Plazma2) veya "**Serum2**" olarak tanımlanarak test edilir
 - Test isteğinde tanımlanmamışsa varsayılan olarak, bir **Secondary Tube** (İkincil Tüp) içinde **Plasma** (Plazma) numune tipi kullanılacaktır.
2. Alüminyum NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip torbalarını yatay çentiklerle gösterilen noktadan kesin.
3. Kullanımdan hemen önce şeritleri torbalardan çıkarın.
4. Torbaları kullanmadan önce mutlaka mühürlenmiş olduklarından ve kurutucu saşesinin hala içinde olduğundan emin olun. Yalnızca hasar görmemiş ambalajları kullanın.
5. Kurutucu saşesi turuncudan yeşile dönerse alüminyum torbaları ve içeriklerini atın.
6. Bir veya daha fazla NeuMoDx™ System Test Şeridi taşıyıcısını, NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'ler ile doldurun ve dokunmatik ekranı kullanarak Test Şeridi Taşıyıcılarını NeuMoDx™ System'a yükleyin.

7. NeuMoDx™ System yazılımı tarafından istenmesi durumunda gerekli sarf malzemelerini NeuMoDx™ System sarf malzemesi taşıyıcılarına ekleyin ve dokunmatik ekranı kullanarak taşıyıcıları NeuMoDx™ System'a yükleyin.
8. NeuMoDx™ System yazılımı tarafından istenmesi halinde NeuMoDx™ Wash Reagent, NeuMoDx™ Release Reagent'ı değiştirin, Sıvı Geçirme Atığı, Biyolojik Tehlikeli Atık Kabı (yalnızca NeuMoDx 288 Molecular System), Uç Atık Kutusu (yalnızca NeuMoDx 96 Molecular System) veya Biyolojik Tehlikeli Atık Kutusunu (yalnızca NeuMoDx 96 Molecular System) uygun şekilde boşaltın.
9. NeuMoDx™ System yazılımı tarafından istenirse Calibrator'lar (REF 800600) ve/veya External Control'ler (REF 900601) gerektiği şekilde işleyin. Kalibratörler ve kontrollere ilişkin daha fazla bilgi *Sonuçları İşleme* bölümünde bulunabilir.
10. Numune/kalibratör/kontrol tüplerini standart bir 32 Tüplü Taşıyıcıya yükleyin ve tüm tüplerin kapaklarının çıkarılmış olduğundan emin olun.
11. Numune Tüpü Taşıyıcı, Otomatik Yükleyici rafındaki herhangi bir uygun konuma yerleştirin ve taşıyıcıyı NeuMoDx™ System'a yüklemek için dokunmatik ekranı kullanın. Böylece, sistemde geçerli bir test isteği bulunduğu sürece, tanımlanan testler için yüklenen numuneler işlenmeye başlar.

SINIRLAMALAR

- NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip yalnızca NeuMoDx™ System'lar üzerinde kullanılabilir.
- NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'in performansı antikoagülan olarak EDTA ile toplanan tam kandan hazırlanan plazma ve serum numunelerinden ve idrar numunelerinden belirlenmiştir. NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'in diğer klinik numune türleriyle kullanımı değerlendirilmemiştir ve testin diğer numune türleri ile performans özellikleri bilinmemektedir.
- 100 µL numune hacmi iş akışı kullanıldığında, NeuMoDx BKV Quant Assay'in saptama limitinde ve alt kantitasyon limitinde ufak bir artış gözlemlenmiştir.
- NeuMoDx BKV Quant Assay, heparinize insanlardan alınan örneklerle kullanılmamalıdır.
- BKV saptaması örnekte bulunan organizmaların sayısına bağlı olduğundan güvenilir sonuçlar alınması, doğru numune toplama, kullanımı ve saklamaya bağlıdır.
- Kalibratörler ve harici kontroller, prospektüste önerildiği şekilde ve rutin klinik örnekler işlenmeden önce NeuMoDx™ System yazılımı tarafından istenmesi halinde işlenmelidir.
- Uygun olmayan numune toplama, kullanımı, saklama, teknik hata veya numune tüplerinde karışıklık olması sonucu hatalı sonuçlar elde edilebilir. Bunlara ek olarak, örnekteki viral partiküllerin sayısı NeuMoDx™ BKV Quant Assay'in saptama limitinin altında olduğu için yanlış negatif sonuçlar elde edilebilir.
- NeuMoDx™ System'ın kullanımı, NeuMoDx™ System kullanımı konusunda eğitim almış personelle sınırlandırılmıştır.
- Hem BKV hedefinin hem de SPC1 hedefinin amplifiye olmaması durumunda geçersiz bir sonuç (Indeterminate (Şüpheli), No Result (Sonuç Yok) veya Unresolved (Çözümlememiş)) raporlanır ve testin tekrarlanması gerekir.
- NeuMoDx™ BKV Quant Assay sonucu Positive (Pozitif) ancak kantitasyon değeri kantitasyon limitlerinin ötesindeyse NeuMoDx™ System, saptanan BKV'nin Alt Kantitasyon Limitinin (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) altında mı yoksa Üst Kantitasyon Limitinin (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) üstünde mi olduğunu raporlar.
- Saptanan BKV'nin LLoQ'nun altında olması durumunda NeuMoDx™ BKV Quant Assay, numunenin başka bir alikotu ile (istenirse) tekrarlanabilir.
- Saptanan BKV'nin ULoQ'nun üstünde olması durumunda NeuMoDx™ BKV Quant Assay, orijinal numunenin seyreltilmiş bir alikotu ile tekrarlanabilir. BKV negatif plazmanın veya BaseMatrix 53 Diluent'in (BaseMatrix) (SeraCare, Milford, MA) 1:100 oranında bir dilüsyonu önerilir. Orijinal numunenin konsantrasyonu aşağıdaki şekilde hesaplanabilir:
$$\text{Orijinal numune konsantrasyonu} = \log_{10}(\text{seyreltme faktörü}) + \text{seyreltilmiş örneğin raporlanan konsantrasyonu.}$$
- PCR inhibitörlerinin zaman zaman plazma/serumda veya idrarda bulunması, bir sistem Kantitasyon Hatasına yol açabilir. Böyle bir durumda, testin, 1:10 veya 1:100 Basematrix'te seyreltilmiş aynı numune ile tekrarlanması önerilir.
- Pozitif bir sonuç, her zaman canlı organizmaların varlığına işaret etmez. Bununla birlikte pozitif bir sonuç, BKV DNA'sı varlığının olası olduğu anlamına gelir.
- NeuMoDx™ BKV Quant Assay tarafından hedeflenen korunmuş bölgelerdeki silinme veya mutasyonlar, saptamayı etkileyebilir veya NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip kullanılırken hatalı bir sonuca yol açabilir.
- NeuMoDx™ BKV Quant Assay'den elde edilen sonuçlar, klinik gözlemler ve doktorun ulaşabildiği diğer bilgilere ek olarak kullanılmalıdır. Test, enfeksiyon tanısı koyma amacı taşımamaktadır.
- Kontaminasyonu önlemek için hasta numuneleriyle yapılan çalışmalar arasında eldiven değiştirmek gibi iyi laboratuvar uygulamaları önerilir.

SONUÇLARI İŞLEME

Mevcut sonuçlar, NeuMoDx™ System dokunmatik ekranında bulunan Results (Sonuçlar) penceresindeki "Results" (Sonuçlar) sekmesinden görüntülenebilir veya yazdırılabilir.

NeuMoDx™ BKV Quant Assay sonuçları NeuMoDx™ System yazılımı tarafından, NeuMoDx™ BKV Tahlil Tanımlama Dosyasında (Assay Definition File, ADF) belirtilen karar algoritması ve sonuç işleme parametreleri kullanılarak otomatik olarak oluşturulur. NeuMoDx™ BKV Quant Assay sonucu, hedefin ve örnek işleme kontrolünün amplifikasyon durumuna dayalı olarak Negative (Negatif), Raporlanan BKV konsantrasyonu ile Positive (Pozitif), ULoQ'nun üzerinde Positive (Pozitif), LLoQ'nun altında Positive (Pozitif), Indeterminate (Şüpheli) (IND), Unresolved (Çözümlememiş) (UNR) veya No Result (Sonuç Yok) (NR) olarak raporlanabilir. Sonuçlar, aşağıda *Tablo 1* içinde özetlenen karar algoritmasına dayalı olarak raporlanır.

Tablo 1: NeuMoDx BKV Quant Assay Karar Algoritmasının Özeti

Sonuç	BKV	Örnek İşleme Kontrolü (SPC1)	Sonucun Yorumlanması
Raporlanan Konsantrasyonla Birlikte Pozitif (Pozitif)	Amplified (Amplifiye) 1,3 ≤[BKV] ≤8,0 log ₁₀ IU/mL (550 µL İş Akışı)* 2,3 ≤[BKV] ≤8,0 log ₁₀ IU/mL (100 µL İş Akışı)*	Amplified (Amplifiye) veya Not Amplified (Amplifiye Değil)	Kantitatif aralık içinde BKV DNA'sı saptandı
Positive (Pozitif), Üst Kantitasyon Limitinin [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] üzerinde	Amplified (Amplifiye) [BKV] >8,0 log ₁₀ IU/mL	Amplified (Amplifiye) veya Not Amplified (Amplifiye Değil)	Kantitatif aralığın üzerinde BKV DNA'sı saptandı
Positive (Pozitif), Alt Kantitasyon Limitinin [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] altında	Amplified (Amplifiye) [BKV] <1,3 log ₁₀ IU/mL (550 µL İş Akışı)* [BKV] <2,3 log ₁₀ IU/mL (100 µL İş Akışı)*	Amplified (Amplifiye) veya Not Amplified (Amplifiye Değil)	Kantitatif aralığın altında BKV DNA'sı saptandı
Negative (Negatif)	Not Amplified (Amplifiye Değil)	Amplified (Amplifiye)	BKV DNA'sı saptanmadı
Indeterminate (Şüpheli)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Amplifiye Değil, Sistem Hatası Saptandı, Örnek İşleme Tamamlandı)		Tüm hedef sonuçları geçersiz; örneği yeniden test edin†
No Result (Sonuç Yok)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Amplifiye Değil, Sistem Hatası Saptandı, Örnek İşleme İptal Edildi)		Örnek işleme iptal edildi; örneği yeniden test edin†
Unresolved (Çözümlememiş)	Not Amplified, No System Error Detected (Amplifiye Değil, Sistem Hatası Saptanmadı)		Tüm hedef sonuçları geçersiz; örneği yeniden test edin†

*550 µL İş Akışı, Plazma/Serum ve İdrar numuneleriyle kullanılır. 100 µL İş Akışı, yalnızca Plazma/Serum numuneleriyle kullanılır.

†NeuMoDx System, son kullanıcının, sonuç raporlamasındaki gecikmeleri en az indirmek için bir IND/NR/UNR sonucunun otomatik olarak yeniden işleneceğinden emin olmak üzere seçebileceği, otomatik Rerun (Tekrar Çalıştırma)/Repeat (Tekrarlama) özelliğine sahiptir.

Test Hesaplaması

- NeuMoDx™ BKV Quant Assay'in Kantitasyon aralığında olan örnekler söz konusu olduğunda, örneklerdeki BKV DNA'sı konsantrasyonu, saklanan standart eğri kalibrasyon katsayısıyla ve numune hacmiyle birlikte kullanılarak hesaplanır.
 - Belirli bir NeuMoDx™ System'da belirli bir NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip lotu için Standart Eğri geçerliliğini belirlemek üzere işlenen NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit'in sonuçlarına dayalı olarak bir "kalibratör sayısı" hesaplanır.
 - Kalibrasyon katsayısı, BKV DNA'sı konsantrasyonunun nihai tayini için kullanılır.
 - NeuMoDx Yazılımı, numune mL'si başına BKV DNA'sı konsantrasyonunu belirlerken numune giriş hacmini hesaba katar.
- NeuMoDx™ BKV Quant Assay sonuçları log₁₀ IU/mL cinsinden raporlanır.
- Bilinmeyen örneklerin nihai kantitasyonu, BK virüsüne (BKV) yönelik 1. WHO Uluslararası Standardına (14/212) göre izlenebilirdir⁹.

Test Kalibrasyonu

Numunelerdeki BKV DNA'sı miktarını belirlemek için Standart Eğriye dayalı olan geçerli bir kalibrasyon gereklidir. Geçerli sonuçlar elde etmek için NeuMoDx™ Molecular, Inc. tarafından sağlanan kalibratörler kullanılarak bir test kalibrasyonu tamamlanmalıdır.

Kalibratörler

1. NeuMoDx™ BKV Calibrator'lar bir kit içinde sağlanır (REF 800600) ve sentetik BKV DNA'sının kurutulmuş bir peletinden oluşur.
2. NeuMoDx™ System'a yeni bir BKV Tahlil Tanımlama Dosyası yüklenmişse, mevcut kalibratör setinin geçerlilik süresi (mevcut durumda 90 güne ayarlıdır) dolmuşsa veya NeuMoDx™ System yazılımı üzerinde değişiklik yapılmışsa her yeni NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip lotu ile birlikte bir BKV kalibratör setinin işlenmesi gerekir.
3. NeuMoDx™ System yazılımı, kullanıcıyı, kalibratörlerin ne zaman işlenmesi gerektiğine dair uyarır. Kalibratörler başarılı bir şekilde işlenene kadar yeni bir test şeridi lotu test için kullanılamaz.
4. Yeni bir BKV kalibratör setinin işlenmesi gerekiyorsa testi gerçekleştirmeden önce NeuMoDx™ BKV Calibrator Kit prospektüsünde bulunan tüm talimatları okuyun.
5. Kalibrasyon geçerliliği aşağıdaki şekilde belirlenir:
 - a) Geçerliliği belirlemek için yüksek ve düşük olmak üzere iki kalibratörlük bir set işlenmelidir.
 - b) Geçerli sonuçlar elde etmek için 3 tekrarın en az 2'sinden, ön tanımlı parametreler dahilinde sonuçlar elde edilmelidir. Düşük kalibratör nominal hedefi 3 log₁₀ IU/mL, yüksek kalibratör nominal hedefi ise 5 log₁₀ IU/mL'dir.
 - c) Kalibrasyon katsayısı, test şeridi lotları arasında beklenen farklılığı dikkate alacak şekilde hesaplanır. Bu kalibrasyon katsayısı, nihai BKV konsantrasyonunun belirlenmesinde kullanılır.
6. Bir veya her iki kalibratörün geçerlilik kontrolünde başarısız olması durumunda başarısız kalibratörlerin işlenmesini, yeni bir şişe kullanarak tekrarlayın. Kalibratörlerden birisinin geçerlilik kontrolünde başarısız olması halinde sistem kullanıcının her iki kalibratörü de tekrar çalıştırmasını gerektirmediği için yalnızca başarısız olan kalibratörün tekrarlanması mümkündür.

Kalite Kontrol

Yerel yönetmelikler tipik olarak, analitik işlemin tamamının doğruluğunu ve kesinliğini izleyen kontrol prosedürlerinden laboratuvarın sorumlu olduğunu ve üzerinde değişiklik yapılmamış, onaylı bir test sistemine yönelik doğrulanmış performans özellikleri kullanılarak kontrol materyallerinin sayısı, türü ve sıklığının laboratuvar tarafından belirlenmesi gerektiğini belirtir.

Harici Kontroller

1. BKV Harici Kontrolleri, BKV External Control Kit (REF900601) içinde NeuMoDx Molecular, Inc. tarafından sağlanır. Pozitif kontroller sentetik BKV DNA'sının kurutulmuş bir peletini içerir.
2. Pozitif ve negatif harici kontrollerin, 24 saatte bir kez işlenmesi gerekir. Geçerli bir harici kontrol seti mevcut değilse NeuMoDx™ System yazılımı, kullanıcıdan, örnek sonuçlarının raporlanabilmesi için bu kontrollerin işlenmesini ister.
3. Harici kontroller gerekiyorsa testi gerçekleştirmeden önce, pozitif ve negatif kontrolleri NeuMoDx BKV External Control Kit prospektüsünde belirtildiği şekilde hazırlayın.
4. Dokunmatik ekranı kullanarak ve Otomatik Yükleyici rafına bir Numune Tüpü Taşıyıcısı yerleştirilmiş olarak, pozitif ve negatif kontrol şişelerini NeuMoDx™ System'a yükleyin. NeuMoDx™ System, barkodu tanıyarak ve test için gerekli olan reaktiflerin veya sarf malzemelerinin bulunmaması söz konusu değilse numune tüplerini işlemeye başlar.
5. Harici kontrollerin geçerliliği, beklenen sonuca dayalı olarak NeuMoDx™ System tarafından değerlendirilir. Pozitif kontrol, BKV Positive (Pozitif) bir sonuç, negatif kontrol ise BKV Negative (Negatif) bir sonuç vermelidir.
6. Harici kontroller için tutarsız sonuçlar aşağıdaki şekilde ele alınmalıdır:
 - a) Negatif kontrol örneği için Positive (Pozitif) test sonucu raporlanması, numune kontaminasyon sorununa işaret eder.
 - b) Pozitif kontrol örneği için Negative (Negatif) test sonucu raporlanması, reaktif veya cihaz ile ilgili bir sorun olduğuna işaret eder.
 - c) Yukarıdaki durumların herhangi birinde veya Indeterminate (Şüpheli) (IND) bir sonuç ya da No Result (Sonuç Yok) (NR) durumunda, başarısız NeuMoDx™ BKV External Control'leri geçerlilik testinde başarısız olan kontrollerin bulunduğu yeni bir şişeye tekrarlayın.
 - d) Pozitif NeuMoDx™ BKV External Control, Negative (Negatif) sonuç raporlamaya devam ederse NeuMoDx™ müşteri hizmetleri ile iletişime geçin.
 - e) Negatif NeuMoDx™ BKV External Control, Positive (Pozitif) sonuç raporlamaya devam ederse NeuMoDx™ müşteri hizmetleri ile iletişime geçmeden önce önce, TÜM reaktifleri değiştirmek de dahil olmak üzere, tüm olası kontaminasyon kaynaklarını ortadan kaldırmayı deneyin.

Örnek İşleme (Dahili) Kontrolleri

Eksojen bir Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC1), NeuMoDx™ Extraction Plate'e dahil edilir ve her bir örnekle, tüm nükleik asit ekstraksiyonu ve gerçek zamanlı PCR amplifikasyonu işleminden geçer. SPC1'e özgü primerler ve probalar da her bir NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'e eklenerek, multipleks gerçek zamanlı PCR aracılığıyla, hedef BKV DNA'sı (varsa) ile SPC1'in varlığının saptanmasını sağlar. SPC1 amplifikasyonunun saptanması, NeuMoDx™ System yazılımının DNA ekstraksiyonunun ve PCR amplifikasyon işlemlerinin etkililiğini izlemesini sağlar.

Geçersiz Sonuçlar

NeuMoDx™ System üzerinde gerçekleştirilen bir NeuMoDx™ BKV Quant Assay'in geçerli bir sonuç üretmemesi durumunda, meydana gelen hatanın türüne dayalı olarak Indeterminate (IND) (Şüpheli), No Result (NR) (Sonuç Yok) veya Unresolved (UNR) (Çözülmemiş) sonucu raporlanır.

Örnek işleme sırasında bir NeuMoDx™ System hatası saptanırsa IND sonucu raporlanır. IND sonucunun raporlanması durumunda tekrar test yapılması önerilir.

UNR sonucu, BKV DNA'sı veya SPC1'in geçerli bir amplifikasyonu saptanmışsa raporlanır. Bu durum, olası bir reaktif hatasına veya inhibitörlerin varlığına işaret eder. UNR sonucunun raporlanması durumunda ilk adım olarak tekrar test yapılır. Yeniden yapılan test başarısız olursa örnek inhibisyonunun etkilerini hafifletmek için seyreltilmiş bir numune kullanılabilir.

NeuMoDx System üzerinde gerçekleştirilen bir NeuMoDx BKV Quant Assay geçerli bir sonuç üretmezse ve örnek işleme tamamlanmadan önce iptal edilirse bu durum No Result (NR) (Sonuç Yok) olarak raporlanır. NR raporlanması durumunda yeniden test yapılması önerilir.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Analitik Duyarlılık – Saptama Limiti¹²

NeuMoDx™ BKV Quant Assay'in Analitik Duyarlılığı, BKV negatif plazma/serum ve idrar örneklerinde, NeuMoDx System'larda Saptama Limitini (Limit of Detection, LoD) belirleme amacıyla, BK virüsüne (BKV) yönelik 1. WHO Uluslararası Standardına (14/212)⁹ göre kalibre edilmiş EDX BKV Verification Panel'in (Exact Diagnostics) bir dilüsyon serisi test edilerek karakterize edilmiştir. Plazma/serum (550 µL) ve idrar için LoD, %95 Güven Aralığı (Confidence Interval, CI) ile Probit stili analizle belirlenmiş konsantrasyonun üzerinde olan, deneysel olarak belirlenen en yakın hedef seviyesi olarak tanımlanmıştır. Plazma/serum (100 µL) için, doğruluk oranı analiziyle 200 IU/mL'lik tekli bir örnek konsantrasyonu araştırılmış ve saptama oranı %95'in üzerindeyse LoD için doğrulanmıştır. Çalışma 3 gün boyunca, birden fazla sistemde, birden fazla NeuMoDx™ reaktif lotu ile gerçekleştirilmiştir. Her bir sistem, her dilüsyon seviyesinde 42 tekrarı (pozitif örnekler) işlemiş ve negatif örnekler için günde 8 tekrar işlemiştir. Saptama oranları *Tablo 2 ve 3* içinde gösterilmektedir.

Tablo 2: NeuMoDx BKV Quant Assay'in LoD Tayini İçin Pozitif Saptama Oranları (Plazma/Serum 550 µL ve İdrar)

Hedef Konsantrasyon [IU/mL]	Hedef Konsantrasyon [log ₁₀ IU/mL]	PLAZMA/SERUM 550 µL İş Akışı			İDRAR		
		Geçerli Testlerin Sayısı	Pozitiflerin Sayısı	Saptama Oranı	Geçerli Testlerin Sayısı	Pozitiflerin Sayısı	Saptama Oranı
50	1,70	41	41	%100	41	41	%100
20	1,30	42	42	%100	40	39	%98
10	1,00	41	35	%85	41	31	%76
5	0,30	41	16	%39	41	12	%29
NEG	0,00	20	0	%0	24	0	%0

Tablo 3: NeuMoDx BKV Quant Assay'in LoD Tayini İçin Pozitif Saptama Oranları (Plazma/Serum 100 µL)

Hedef Konsantrasyon [IU/mL]	Hedef Konsantrasyon [log ₁₀ IU/mL]	PLAZMA/SERUM 100 µL İş Akışı		
		Geçerli Testlerin Sayısı	Pozitiflerin Sayısı	Saptama Oranı
200	2,30	89	88	99%

NeuMoDx™ BKV Quant Assay'in plazma/serumdaki (550 µL iş akışı) LoD'si 11,03'lük %95 Güven Aralığı (Confidence Interval, CI) ile 20 IU/mL (1,3 log₁₀ IU/mL) olarak belirlenmiştir; idrardaki LoD, 13,09'lük %95 Güven Aralığı (Confidence Interval, CI) ile 20,0 IU/mL (1,3 log₁₀ IU/mL) olarak belirlenmiştir; plazma/serumdaki (100 µL iş akışı) LoD 200 IU/mL (2,3 log₁₀ IU/mL) olarak belirlenmiştir.

Analytical Duyarlılık – Alt Kantitasyon Limiti (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ve Üst Kantitasyon Limiti (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)¹²

Alt Kantitasyon Limiti (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ve Üst Kantitasyon Limiti (Upper Limit of Quantitation, ULoQ), >%95 saptama oranına ulaşılan VE TAE'nin ≤1,0 olduğu en düşük ve en yüksek hedef seviyesi olarak tanımlanır. LLoQ ve ULoQ'yu belirlemek üzere, >%95 saptama raporladığı gösterilen her bir BKV hedef seviyesi için toplam analitik hata (Total Analytical Error, TAE) hesaplanmıştır. TAE aşağıdaki şekilde tanımlanır:

$$TAE = \text{yanlılık} + 2 * SD \text{ [Westgard İstatistiği]}$$

Yanlılık, hesaplanan konsantrasyon ile beklenen konsantrasyonun ortalaması arasındaki farkın mutlak değeridir. SD, örneğin belirlenen miktar değerinin standart sapmasıdır.

LLoQ/ULoQ çalışmasında kullanılan BKV plazma/serum veya idrar numunelerinin 5 seviyesine ait derlenmiş sonuçlar *Tablo 4 ve 5* içinde gösterilmektedir. Bu veri setine ve önceden belirlenen LoD'ye dayalı olarak LLoQ ve ULoQ, sırasıyla Plazma/Serum 550 µL ve İdrar için 20 IU/mL (1,3 log₁₀ IU/mL) ve 7,58x10⁷ IU/mL (burada 8 log₁₀ IU/mL'ye yuvarlanmıştır) ve Plazma/Serum 100 µL için 200 IU/mL (2,3 log₁₀ IU/mL) olarak belirlenmiştir.

Tablo 4: NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip ULoQ ve LLoQ, Yanlılık ve TAE ile (Plazma/Serum 550 µL ve İdrar)

Hedef Kons. [IU/mL]	Hedef Kons. [log ₁₀ IU/mL]	Plazma/Serum 550 µL					İdrar				
		Ortalama Kons. [log ₁₀ IU/mL]	Saptama (%)	SD	Yanlılık	TAE	Ortalama Kons. [log ₁₀ IU/mL]	Saptama (%)	SD	Yanlılık	TAE
7,58x10 ⁷	8	8	100	0,09	0,05	0,23	8	100	0,09	0,10	0,29
50	1,70	1,80	100	0,18	0,10	0,46	1,84	100	0,22	0,14	0,59
20	1,30	1,56	100	0,25	0,26	0,76	1,66	100	0,29	0,36	0,93
10	1,00	1,46	85	0,27	0,46	1,01	1,41	%85	0,41	0,41	1,22
5	0,30	1,27	39	0,48	0,97	1,92	1,31	%38	0,52	1,01	2,04

Tablo 5: NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip ULoQ ve LLoQ, Yanlılık ve TAE ile (Plazma/Serum 100 µL)

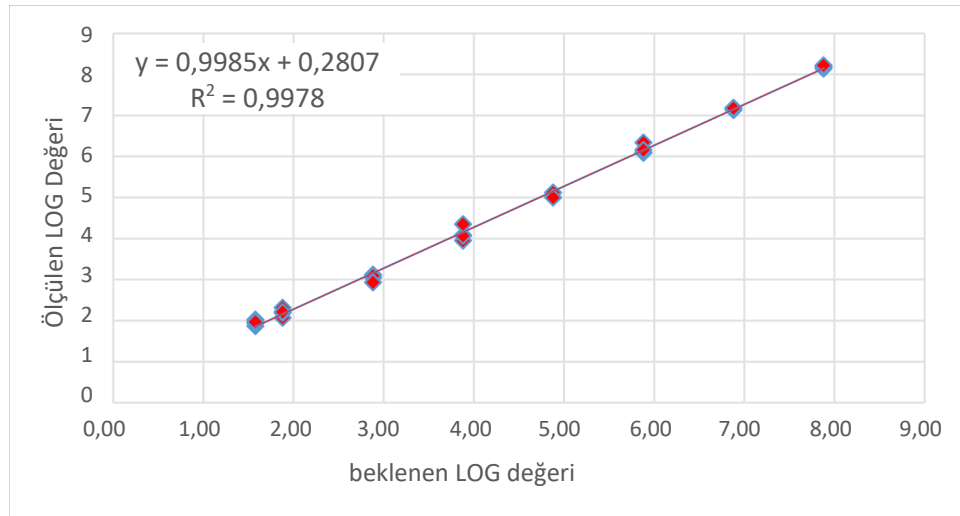
Hedef Kons. [IU/mL]	Hedef Kons. [log ₁₀ IU/mL]	Plazma/Serum 100 µL				
		Ortalama Kons. [log ₁₀ IU/mL]	Saptama (%)	SD	Yanlılık	TAE
7,58x10 ⁷	8	8	100	0,09	0,07	0,25
200	2,30	2,30	99	0,39	0,003	0,78

Bu çalışmaların sonucuna dayalı olarak, NeuMoDx™ BKV Quant Assay'in LoD ve LLoQ değerlerinin her ikisi de, 550 µL iş akışıyla plazma/serum ve idrar için 20 IU/mL (1,3 log₁₀ IU/mL) olarak ve 100 µL iş akışı kullanıldığında plazma/serum için 200 IU/mL (2,30 log₁₀ IU/mL) olarak belirlenmiştir. Tüm numune tipleri için ULoQ 7,58x10⁷ IU/mL'dir (8 log₁₀ IU/mL).

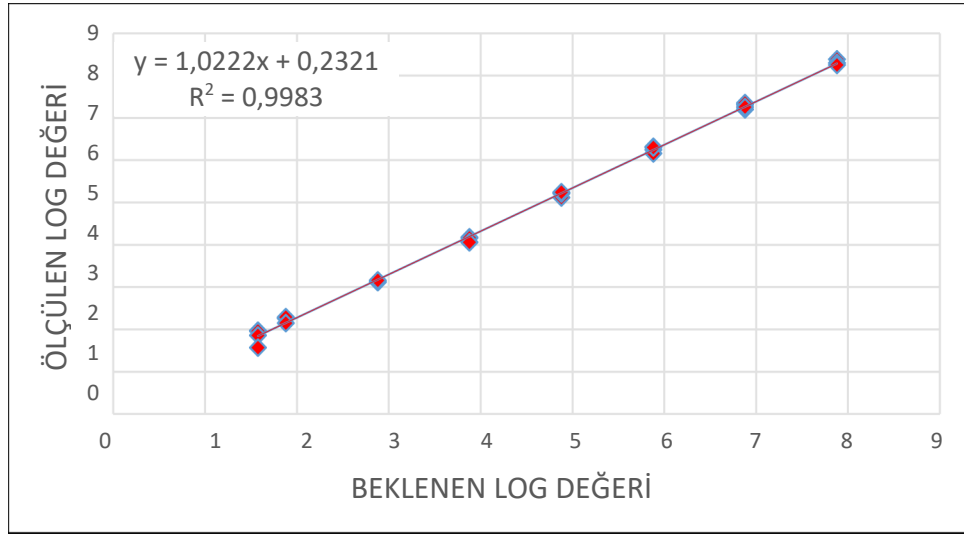
Doğrusallık¹³

NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'in doğrusallığı, BK virüsüne (BKV) yönelik 1. WHO Uluslararası Standardına (14/212)⁹ göre kanıtlanmış izlenebilirliğe sahip BKV Synthetic Plasmid (Integrated DNA Technologies) kullanılarak bir dilüsyon serisi hazırlamak suretiyle plazma/serum ve idrarda belirlenmiştir. BKV negatif BaseMatrix 53 içinde hazırlanan veya BKV negatif insan idrarında hazırlanan BKV Synthetic Plasmid'in 11 seri dilüsyonu, plazma/serum 550 µL ve idrar için 7,88-1,58 log₁₀ IU/mL konsantrasyon aralığını ve plazma/serum 100 µL için 6,88-2,88 log₁₀ IU/mL konsantrasyon aralığını kapsayacak şekilde oluşturulmuştur.

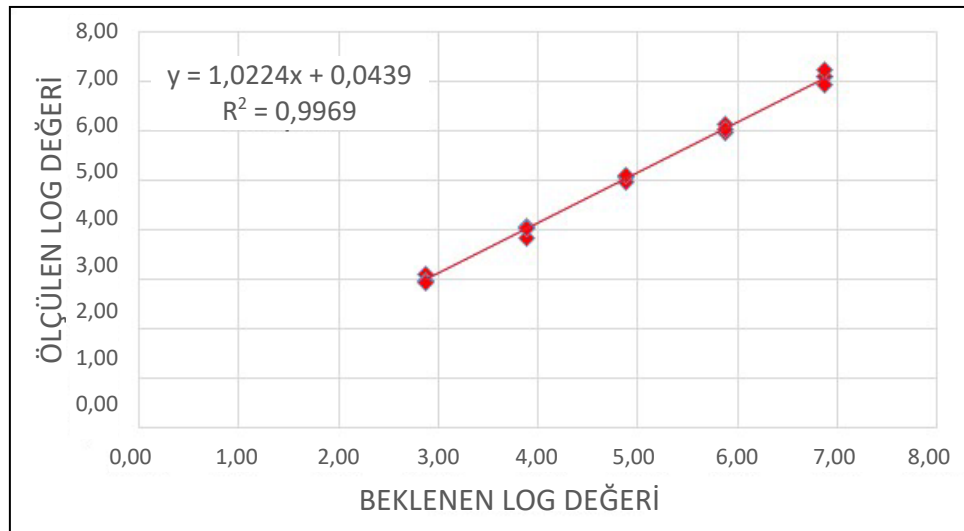
NeuMoDx™ System tarafından raporlanan BKV tayini konsantrasyonları, beklenen değerler ile karşılaştırmalı olarak Şekil Şekil 2, 3 ve 4 içinde sunulmaktadır.



Şekil 2: NeuMoDx™ BKV Quant Assay'in plazma /serum için doğrusallığı (550 µL İş Akışı)



Şekil 3: NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'in idrar numuneleri için doğrusalılığı



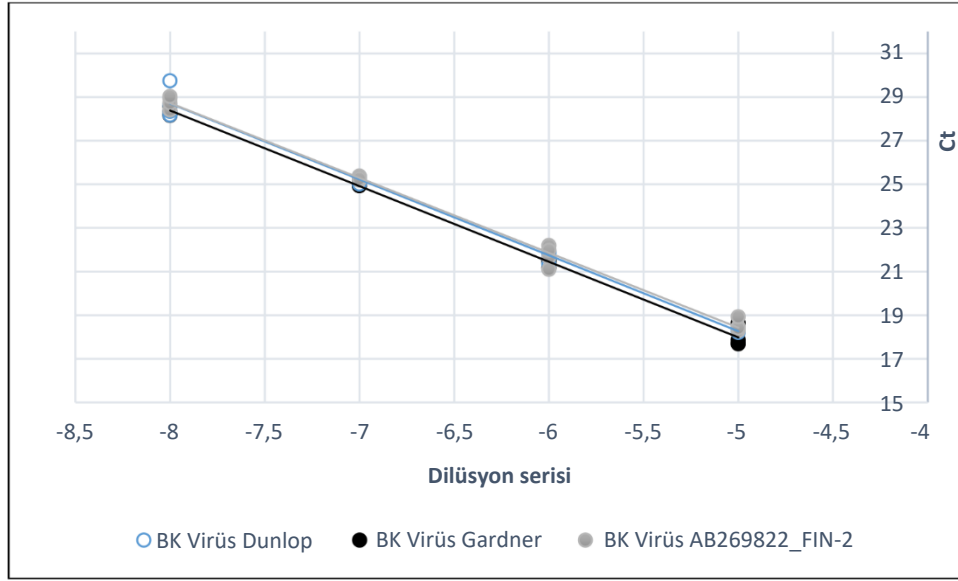
Şekil 4: NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'in plazma /serum için doğrusalılığı (100 µL İş Akışı)

Genotipler Arası Doğrusallık¹⁶

NeuMoDx BKV Quant Assay'in üç BKV genotipi (BK Virüs Dunlop, BK Virüs Gardner, BK Virüs AB269822_FIN-2) arasındaki doğrusalılığı, BKV'nin BKV negatif BaseMatrix 53 içinde hazırlanan her bir genotipinin dört farklı konsantrasyonu test edilerek karakterize edilmiştir. BK Virüs S72390 genotipi, NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'in kapsadığı gen hedefi bölgesindeki polimorfizmleri sergilemez. Çalışma, 3 genotipten her birinin 4 tekrarının 6 konsantrasyonda (10 katlı dilüsyon serisi) test edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Üç BKV genotipi arasındaki doğrusalılık *Tablo 6* ve *Şekil 5* içinde sunulmaktadır.

Tablo 6: NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'in Genotipler arası doğrusalılığı

Genotip	Doğrusallık Denklemi y = NeuMoDx BKV Assay Ct x = Dilüsyon serisi	R ²
BK Virüs Dunlop	y = -3,4808x + 0,8595	0,9926
BK Virüs Gardner	y = -3,4682x + 0,6395	0,9959
BK Virüs AB269822_FIN-2	y = -3,432x + 1,2683	0,9947



Şekil 5: NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'in Genotipleri Arası Doğrusallığı

Analitik Özgüllük – Çapraz Reaktivite ^{10,11}

Analitik özgüllük, plazma/serum veya idrar numunelerinde sıklıkla bulunan 22 organizmanın yanı sıra, BKV'ye evrimsel olarak benzeyen türler çapraz reaktivite bakımından taranarak gösterilmiştir. Organizmalar, 5-6 organizmalık havuzlarda hazırlanmış ve yüksek konsantrasyonda test edilmiştir. Test edilen organizmalar *Tablo 7* içinde gösterilmektedir. Test edilen hiçbir organizmada, NeuMoDx™ BKV Quant Assay'in %100 analitik özgüllüğünü doğrulayan hiçbir çapraz reaktivite gözlemlenmemiştir.

Tablo 7: Analitik Özgüllüğü Göstermek İçin Kullanılan Patojenler

Hedef Dışı Organizmalar					
HTLV-1/2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Hepatit B Virüsü	Adenovirüs tip 5	Epstein-Barr Virüsü	Varicella-Zoster Virüsü	Hepatit C Virüsü
Herpes Simplex Virüsü tip 1	Herpes Simplex Virüsü tip 2	İnsan Herpes Virüsü tip 6	İnsan Herpes Virüsü tip 7	İnsan Herpes Virüsü tip 8	İnsan İmmünyetmezlik Virüsü -1
İnsan İmmünyetmezlik Virüsü-2	JC Virüsü	SV40	<i>Sitomegalovirüs</i>		

Analitik Özgüllük – Olumsuz Etkileyen Maddeler, Komensal Organizmalar ^{10,11}

NeuMoDx™ BKV Quant Assay, yukarıda *Tablo 7* içinde listelenen, çapraz reaktivite testi için hazırlanan aynı organizma havuzları kullanılarak, hedef dışı organizmaların varlığında olumsuz etkileşim bakımından değerlendirilmiştir. Negatif BKV plazmasına, 5-6'lı gruplar halinde havuzda birleştirilen organizmalar ve ayrıca, 4 log₁₀ IU/mL konsantrasyonda BKV hedefi eklenmiştir. Olumsuz etkileyen ajan içermeyen kontrol numunelerinden minimum kantitasyon sapması ile de gösterildiği şekilde, bu komensal organizmaların varlığında önemli ölçüde bir olumsuz etkileşim gözlemlenmemiştir.

Analitik Özgüllük – Olumsuz Etkileyen Maddeler, Endojen ve Eksojen Maddeler ^{10,11}

NeuMoDx™ BKV Quant Assay, BKV klinik plazma/serum veya idrar numunelerinde karşılaşılan tipik eksojen ve endojen olumsuz etkileyen maddelerin varlığında değerlendirilmiştir. Bunlara, anormal ölçüde yüksek seviyede kan veya idrar bileşenlerinin yanı sıra, *Tablo 8* içinde sınıflandırılan yaygın antiviral ilaçlar da dahildir. Her madde, 3 log₁₀ IU/mL BKV eklenmiş taranmış BKV negatif BaseMatrix 53 veya insan idrarına eklenmiş ve örnekler olumsuz etkileşim bakımından analiz edilmiştir. Test edilen tüm maddelerin ortalama konsantrasyonu ve yanlılığı, aynı seviyede BKV eklenen kontrol örnekleriyle karşılaştırmalı olarak *Tablo 9* içinde raporlanmıştır. Eksojen ve endojen maddelerden hiçbiri, NeuMoDx™ BKV Quant Assay'in özgüllüğünü etkilememiştir.

Tablo 8: Etkileşim Testi - Eksojen Ajanlar (ilaç Sınıflandırmaları)

Havuz	İlaç adı	Sınıflandırma
Havuz 1	Valgansiklovir	ANTİVİRAL
	Prednizon	İMMÜNOSÜPRESİF
	Sidofovir	ANTİVİRAL
	Sefotaksim	ANTİBİYOTİK
	Mikofenolat mofetil	İMMÜNOSÜPRESİF
Havuz 2	Vankomisin	ANTİBİYOTİK
	Takrolimus	İMMÜNOSÜPRESİF
	Famotidin	HİSTAMİN ANTAGONİSTİ
	Valasiklovir	ANTİVİRAL
	Leflunomid	İMMÜNOSÜPRESİF

Tablo 9: Etkileşim Testi - Eksojen ve Endojen Ajanlar

Endojen (Plazma/Serum)	Ortalama Kons.	Yanlılık
	log ₁₀ IU/mL	log ₁₀ IU/mL
Trigliserit 500 mg/dL	3,09	0,16
Konjuge bilirubin (0,25 g/L)	3,09	0,16
Unkonjuge bilirubin (0,25 g/L)	3,31	-0,06
Albümin (58,7 g/L)	3,12	0,13
Hemoglobin (2,9 g/L)	3,02	0,23
Endojen (İdrar)	Ortalama Kons.	Yanlılık
	log ₁₀ IU/mL	log ₁₀ IU/mL
Urobilirubin (>2 mg/dL)	3,74	-0,09
Glukoz (1000 mg/dL)	4,00	0,04
İdrar pH 4	3,75	0,29
İdrar pH 10	3,77	0,27
Lökositler (1E5 hücre/mL)	3,68	-0,06
Kan %7	3,42	-0,32
Protein (albümin >100 mg/dL)	3,96	0,08
Talk pudrası	3,92	0,12
Eksojen (İlaçlar)	Ortalama Kons.	Yanlılık
	log ₁₀ IU/mL	log ₁₀ IU/mL
Havuz 1: Valgansiklovir, Prednizon, Sidofovir, Sefotaksim, Mikofenolat mofetil	4,04	-0,06
Havuz 2: Vankomisin, Takrolimus, Famotidin, Valasiklovir, Leflunomid	4,07	-0,09

Tekrarlanabilirlik ve Laboratuvar İçi Hassasiyet¹⁴

NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'in hassasiyeti, 20 gün boyunca bir NeuMoDx™ 96 System kullanılarak, günde iki kez BKV plazmid ile hazırlanan BKV numunelerinden oluşan 5 üyeli bir panelin 2 tekrarı test edilerek belirlenmiştir. Çalışma içi ve gün içi hassasiyetler karakterize edilmiş ve genel standart sapmanın $\leq 0,30 \log_{10}$ IU/mL olduğu belirlenmiştir. Sistemler, günler ve çalışmalar arasında *Tablo 10* üzerinde gösterildiği gibi mükemmel hassasiyet ortaya koymuştur. Operatör, NeuMoDx™ System kullanılarak örnek işlemede önemli bir role sahip olmadığı için operatörler arası hassasiyet karakterize edilmemiştir.

Tablo 10: Laboratuvar İçi Hassasiyet – NeuMoDx System'larda NeuMoDx BKV Quant Assay

Örnek	Gün İçi SD (\log_{10} IU/mL)	Günler Arası SD (\log_{10} IU/mL)	Çalışma İçi SD (\log_{10} IU/mL)	Çalışmalar Arası SD (\log_{10} IU/mL)	Laboratuvar İçi SD (\log_{10} IU/mL)
Plazma/serum numunesi (giriş 550 µl)					
RISppHIGH	0,10	0,08	0,10	0,01	0,13
RISppMIDDLE	0,14	0,10	0,11	0,06	0,17
RISppMLOW	0,22	0,12	0,21	0,02	0,25
RISppLOW	0,21	0,03	0,18	0,10	0,21
RISppNEG	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
İdrar numunesi					
RISpuHIGH	0,16	0,10	0,11	0,12	0,20
RISpuMIDDLE	0,21	0,09	0,16	0,13	0,23
RISpuMLOW	0,14	0,12	0,13	0,02	0,18
RISpuLOW	0,29	0,05	0,25	0,13	0,30
RISpuNEG	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Lotlar Arası Yeniden Üretilirlik¹⁴

NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'in Lotlar Arası Yeniden Üretilirliği, NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'lerin üç farklı lotu kullanılarak belirlenmiştir. Bir NeuMoDx™ 96 Molecular System'da 3 ayrı çalışmada performansı değerlendirmek için BKV plazmid ile hazırlanan BKV'nin 5 üyeli bir paneli kullanılmıştır. Lotlar içi ve arası değişkenlik analiz edilmiş ve sonuçlar, lotlar arası mutlak kantifikasyon yanlılığı olarak *Tablo 11* içinde sunulmuştur. Maksimum genel yanlılık $0,27 \log_{10}$ IU/mL olmuştur. Tüm panel üyelerinin kantitasyonu tolerans spesifikasyonu dahilinde olduğundan, lotlar arasında eşdeğer performans ortaya konmuştur.

Tablo 11: Lotlar Arası Yeniden Üretilirlik - NeuMoDx BKV Quant Assay

Örnek	Lot.1 ve Lot.2 arasındaki mutlak yanlılık (\log_{10} IU/mL)	Lot.1 ve Lot.3 arasındaki mutlak yanlılık (\log_{10} IU/mL)	Lot.2 ve Lot.3 arasındaki mutlak yanlılık (\log_{10} IU/mL)
Plazma/Serum numunesi (550 µl)			
7 \log_{10} IU/mL	0,05	0,10	0,05
4 \log_{10} IU/mL	0,02	0,03	0,05
3 \log_{10} IU/mL	0,20	0,05	0,15
2 \log_{10} IU/mL	0,02	0,24	0,26
0 \log_{10} IU/mL	0,00	0,00	0,00
İdrar numunesi (550 µl)			
7 \log_{10} IU/mL	0,09	0,27	0,19
4 \log_{10} IU/mL	0,25	0,06	0,19
3 \log_{10} IU/mL	0,06	0,08	0,14
2 \log_{10} IU/mL	0,03	0,11	0,14
0 \log_{10} IU/mL	0,00	0,00	0,00

Cihazlar Arası Yeniden Üretilirlik¹⁴

NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip'in Cihazlar Arası Yeniden Üretilirliği, üç farklı sistem (iki NeuMoDx™ 288 Molecular System ve bir NeuMoDx™ 96 Molecular System) kullanılarak belirlenmiştir. BKV plazmid ile hazırlanan BKV'nin 5 üyeli bir paneli, performansı değerlendirmek için kullanılmıştır. Test, 5 gün boyunca sistemlerde paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Gün içi ve sistemler arası değişkenlik karakterize edilmiş ve genel standart sapmanın $\leq 0,30 \log_{10}$ IU/mL olduğu belirlenmiştir. Tüm panel üyelerinin kantitasyonundaki SD tolerans spesifikasyonu dahilinde olduğundan, sistemler arasında eşdeğer performans ortaya konmuştur (Tablo 12).

Tablo 12: Cihazlar Arası Yeniden Üretilirlik – NeuMoDx™ BKV Quant Test Strip

Örnek	Tekrarlanabilirlik SD (\log_{10} IU/mL)	Günler Arası SD (\log_{10} IU/mL)	Cihaz İçi SD (\log_{10} IU/mL)	Cihazlar Arası SD (\log_{10} IU/mL)	Tekrar Edilebilirlik SD (\log_{10} IU/mL)
Plazma/serum numunesi (giriş 550 µl)					
RISppHIGH	0,10	0,05	0,11	0,06	0,12
RISppMIDDLE	0,13	0,05	0,13	0,04	0,13
RISppMLOW	0,10	0,06	0,12	0,04	0,12
RISppLOW	0,12	0,05	0,13	0,04	0,13
RISppNEG	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
İdrar numunesi					
RISpuHIGH	0,11	0,05	0,12	0,06	0,14
RISpuMIDDLE	0,10	0,01	0,10	0,05	0,11
RISpuMLOW	0,09	0,04	0,10	0,07	0,12
RISpuLOW	0,15	0,02	0,15	0,05	0,16
RISpuNEG	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

REFERANSLAR

1. Ambalathingal R, Francis R S *et al.* 2017. BK Polyomavirus: Clinical Aspects, Immune Regulation, and Emerging Therapies. Clin Microbiol Rev 30(2):503-528.
2. Reploeg MD, Storch GA, Clifford DB. Bk virus: a clinical review. 2001 Clin Infect Dis. 15;33(2):191-202.
3. Navarro E, Serrano-Heras G *et al.* 2015. Real-time PCR Detection Chemistry. Clin Chim Acta.15;439:231-50.
4. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens, <https://www.osha.gov/lawsregs/regulations/standardnumber/1910/1910.1030>
5. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington, DC: US Government Printing Office, December 2009.
6. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
7. CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
8. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline—First Edition CLSI Document MM13-A. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005
9. Sheila Govind, Jason Hockley, Clare Morris, Neil Almond, Collaborative Study Group. 2019. The Development and Establishment of the 1st WHO BKV International Standard for Nucleic Acid Based Techniques. Biologicals; 60:75-84.
10. CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases. Approved Guideline – Third Edition. CLSI document MM03. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.
11. CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document MM06-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2010.
12. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2012.
13. CLSI. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline – First Edition. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2003.
14. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2014.
15. CLSI. Metrological Traceability and Its Implementation; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Report EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2006.

TİCARİ MARKALAR















NeuMoDx™, NeuMoDx Molecular, Inc. firmasının ticari markasıdır.

TaqMan®, Roche Molecular Systems, Inc. firmasının tescilli ticari markasıdır.

STAT-NAT®, SENTINEL CH. S.p.A. firmasının tescilli ticari markasıdır.

Bu belgede görülebilecek diğer tüm ürün isimleri, ticari markalar ve tescilli ticari markalar ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir.

SEMBOLLER

SEMBOL	ANLAMI
	Yalnızca reçete ile kullanılır
	Üretici
	Distribütör
	<i>In vitro</i> tanı amaçlı tıbbi cihaz
	Katalog numarası
	Parti kodu
	Kullanma talimatına bakın
	Dikkat, birlikte verilen belgelere başvurun
	Sıcaklık sınırlaması
	Kuru tutun
	Yeniden kullanmayın
	Işığa maruz bırakmayın
	<n> test için yeterli içerik
	Son kullanma tarihi



SENTINEL CH. S.p.A. firmasının tescilli ticari markasıdır.
Via Robert Koch, 2
20152 Milano, Italy

www.sentinel diagnostics.com



NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, USA

+1 888 301 NMDX (6639)
techsupport@neumodx.com

Vijilans raporlaması: www.neumodx.com/contact-us

Patent: www.neumodx.com/patents