

**REF** 201400 NeuMoDx™ CMV Quant Test Strip**R only**

DİKKAT: Yalnızca ABD İhracatı İçin

**IVD** NeuMoDx 288 ve NeuMoDx 96 Molecular System'lar ile *in vitro* tanı amaçlı kullanım içinProspektüs güncellemeleri için bakınız: [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)

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 CMV Quant Assay, CMV ile enfekte kişilerin gB1 ile gB4 CMV genotiplerinin bulunduğu insan plazma numunelerinden sitomegalovirüs (cytomegalovirus, CMV) DNA'sının kantitasyonuna yönelik olan, otomatik bir *in vitro* nükleik asit amplifikasyon testidir. NeuMoDx 288 Molecular System ve NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System'lar) üzerinde uygulanan NeuMoDx CMV Quant Assay, hedef nükleik asidi numuneden izole etme amaçlı otomatik DNA ekstraksiyonunu ve sitomegalovirüs genomundaki yüksek ölçüde korunmuş sekansları hedefleme amaçlı gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunu (PCR) içerir.

NeuMoDx CMV Quant Assay, sitomegalovirüs (CMV) DNA'sının taze ve dondurulmuş insan plazma numunelerinde, NeuMoDx 288 ve NeuMoDx 96 Molecular System'lar kullanılarak *in vitro* kantitasyonu için tasarlanmıştır. Bu tayin, CMV enfeksiyonunun klinik yönetimi ve izlenmesi için hastalık ilerlemesinin klinik tablosu ve diğer laboratuvar belirteçleri ile birlikte kullanıma yöneliktir. Tayin, kanda veya kan ürünlerinde CMV varlığının tespitine yönelik bir tarama testi olarak kullanıma yönelik değildir.

**ÖZET VE AÇIKLAMA**

Antikoagülasyon ajanı olarak EDTA veya ACD bulunduran steril kan toplama tüplerinde toplanan insan tam kanı, plazmanın hazırlanmasına kullanılabilir. Teste hazırlık amacıyla NeuMoDx System ile uyumlu numune tüpündeki plazma, işlemeye başlanması için özel bir numune tüpü taşıyıcı kullanılarak NeuMoDx System'a yüklenir. Her bir numune için plazma örneğinin 550 µL'lik bir alikotu NeuMoDx Lysis Buffer 1 ile karıştırılır ve NeuMoDx System, hedef nükleik asidi ekstrakte etmek, gerçek zamanlı PCR amplifikasyonu için izole DNA'yı hazırlamak ve mevcutsa amplifikasyon ürünlerini (yüksek ölçüde korunmuş bölgelerdeki CMV genomu hedefinin kısımları) amplifiye etmek ve saptamak için gerekli tüm adımları otomatik olarak gerçekleştirir. NeuMoDx CMV Quant Assay, ekstraksiyon ve amplifikasyon işlemine 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.

CMV, her yaşta insanı enfekte eden, insan herpes virüsü ailesine ait yaygın ve çift sarmallı bir DNA virüsüdür. 40 yaşına kadar nüfusun yarısından fazlasının CMV ile enfekte olmuş olacağı tahmin edilmektedir.<sup>1</sup> CMV, tükürük, idrar, kan, gözyaşı, meni ve anne sütü gibi vücut sıvıları yoluyla bulaşır. CMV ile enfekte olan bağışıklık sistemi sağlam kişiler genellikle belirti vermez ancak virüs ile enfeksiyon, bebeklerde bağışıklık sistemi zayıflamış kişilerde tehlikeli olabilir. Hamile kadınlar CMV'yi doğmamış çocuklarına bulaştırabilir ve diğer gelişimsel ve motor gecikmelerin yanı sıra işitme kaybına da yol açabilecek konjenital CMV'ye neden olabilirler. CMV; solid organ nakli hastaları, hematopoietik hücre nakli hastaları, HIV ile enfekte hastalar ve bağışıklık düzenleyici ilaç tedavisi gören hastalar gibi bağışıklığı kısıtlanmış hastalar bakımından önemli bir patojendir.<sup>2</sup> CMV viral yük izlemesi esas olarak pnömöni, gastrointestinal kanal hastalıkları, hepatit ve ensefalit dahil olmak üzere birçok morbiditeye neden olduğu ve organ reddi ve diğer fırsatçı enfeksiyonların olasılığını artırdığı bu bağışıklığı kısıtlanmış popülasyonlarda kullanılır.

CMV enfeksiyonunun tanısı, yalnızca nükleik asit testine (nucleic acid testing, NAT) dayalı değildir. NAT testi, CMV'nin erken yapısal düşük matriksi proteini için polimeronükleer lökositlerin (PMN'ler) boyanmasını içeren antijen testine ve hastada görülebilecek diğer semptomlara ek olarak kullanılır. CMV viral yük testi, antiviral tedavinin ne zaman gerekli olacağını belirlemek ve bu tür tedavilerin etkinliğini izlemek için rutin olarak kullanılır.<sup>3</sup> Bağışıklığı kısıtlanmış kişilerde CMV enfeksiyonlarının yönetimi ve tedavisine ilişkin mevcut yönergeler antiviral tedaviye *ne zaman* başlanacağı konusunda belirsiz olsa da, bu yönergelerin tümü, bu tür popülasyonlarda ilaçların şiddetli yan etkilerini hafifletmede yardımcı olarak antiviral tedavi başlatıldıktan sonra sürekli viral yük izlemesini gerektirir.

**PROSEDÜR PRENSİPLERİ**

NeuMoDx System üzerindeki NeuMoDx CMV Quant Assay, analizi gerçekleştirmek için NeuMoDx CMV Quant Test Strip, NeuMoDx CMV Calibrator'lar, NeuMoDx CMV External Control'lar, NeuMoDx Lysis Buffer 1 ve NeuMoDx genel kullanım reaktiflerini kullanır. NeuMoDx CMV Quant Assay, gerçek zamanlı PCR ile otomatik DNA ekstraksiyonu, amplifikasyonu ve saptamasını bir araya getirir. Tam kan numuneleri, plazma için hazırlık amacıyla EDTA veya ACD tüplerinde toplanır. NeuMoDx System ile uyumlu bir numune tüpündeki plazma numunesi, işleme amacıyla NeuMoDx System'a yüklenecek olan bir Numune Tüpü Taşıyıcısına 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 elüsyonunun yapıldığı NeuMoDx Cartridge'e yüklenir. NeuMoDx System'lar daha sonra, CMV'ye özgü hedeflerin ve SPC1 hedeflerinin PCR amplifikasyonu için gerekli olan tüm öğeleri içeren tescilli NeuDry™ amplifikasyon reaktiflerini rehilde etmek için elüsyonu yapılan DNA'yı kullanır. NeuDry 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 bölmesi alanında gerçekleşir. NeuMoDx Cartridge ayrıca, gerçek zamanlı PCR'nin ardından ampikonu tutmak ve böylece temel olarak, amplifikasyon sonrası kontaminasyon riskini ortadan kaldırmak üzere tasarlanmıştır.

Amplifiye hedefler, ampikonların 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 iplikçiği 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 ısıl döngüleyicide saptanan floresan sinyali, salınan florofor ile doğru orantılıdır ve mevcut olan hedef DNA miktarı ile korele edilebilir.

5' uçta florofor ile etiketli (Eksitasyon: 490 nm ve Emisyon: 521 nm), 3' uçta ise koyu baskılayıcı ile etiketlenmiş bir TaqMan probu, CMV DNA'sının saptanmasında kullanılır. SPC1'in saptanmasında TaqMan probu, 5' uçta alternatif bir floresan boya (Eksitasyon: 535 nm ve Emisyon: 556 nm), 3' uçta ise koyu baskılayıcı ile etiketlenir. 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 (ÇÖZÜMLENMEMİŞ)) raporlar. Sonuç POSITIVE (POZİTİF) ise NeuMoDx System yazılımı ayrıca, hesaplanan konsantrasyonun kantitasyon limitleri dahilinde olması durumunda örnek ile ilişkili kantitatif bir değer sağlar veya raporlar.

### REAKTİFLER/SARF MALZEMELERİ

#### Sağlanan Materyal

REF	İçindekiler	Birim başına test	Paket başına test
201400	<b>NeuMoDx CMV Quant Test Strip</b> CMV'ye özgü TaqMan problemleri ve primerleri ve SPC1'e özgü TaqMan probu ve primerleri içeren kurutulmuş PCR reaktifleri.	16	96

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

REF	İçindekiler
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> Kurutulmuş paramanyetik partiküller, litik enzim ve örnek işleme kontrolleri
800400	<b>NeuMoDx CMV Calibrator'lar</b> Standart eğrinin geçerliliğini belirlemek için tek kullanımlık CMV Yüksek ve Düşük Kalibratör setleri
900401	<b>NeuMoDx CMV External Control'lar</b> NeuMoDx CMV Quant Assay'in günlük geçerliliğini belirlemek için tek kullanımlık CMV Pozitif ve Negatif Kontrol setleri
400400	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 1</b>
400100	<b>NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Filtreler ile Hamilton CO-RE/CO-RE II Uçlar (300 µL)</b>
235905	<b>Filtreler ile Hamilton CO-RE/CO-RE II Uçlar (1000 µL)</b>

#### Gerekli Cihazlar

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

### UYARILAR VE ÖNLEMLER

- NeuMoDx CMV Quant Test Strip, yalnızca NeuMoDx System'lar ile *in vitro* tanı amaçlı kullanım içindir.
- Listelenen son kullanma tarihi 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.
- Klinik örnekleri için test sonuçlarının oluşturulabilmesi için geçerli bir test kalibrasyonu (NeuMoDx CMV Calibrator'lardan [REF 800400] yüksek ve düşük kalibratörler işlenerek oluşturulur) bulunmalıdır.
- NeuMoDx CMV Quant Assay ile test boyunca 24 saatte bir olmak üzere NeuMoDx CMV External Control'ların [REF 900401] işlenmesi gerekir.

- Minimum numune hacmi, 32 tüplü taşıyıcı kullanılırken 1 mL EDTA/ACD plazmasıdır; 1 mL'den daha az hacimde numune kullanımı bir NeuMoDx System hatasına yol açabilir.
- Uygun olmayan sıcaklıklarda veya belirtilen saklama sürelerinden daha uzun süre saklanmış numuneler üzerinde CMV tayininin gerçekleştirilmesi, NeuMoDx CMV Quant Test Strip kullanılırken geçersiz veya hatalı sonuçlara yol açabilir.
- Her zaman tüm reaktiflerin ve sarf malzemelerinin mikrobiyal ve deoksiribonükleaz (DNaz) kontaminasyonundan kaçının. Steril DNaz içermeyen tek kullanımlık transfer pipetlerinin kullanılması önerilir. 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 CMV 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 CMV Quant Test Strip'in veya NeuMoDx Extraction Plate'in folyo mührüne veya NeuMoDx Lysis Buffer 1'in üst yüzeyine dokunmamaya dikkat edilmelidir. Sarf malzemeleri ve reaktifler yalnızca yan yüzeylere dokunarak kullanılmalıdır.
- Güvenlik Veri Sayfaları (Safety Data Sheets, SDS) talep üzerine temin edilebilir.
- Testi yaptıktan sonra ellerinizi iyice yıkayın.
- Ağızla pipetlemeyin. Numunelerin veya reaktiflerin kullandığı yerlerde sigara içmeyin ve bir şey yiyip içmeyin.
- Numuneleri her zaman enfeksiyöz gibi düşünerek ve *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>4</sup> ile CLSI Belgesi M29-A4<sup>5</sup> içinde açıklananlar gibi güvenli laboratuvar prosedürleri doğrultusunda kullanın.
- Kullanılmayan reaktifleri ve atığı, ülkeye özel, federal, bölgesel, eyalete özel ve yerel yönetmelikler doğrultusunda bertaraf edin.

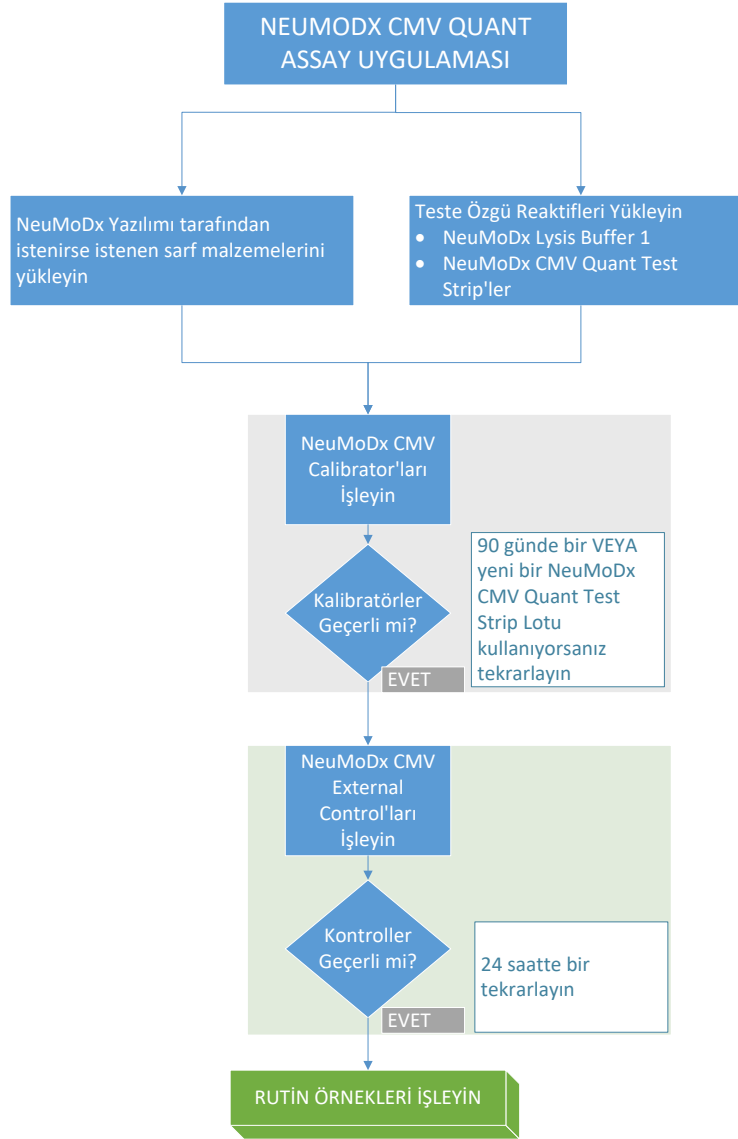
### ÜRÜNÜ SAKLAMA, KULLANMA VE STABİLİTE

- Tüm NeuMoDx reaktifleri ve sarf malzemeleri (harici kontroller ve kalibratörler hariç olmak üzere), birincil ambalajında, 18 ila 23°C sıcaklıkta, ürünün etiketinde belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir.
- NeuMoDx System'a yüklenen bir NeuMoDx CMV Quant Test Strip, 14 gün boyunca stabildir. NeuMoDx System yazılımı, NeuMoDx System üzerinde 14 günden daha uzun süre kullanımda olan test şeritlerinin çıkarılmasını isteyecek ve yeni NeuMoDx CMV Quant Test Strip'lerin açılması ve NeuMoDx System'a yüklenmesi gerekecektir.
- NeuMoDx control ve calibrator'ları 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. Tam kanı veya birincil tüplerde saklanan hiçbir numuneyi dondurmayın.
3. Plazma numunelerini hazırlamak için tam kan, antikoagülan olarak EDTA veya ACD kullanılarak steril tüplerde toplanmalıdır. Numune toplama tüpü üreticisinin talimatlarını izleyin.
4. Yukarıda listelenen cihazlarda toplanan tam kan, plazma hazırlığı için 2°C ila 25°C sıcaklıkta, 24 saate kadar saklanabilir ve/veya taşınabilir. Plazma hazırlığı üreticinin talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmelidir.
5. Hazırlanan plazma numuneleri, işlenmeden önce NeuMoDx System'da 8 saate kadar kalabilir. İlave saklama süresi gerekiyorsa numunelerin soğutulması veya dondurulması önerilir.
6. Hazırlanan plazma numuneleri testten önce, 7 günü aşmamak kaydıyla 2 ila 8°C sıcaklıkta ve oda sıcaklığında maksimum 8 saat saklanmalıdır.
7. Hazırlanan numuneler, işlenmeden önce plazma için 26 haftaya kadar  $\leq 20^{\circ}\text{C}$ 'de saklanabilir. Plazma 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 çözdürüldükten sonra 8 saat içinde test gerçekleştirilmelidir.
8. Gönderilen numuneler ambalajlanmalı ve uygun ülke düzenlemeleri ve/veya uluslararası düzenlemeler ile uyumlu bir şekilde etiketlenmelidir.
9. Numuneleri anlaşılır bir şekilde etiketleyin ve numunelerin CMV testi için olduğunu belirtin.
10. *Test Hazırlığı* bölümüne ilerleyin.

NeuMoDx CMV Quant Assay'in genel uygulama süreci aşağıda Şekil 1'de özetlenmektedir.



Şekil 1: NeuMoDx CMV Quant Assay Uygulaması İş Akışı

## KULLANMA TALİMATI

### Test Hazırlığı

1. Numune barkod etiketini, NeuMoDx System ile uyumlu numune tüpüne uygulayın.
2. Bir transfer pipeti kullanarak, barkodlu numune (ikincil) tüpüne, 32 Tüplü Taşıyıcı kullanıyorsanız  $\geq 1$  mL'sini, 24 Tüplü Taşıyıcı kullanıyorsanız  $> 2$  mL'sini aktarın. Plazma örneğinden numune tüpüne pıhtı aktarmamaya dikkat edilmelidir. Her numune için farklı bir transfer pipeti kullanın.
3. İkincil tüp, işleme için kullanılan Numune Tüpü Taşıyıcısına dayalı olarak, aşağıdaki NeuMoDx System ile uyumlu tüp özelliklerini karşılamalıdır.
  - 32 Tüplü Taşıyıcı: çapı 11 mm ile 14 mm arasında ve yüksekliği 60 mm ile 120 mm arasında
  - 24 Tüplü Taşıyıcı: çapı 14,5 mm ile 18 mm arasında ve yüksekliği 60 mm ile 120 mm arasında

### NeuMoDx™ System Çalışması

Ayrıntılı talimatlar için NeuMoDx 288 ve 96 Molecular System'lar Operatör Kılavuzlarına (p/n 40600108 ve 40600317) başvurun

1. Bir veya daha fazla NeuMoDx System Test Strip taşıyıcısını, NeuMoDx CMV Quant Test Strip'leri ile doldurun ve Test Strip Carrier'ları NeuMoDx System'a yüklemek için dokunmatik ekranı kullanın.
2. NeuMoDx System yazılımı tarafından istenmesi durumunda gerekli sarf malzemelerini NeuMoDx System sarf malzemesi taşıyıcılarına ekleyin ve taşıyıcıları NeuMoDx System'a yüklemek için dokunmatik ekranı kullanın.
3. NeuMoDx System yazılımı tarafından istenmesi durumunda NeuMoDx Wash Reagent ve NeuMoDx Release Reagent'ı değiştirin, Sıvı Geçirme Atığını veya Biyolojik Tehlikeli Atık Kabını uygun şekilde boşaltın.
4. NeuMoDx System yazılımı tarafından istenirse calibrator'ları [REF 800400] ve/veya external control'ları [REF 900401] gerektiği şekilde işleyin. Kalibratörler ve kontrollere ilişkin daha fazla bilgi *Sonuçları İşleme* bölümünde bulunabilir.
5. Numune/kalibratör/kontrol tüplerini standart bir 32'li Tüp Taşıyıcısına yükleyin ve tüm numune tüplerinin kapaklarının çıkarılmış olduğundan emin olun.
6. Numune Tüpü Taşıyıcısını, Otomatik Yükleyici rafındaki herhangi bir uygun konuma yerleştirin ve taşıyıcıyı NeuMoDx System'a yüklemek için dokunmatik ekranı kullanın. Böylece, tanımlanan testler için yüklenen numunelerin işlenmesi başlatılır.

### SINIRLAMALAR

- NeuMoDx CMV Quant Test Strip yalnızca NeuMoDx System'lar üzerinde kullanılabilir.
- NeuMoDx CMV Quant Test Strip'in performansı antikoagülan olarak EDTA/ACD ile toplanan tam kandan hazırlanan plazma numunelerinden belirlenmiştir. NeuMoDx CMV Quant Test Strip'in diğer klinik numune türleriyle kullanımı değerlendirilmemiştir ve testin diğer numune türleri ile performans özellikleri bilinmemektedir.
- CMV 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 CMV Quant Assay'in saptama limitinin altında olduğu için yanlış negatif sonuçlar elde edilebilir.
- NeuMoDx System'in kullanımı, NeuMoDx System kullanımı konusunda eğitim almış personelle sınırlandırılmıştır.
- Hem CMV hedefinin hem de SPC1 hedefinin amplifiye etmemesi durumunda geçersiz bir sonuç (Indeterminate (Şüpheli) veya Unresolved (Çözümlememiş)) raporlanır ve testin tekrarlanması gerekir.
- NeuMoDx CMV Quant Assay sonucu Positive (Pozitif) ancak kantitasyon değeri kantitasyon limitlerinin ötesindeyse NeuMoDx System, saptanan CMV'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 CMV'nin LLoQ'nun altında olması durumunda NeuMoDx CMV Quant Assay, numunenin başka bir alikotu ile (istenirse) tekrarlanabilir.
- Saptanan CMV'nin ULoQ'nun üstünde olması durumunda NeuMoDx CMV Quant Assay, orijinal numunenin seyreltilmiş bir alikotu ile tekrarlanabilir. CMV negatif plazmanın veya Basematrix 53 Diluent'in (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA) 1:100 veya 1:1000 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 plazmada 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, sitomegalovirüs DNA'sı varlığının olası olduğu anlamına gelir.
- NeuMoDx CMV Quant Assay tarafından hedeflenen korunmuş bölgelerdeki silinme veya mutasyonlar, saptamayı etkileyebilir veya NeuMoDx CMV Quant Test Strip kullanılırken hatalı bir sonuca yol açabilir.
- NeuMoDx CMV 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 CMV Quant Assay sonuçları NeuMoDx System yazılımı tarafından, NeuMoDx CMV Tahlil Tanımlama Dosyasında (CMV Assay Definition File, EBV ADF) belirtilen karar algoritması ve sonuç işleme parametreleri kullanılarak otomatik olarak oluşturulur. NeuMoDx CMV Quant Assay sonucu, hedefin ve örnek işleme kontrolünün amplifikasyon durumuna dayalı olarak Negative (Negatif), raporlanan CMV konsantrasyonu ile Positive (Pozitif), ULoQ'nun üzerinde Positive (Pozitif), LLoQ'nun altında Positive (Pozitif), Indeterminate (Şüpheli) veya Unresolved (Çözümlememiş) olarak raporlanabilir. Sonuçlar, *Tablo 1*'deki karar algoritmasına dayalı olarak raporlanır.

**Tablo 1: NeuMoDx CMV Quant Assay Karar Algoritması**

Sonuç	CMV	Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Pozitif)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND (VE) } EPR > 2 \text{ AND (VE) } EP \geq 1500]$ OR (VEYA) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND (VE) } EP \geq 1500]$	Uygulanamaz
Positive (Pozitif), Üst Kantitasyon Limitinin [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] üzerinde ( $\log_{10}$ IU/mL)	[CONC] (KONS.) > 8,0 $\log_{10}$ IU/mL, NO QUANT (MİKTAR YOK)	Uygulanamaz
Positive (Pozitif), Alt Kantitasyon Limitinin [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] altında ( $\log_{10}$ IU/mL)	[CONC] (KONS.) < 1,3 $\log_{10}$ IU/mL, NO QUANT (MİKTAR YOK)	Uygulanamaz
Negative (Negatif)	Uygulanamaz OR (VEYA) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND (VE) } EPR \leq 2]$ OR (VEYA) $[9 \leq Ct \leq 41 \text{ AND (VE) } EP < 1500]$ OR (VEYA) $Ct > 41$	AMPLIFIED (AMPLİFİYE) ( $28 \leq Ct \leq 34$ ) and (ve) $EP \geq 2.000$
Indeterminate (Şüpheli)	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted (AMPLİFİYE DEĞİL/Sistem Hataları Belirtilmiş)	
Unresolved (Çözümlememiş)	NOT AMPLIFIED/ No System Errors Noted (AMPLİFİYE DEĞİL/Sistem Hataları Belirtilmemiş)	

EP = End Point Fluorescence (Son Nokta Floresansı) (bazal çizgi düzeltmesinden sonra); EPR = End Point Fluorescence Ratio (Son Nokta Floresans Oranı);  $C_t$  = Cycling Threshold (Döngü Eşiği);

Quant = Mevcut CMV'nin  $\log_{10}$  IU/mL cinsinden ifade edilen hesaplanmış miktarı. Aşağıdaki Test Hesaplaması kısmına bakın.

### Test Hesaplaması

- NeuMoDx CMV Quant Assay'in Kantitasyon aralığında olan örnekler söz konusu olduğunda, örneklerdeki CMV DNA'sı konsantrasyonu, saklanan standart eğri kalibrasyon katsayısıyla birlikte kullanılarak hesaplanır.
  - Belirli bir NeuMoDx System'da, belirli bir NeuMoDx CMV Quant Test Strip lotu için Standart Eğri geçerliliğini belirlemek üzere işlenen NeuMoDx CMV kalibratör'lerin sonuçlarına dayalı olarak bir "kalibrasyon katsayısı" hesaplanır.
  - Kalibrasyon katsayısı, CMV DNA'sı konsantrasyonunun nihai tayini için kullanılır.
- NeuMoDx CMV Quant Assay sonuçları  $\log_{10}$  IU/mL cinsinden raporlanır.
- Bilinmeyen örneklerin elde edilen kantitasyonu, WHO 1. CMV Uluslararası Standardına göre izlenebilir.

### Test Kalibrasyonu

Numunelerdeki CMV 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.

### Harici Kalibratörler

- NeuMoDx CMV Kalibratör'lar bir kit [REF 800400] içinde sağlanır ve Basematrix içinde hazırlanmış, enfeksiyöz olmayan kapsül içinde CMV hedefi içerir.
- Her yeni NeuMoDx CMV Quant Test Strip lotu ile, NeuMoDx System'a yeni bir CMV Tahlil Tanımlama Dosyası yüklenmişse, mevcut kalibratör setinin geçerlilik süresi (mevcut durumda 90 güne ayarlıdır) dolmuşsa veya NeuMoDx System yazılımı üzerinde değişiklik yapılmışsa bir CMV kalibratör setinin işlenmesi gerekir.
- 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.

- Kalibrasyon geçerliliği aşağıdaki şekilde belirlenir:
  - Geçerliliği belirlemek için yüksek ve düşük olmak üzere iki kalibratörlük bir set işlenmelidir.
  - Geçerli sonuçlar elde etmek için 3 tekrarın en az 2'sinden, ön tanımlı parametreler dahilinde sonuçlar elde edilmelidir. Düşük kalibratör nominal hedefi  $3 \log_{10}$  IU/mL, Yüksek Kalibratör nominal hedefi ise  $5 \log_{10}$  IU/mL'dir.
  - Kalibrasyon katsayısı, test şeridi lotları arasında beklenen farklılığı dikkate alacak şekilde hesaplanır; bu kalibrasyon katsayısı, nihai CMV konsantrasyonunun belirlenmesinde kullanılır.
- Bir veya her iki kalibratörün geçerlilik kontrolünde başarısız olması durumunda başarısız kalibratörlerin işlenmesini, yeni bir şişe kullanarak tekrarlayın. Kalibratörlerden birinin geçerlilik kontrolünde başarısız olması halinde sistem kullanıcının her iki kalibratörü de tekrar çalıştırmasını gerektirmediği için yalnızca başarısız olan kalibratörün tekrarlanması mümkündür.
- Kalibratörlerin geçerlilik kontrolünde art arda ikinci kez başarısız olması durumunda NeuMoDx Molecular, Inc. ile iletişime geçin.

### 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

- Pozitif kontrollere yönelik Basematrix içinde enfeksiyöz olmayan kapsüle alınmış CMV hedefi içeren harici kontrol materyalleri, NeuMoDx CMV External Control'ların [REF 900401] bulunduğu bir kit içinde NeuMoDx Molecular, Inc. tarafından sağlanır.
- 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.
- Harici kontrollerin gerekmesi durumunda, harici kontrol setini dondurucudan çıkarın ve şişelerin oda sıcaklığında (15-30 °C) tamamen çözünmesini bekleyin. Homojenliği sağlamak için nazikçe vorteksleyin.
- Dokunmatik ekranı kullanarak ve Otomatik Yükleyici rafına bir Numune Tüpü Taşıyıcı yerleştirilmiş olarak, pozitif ve negatif kontrol şişelerini NeuMoDx System'a yükleyin. NeuMoDx System barkodu tanıyıp ve test için gerekli olan reaktifleri veya sarf malzemelerinin bulunmaması söz konusu değilse numune tüplerini işlemeye başlar.
- Harici kontrollerin geçerliliği, beklenen sonuca dayalı olarak NeuMoDx System tarafından değerlendirilir. Pozitif kontrol CMV Pozitif bir sonuç, negatif kontrol ise CMV Negatif bir sonuç vermelidir.
- Harici kontroller için tutarsız sonuçlar aşağıdaki şekilde ele alınmalıdır:
  - Negatif kontrol örneği için Positive (Pozitif) test sonucu raporlanması, numune kontaminasyon sorununa işaret eder.
  - Pozitif kontrol örneği için Negative (Negatif) test sonucu raporlanması, reaktif veya cihaz ile ilgili bir sorun olduğuna işaret eder.
  - Yukarıdaki her iki durumda da, geçerlilik testinde başarısız olan kontrollerin bulunduğu yeni çözündürülmüş bir şişeyle NeuMoDx CMV external control'ları tekrarlayın.
  - Pozitif NeuMoDx CMV external control Negative (Negatif) sonuç raporlamaya devam ederse NeuMoDx müşteri hizmetleri ile iletişime geçin.
  - Negatif NeuMoDx CMV external control, Positive (Pozitif) sonuç raporlamaya devam ederse NeuMoDx müşteri hizmetleri ile iletişime geçmeden önce, TÜM reaktifleri değiştirmek de dahil olmak üzere, tüm olası kontaminasyon kaynaklarını ortadan kaldırmayı deneyin.

### Örnek İşleme (Dahili) Kontrolleri

Eksojen bir Örnek İşleme Kontrolü (SPC1), NeuMoDx Extraction Plate'e dahil edilir ve her bir örnekle, tüm nükleik asit ekstraksiyonu ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR) amplifikasyonu işleminden geçer. SPC1'e özgü primerler ve probalar da her bir NeuMoDx CMV Quant Test Strip'e eklenerek, multipleks gerçek zamanlı PCR aracılığıyla, hedef CMV 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 CMV Quant Assay'in geçerli bir sonuç üretmemesi durumunda test, meydana gelen hatanın türüne dayalı olarak Indeterminate (IND) (Şüpheli) veya Unresolved (UNR) (Çözümlememiş) olarak raporlanır.

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

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



### PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

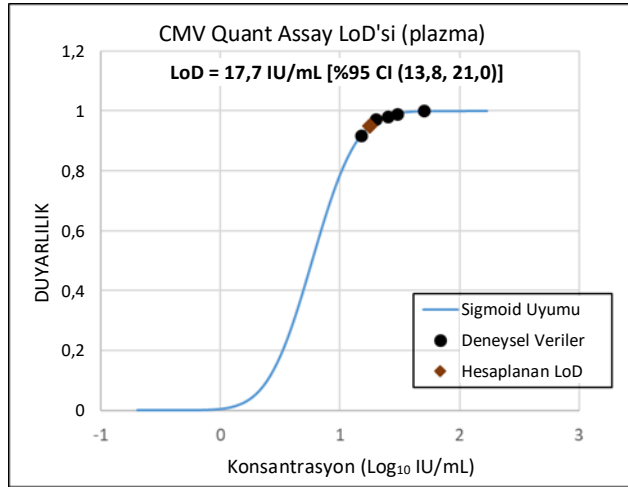
#### Analitik Duyarlılık – WHO Standardı Kullanılarak Saptama Limiti

NeuMoDx CMV Quant Assay'in Analitik Duyarlılığı, NeuMoDx System'lar üzerinde Saptama Limitinin (Limit of Detection, LoD) belirlenmesi için negatif numuneler ve WHO 1. Uluslararası Standardının bir dilüsyon serisi, taranmış negatif insan plazmasında test edilerek karakterize edilir. LoD, Probit tarzı analiz tarafından belirlendiği şekilde, %95 oranında saptanan en düşük hedef seviyesi olarak tanımlanmıştır. Çalışma, 3 gün boyunca, birçok sistem arasında, birçok NeuMoDx reaktif lotu ile gerçekleştirilmiştir. Her sistem, her bir dilüsyon seviyesinde günde 18 tekrar işlemiştir. Saptama oranları *Tablo 2*'de gösterilmektedir.

**Tablo 2:** NeuMoDx CMV Quant Assay'in LoD'sinin Belirlenmesi İçin Pozitif Saptama Oranları

Hedef Konsantrasyon [IU/mL]	Hedef Konsantrasyon [ $\log_{10}$ IU/mL]	PLAZMA		
		Geçerli Testlerin Sayısı	Pozitiflerin Sayısı	Saptama Oranı
50	1,70	108	108	%100,0
30	1,48	108	107	%99,1
25	1,40	108	106	%98,1
20	1,30	108	105	%97,2
15	1,18	108	99	%91,7
NEG	---	108	0	%0,0

NeuMoDx CMV Quant Assay'in gB1 varyantı için plazmada LoD'sinin 13,8-21,0 IU/mL ( $1,14-1,32 \log_{10}$  IU/mL) %95 Güven Aralığı (CI) ile 17,7 IU/mL ( $1,25 \log_{10}$  IU/mL) olduğu belirlenmiştir [*Şekil 2*]. Genotipler arası LoD, doğruluk oranı analiziyle 20,0 IU/mL ( $1,30 \log_{10}$  IU/mL) olarak belirlenmiştir.



**Şekil 2:** NeuMoDx CMV Quant Assay'in Plazma Örneklerinde LoD'sini Belirlemek İçin Kullanılan Probit Tarzı Analiz

#### Analitik Duyarlılık – Kantitasyon Limiti – Alt Kantitasyon Limiti (LLOQ)

Alt Kantitasyon Limiti (Lower Limit of Quantitation, LLOQ), >%95 saptama oranına ulaşılan VE TAE'nin  $\leq 1,0$  olduğu en düşük hedef seviyesi olarak tanımlanır. LLOQ'yu belirlemek üzere, Saptama Limiti (LoD) hesaplamasının bir parçası olarak >%95 saptama raporladığı gösterilen her bir Sitomegalovirüs (Cytomegalovirus, CMV) 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 çalışmasında kullanılan 5 seviyede CMV (gB1 varyantı) plazma numunesinin derlenen sonuçları *Tablo 3*'te gösterilmektedir. Bu veri setine ve önceden belirlenen LoD değerine dayalı olarak LLOQ, 20,0 IU/mL ( $1,30 \log_{10}$  IU/mL) olarak belirlenmiş ve genotipler arası doğrulanmıştır.



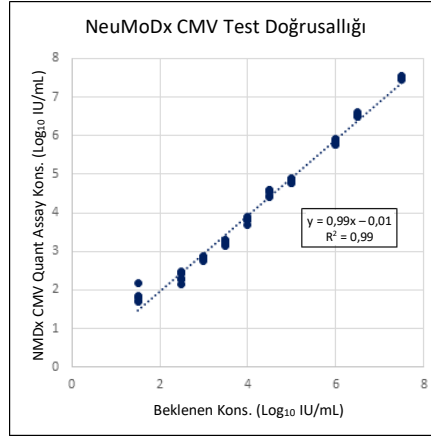
**Tablo 3:** NeuMoDx CMV Quant Assay LLoQ'su, Yanlılık ve TAE ile

Hedef Kons. [IU/mL]	Hedef Kons. [log <sub>10</sub> IU/mL]	Plazma				
		Ortalama Kons. [log <sub>10</sub> IU/mL]	Saptama (%)	SD	Yanlılık	TAE
50	1,70	1,75	100,0	0,16	0,05	0,37
30	1,48	1,62	99,1	0,24	0,14	0,62
25	1,40	1,56	98,1	0,19	0,17	0,55
20	1,30	1,57	97,2	0,22	0,27	0,72
15	1,18	1,52	91,7	0,21	0,35	0,78

Bu çalışmaların sonucuna dayalı olarak, NeuMoDx CMV Quant Assay'in LoD ve LLoQ değerlerinin her ikisi de 20,0 IU/mL [1,30 log<sub>10</sub> IU/mL] olarak belirlenmiştir.

### Üst Kantitasyon Limitinin (Upper Limit of Quantitation, ULOQ) Doğrusallığı ve Belirlenmesi

NeuMoDx CMV Quant Assay'in Üst Kantitasyon Limiti (Upper Limit of Quantitation, ULOQ) ve doğrusallığı, NeuMoDx kapsül içinde CMV hedefi ve Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) kullanılarak bir dilüsyon serisi hazırlanarak, plazma içinde 1. WHO Uluslararası Standardına göre belirlenmiş izlenebilirlik ile ortaya konmuştur. 8-1,7 log<sub>10</sub> IU/mL konsantrasyon aralığını kapsayacak bir panel oluşturmak üzere, havuzda birleştirilmiş CMV negatif plazma içinde 9 üyeli bir panel hazırlanmıştır. NeuMoDx CMV Quant Assay'in ULOQ değeri 8,0 log<sub>10</sub> IU/mL olarak belirlenmiştir. NeuMoDx System tarafından raporlanan CMV tayini konsantrasyonları, beklenen değerler ile karşılaştırmalı olarak Şekil 3'te sunulmaktadır.

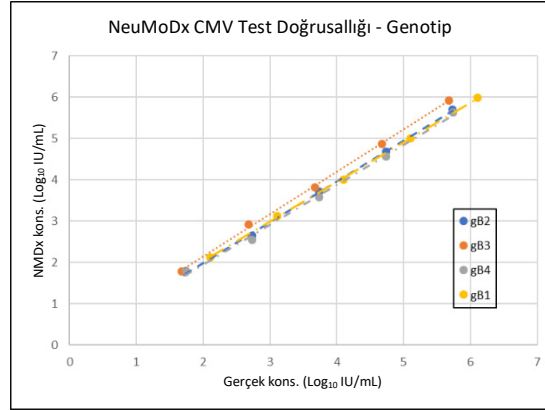

**Şekil 3:** NeuMoDx CMV Quant Assay'in Doğrusallığı

### Genotipler Arası Doğrusallık

NeuMoDx CMV Quant Assay'in dört CMV genotipi (gB1, gB2, gB3 ve gB4) arasındaki doğrusallığı, havuzda birleştirilmiş CMV negatif plazma içinde hazırlanan her bir CMV genotipinin beş farklı konsantrasyonu test edilerek karakterize edilmiştir. Bu çalışmada test edilen CMV hedeflerinin seviyeleri, kaynak numunenin konsantrasyonuna bağlı olmuş ve dolayısıyla genotipler arasında farklılık göstermiştir. Çalışma, 4 genotipten her birinin 6 tekrarının 5 konsantrasyonda test edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Dört CMV genotipi arasındaki doğrusallık Tablo 4 ve Şekil 4'te sunulmaktadır.

**Tablo 4:** NeuMoDx CMV Quant Assay'in Genotipler Arası Doğrusallığı

Genotip	Doğrusallık Denklemi y = NeuMoDx CMV Assay Kantitasyonu x = Beklenen Kantitasyon	R <sup>2</sup>
gB1	y = 0,960x + 0,103	0,994
gB2	y = 0,989x + 0,009	0,996
gB3	y = 1,023x + 0,099	0,967
gB4	y = 0,968x + 0,004	0,992



Şekil 4: NeuMoDx CMV Quant Assay'in Genotipler Arası Doğrusallığı

### Analitik Özgüllük – Çapraz Reaktivite

Analitik özgüllük, kan/plazma numunelerinde sıklıkla bulunan 35 organizmanın yanı sıra CMV'ye filogenetik olarak benzeyen türler çapraz reaktivite bakımından taranarak ortaya konmuştur. Organizmalar, 5-6 organizmalık havuzlarda hazırlanmış ve yüksek konsantrasyonda test edilmiştir. Test edilen organizmalar, *Tablo 5*'te gösterilmektedir. Test edilen hiçbir organizmada, NeuMoDx CMV Quant Assay'in %100 analitik özgüllüğünü doğrulayan hiçbir çapraz reaktivite gözlemlenmemiştir.

Tablo 5: Analitik Özgüllüğü Göstermek İçin Kullanılan Patojenler

Hedef Dışı Organizmalar					
BK Polyoma Virüs	Adenovirüs tip 5	Herpes Simplex Virüsü tip 1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Epstein-Barr Virüsü	Hepatit C Virüsü	Herpes Simplex Virüsü tip 2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
İnsan Herpes Virüsü tip 6	Parvovirüs B19	Varicella-Zoster Virüsü	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
İnsan Herpes Virüsü tip 7	JC Virüsü	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
İnsan Herpes Virüsü tip 8	İnsan Papillom Virüsü 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatit B Virüsü	İnsan Papillom Virüsü 18	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

### Analitik Özgüllük – Olumsuz Etkileyen Maddeler, Kommensal Organizmalar

NeuMoDx CMV Quant Assay, yukarıda *Tablo 5* içinde listelenen, çapraz reaktivite için hazırlanan organizma havuzlarının aynısı kullanılarak, hedef dışı organizmaların varlığında olumsuz etkileşim bakımından değerlendirilmiştir. Negatif CMV plazmasına, 4-7'li gruplar halinde havuzda birleştirilen organizmalar ve ayrıca, 3 log<sub>10</sub> IU/mL konsantrasyonda CMV hedefi eklenmiştir. Olumsuz etkileyen ajan içermeyen kontrol numunelerinden minimum kantitasyon sapması ile de gösterildiği şekilde, bu kommensal organizmaların varlığında önemli ölçüde bir olumsuz etkileşim gözlemlenmemiştir.

### Analitik Özgüllük – Olumsuz Etkileyen Maddeler, Endojen ve Eksojen Maddeler

NeuMoDx CMV Quant Assay, CMV klinik plazma numunelerinde karşılaşılan tipik eksojen ve endojen olumsuz etkileyen maddelerin varlığında değerlendirilmiştir. Bunlara, anormal ölçüde yüksek seviyede kan bileşenlerinin yanı sıra *Tablo 6*'da sınıflandırılan yaygın antiviral ilaçlar da dahildir. Her madde, 3 log<sub>10</sub> IU/mL CMV eklenmiş, taranmış CMV negatif insan plazmasına eklenmiştir ve örnekler olumsuz etkileşim bakımından analiz edilmiştir. Bunlara ek olarak, CMV enfeksiyonu ile ilişkili yaygın hastalık durumu plazması da olası etkileşim bakımından test edilmiştir. Test edilen tüm maddelerin ortalama konsantrasyonu ve yanlılığı, aynı seviyede CMV eklenmiş kontrol örnekleri ile karşılaştırmalı olarak *Tablo 7*'de raporlanmıştır. Eksojen ve endojen maddelerden hiçbirisi, NeuMoDx CMV Quant Assay'in özgüllüğünü etkilememiştir.

**Tablo 6:** Etkileşim Testi – Eksojen Ajanlar (İlaç Sınıflandırmaları)

Havuz	İlaç adı	Sınıflandırma	Havuz	İlaç adı	Sınıflandırma
Havuz 1	Azatioprin	İmmünoşüpresan	Havuz 4	Trimetoprim	Antibiyotik
	Siklosporin	İmmünoşüpresan		Vankomisin	Antibiyotik
	Foskarnet	Antiviral (Herpesviridae)		Takrolimus	İmmünoşüpresan
	Gansiklovir	Antiviral (CMV)		Everolimus	İmmünoşüpresan
	Valgansiklovir hidroklorür	Antiviral (CMV)		Klavulanat potasyum	Antibiyotik
Havuz 2	Prednizon	Kortikosteroid/İmmünoşüpresan	Havuz 5	Famotidin	Histamin reseptör antagonisti
	Sidofovir	Antiviral (CMV)		Sulfametoksazol	Antibiyotik
	Sefotetan	Antibiyotik (geniş spektrumlu)		Valasiklovir	Antiviral (Herpesviridae)
	Sefotaksim	Antibiyotik (geniş spektrumlu)		Letermovir	Antiviral (CMV)
	Flukonazol	Antifungal		Tikarsilin disodyum	Antibiyotik
Havuz 3	Mikofenolat mofetil	İmmünoşüpresan	Leflunomid	İmmünoşüpresan	
	Mikofenolat sodyum	İmmünoşüpresan			
	Piperasilin	Antibiyotik			
	Sirolimus/Rapamisin	İmmünoşüpresan)			
	Tazobaktam	Modifiye antibiyotik			

**Tablo 7:** Etkileşim Testi – Eksojen ve Endojen Ajanlar

Endojen	Ortalama Kons.	Yanılık
	log <sub>10</sub> IU/mL	log <sub>10</sub> IU/mL
Hemoglobin	2,97	0,07
Trigliseritler	3,03	0,13
Bilirubin	3,01	0,11
Albümin	2,88	-0,02
Eksojen (İlaçlar)	Ortalama Kons.	Yanılık
	log <sub>10</sub> IU/mL	log <sub>10</sub> IU/mL
Havuz 1: Azatioprin, Siklosporin, Foskarnet, Gansiklovir, Valgansiklovir hidroklorür	2,88	-0,02
Havuz 2: Prednizon, Sidofovir, Sefotetan, Sefotaksim, Flukonazol	2,91	0,01
Havuz 3: Mikofenolat mofetil, Mikofenolat sodyum, Piperasilin, Sirolimus/Rapamisin, Tazobaktam	2,98	0,08
Havuz 4: Trimetoprim, Vankomisin, Takrolimus, Everolimus, Klavulanat potasyum	3,05	0,15
Havuz 5: Famotidin, Sulfametoksazol, Letermovir, Valasiklovir, Tikarsilin disodyum, Leflunomid	2,87	-0,03
Hastalık Durumu	Ortalama Kons.	Yanılık
	log <sub>10</sub> IU/mL	log <sub>10</sub> IU/mL
Antinükleer Antikor (ANA)	2,90	0,00
Sistemik Lupus Eritematozus (SLE)	3,04	0,14
Romatoid Artrit	2,99	0,09

### Laboratuvar İçi Hassasiyet

NeuMoDx CMV Quant Assay'in hassasiyeti, Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) ile hazırlanan CMV numunelerinden oluşan 4 üyeli bir panelin 3 tekrarı, iki NeuMoDx 288 Systems ve bir NeuMoDx 96 System kullanılarak 12 gün boyunca test edilerek belirlenmiştir. Çalışma içi, gün içi ve Sistem içi hassasiyetler karakterize edilmiş ve genel standart sapmanın  $\leq 0,15 \log_{10}$  IU/mL olduğu belirlenmiştir. Sistemler, günler veya çalışmalar arasında, *Tablo 8'*de gösterildiği gibi mükemmel hassasiyet ortaya konmuştur. Operatör, NeuMoDx System kullanılarak örnek işlemede önemli bir role sahip olmadığı için operatörler arası hassasiyet karakterize edilmemiştir.

**Tablo 8:** Laboratuvar İçi Hassasiyet – NeuMoDx System'larda NeuMoDx CMV Quant Assay

Hedef CMV Kons. [ $\log_{10}$ IU/mL]	Ortalama CMV Kons. [ $\log_{10}$ IU/mL]	Sistem İçi SD	Gün İçi SD	Çalışma İçi SD	Genel (Laboratuvar İçi) SD
5,7	5,64	0,09	0,09	0,07	0,13
4,7	4,58	0,10	0,10	0,08	0,14
3,7	3,60	0,09	0,09	0,07	0,12
2,7	2,62	0,13	0,13	0,10	0,15

### Lotlar Arası Yeniden Üretilirlik

NeuMoDx CMV Quant Assay'in lotlar arası yeniden üretilebilirliği, temel reaktifler olan NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plate ve NeuMoDx CMV Quant Test Strip'in üç farklı lotu kullanılarak belirlenmiştir. Exact CMV Control ile hazırlanan CMV'nin 4 üyeli bir paneli, performansı değerlendirmek için kullanılmıştır. Test, 6 gün boyunca üç sistemde üç reaktif lotu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Lot içi ve lotlar arası farklılık analiz edilmiş ve sonuçlar *Tablo 9'*da sunulmuştur. Maksimum genel yanlışlık  $0,12 \log_{10}$  IU/mL, maksimum genel standart sapma ise  $0,39 \log_{10}$  IU/mL olmuştur. Tüm panel üyelerinin kantitasyonu tolerans spesifikasyonu dahilinde olduğu için lotlar arasında eşdeğer performans ortaya konmuştur.

**Tablo 9:** Lotlar Arası Yeniden Üretilirlik – NeuMoDx CMV Quant Assay

Hedef CMV Kons. [ $\log_{10}$ IU/mL]	Ortalama CMV Kons. [ $\log_{10}$ IU/mL]	N (Lot Başına Geçerli Sonuçlar)	Yanlışlık	Lotlar Arası SD	Lot İçi SD	Genel SD
5,7	5,65	36	0,05	0,27	0,15	0,31
4,7	4,63	36	0,07	0,22	0,13	0,26
3,7	3,58	36	0,12	0,34	0,18	0,39
2,7	2,64	36	0,06	0,12	0,14	0,18

### Kontrolün Etkinliği

SPC1, NeuMoDx CMV Quant Assay'e, işleme adımı hatalarını veya tayinin performansını olumsuz etkileyen inhibisyonu raporlamak üzere eklenmiştir. Etkililik, örnek işleme sırasında potansiyel olarak gerçekleşebilecek ve NeuMoDx System'in performans izleme sensörleri tarafından *saptanamayabilecek* kritik işleme adımı hatalarını temsil eder nitelikte koşullar altında test edilmiştir. Pozitif ( $3 \log_{10}$  IU/mL'de) ve negatif numuneler, şu koşullar altında, bir kontrolün varlığında değerlendirmeye tabi tutulmuştur: inhibitör varlığı, yıkama solüsyonu sağlanmadı ve yıkama üfleme yok. CMV saptaması/kantitasyonu üzerinde olumsuz etkisi olan işleme verimsizlikleri, SPC1 hedefinin performansı ile, *Tablo 10'*da gösterildiği şekilde yansıtılmıştır. Test edilen tüm durumlarda, örnek işleme kontrolünün işleme verimsizliklerini ve inhibitörlerin varlığını yeterli ölçüde izlediği veya beklenen işleme verimsizliğinin ne SPC1 saptaması ne de CMV saptaması ve kantitasyonu üzerinde önemli bir olumsuz etki oluşturmadığını ortaya konulmuştur. Dolayısıyla SPC1, NeuMoDx System'da tayin performansını etkili bir şekilde izleme konusunda başarı göstermiştir.

**Tablo 10:** Örnek İşleme Kontrolünün Etkinliği

Test Edilen İşleme Adımı Hatası	Örnek İşleme Kontrolü 1 Amplifikasyon Durumu	CMV Hedefi Amplifikasyon Durumu	Tayin Sonucu
Presence of Inhibitor (Inhibitör Varlığı)	Not Amplified (Amplifiye Değil)	Not Amplified (Amplifiye Değil)	Unresolved (Çözümlememiş)
No Wash Delivered (Yıkama Sağlanmadı)	Not Amplified (Amplifiye Değil)	Not Amplified (Amplifiye Değil)	Unresolved (Çözümlememiş)
No Wash Blowout (Yıkama Üfleme Yok)	Amplified (Amplifiye)	Amplified (Amplifiye)	Positive (Pozitif), $0,3 \log_{10}$ IU/mL Kontrol dahilinde Kantitasyon ile

### Geçerli Sonuçlar Oranı

NeuMoDx System'larda NeuMoDx CMV Assay'in performans değerlendirmesi sırasında elde edilen verilerin geriye dönük bir analizi, geçerli sonuçların yüzdesini belirlemede kullanılmıştır. Geçerli test sonuçları Positive (Pozitif) veya Negative (Negatif) olarak raporlanır; geçersiz test sonuçları ise hedefin ve örnek işleme kontrolünün amplifikasyon durumuna dayalı olarak Indeterminate (IND) (Şüpheli) veya Unresolved (UNR) (Çözümlememiş) olarak raporlanabilir. IND (Şüpheli) sonucu tipik olarak, hedef ve/veya dahili işleme kontrolünün amplifiye olmasına neden olan bir arızaya yol açan cihaz hatasından kaynaklanır. UNR (Çözümlememiş) sonucu, saptanan bir cihaz arızası bulunmadığı halde hem hedef hem de dahili işleme kontrolünün amplifiye olamaması durumunda örnekler atanır. Geriye dönük analize, hem NeuMoDx 288 hem de NeuMoDx 96 System'larda elde edilen verilerin dahil olduğu, 1.100 ayrı NeuMoDx CMV Quant Assay sonucu dahil edilmiştir. UNR (Çözümlememiş) oranının %0,91 (10/1100), IND (Şüpheli) oranının ise %0,36 (4/1100) olduğu belirlenmiştir; bu sonuçlar, analizin kabul kriterlerini karşılamaktadır. Bu nedenle, NeuMoDx CMV Assay'in NeuMoDx System'lar arası geçerli sonuç oranının, %95 CI (97,9-99,2) ile %98,7 olduğu sonucuna varılmıştır.

### Çapraz kontaminasyon

NeuMoDx CMV Quant Assay'in çapraz kontaminasyonu, dönüşümlü olarak yüksek pozitif ve negatif numuneler bulunduran üç set CMV numunesi test edilerek belirlenmiştir. Bu işlem toplamda, CMV negatif plazmanın 108 tekrarının ve 6,0 log<sub>10</sub> IU/mL konsantrasyonda CMV eklenen plazmanın 108 tekrarının test edilmesini içermektedir. Negatif numunenin 108 tekrarının tümü negatif olarak raporlanmıştır; bu da, NeuMoDx System'da örnek işleme sırasında çapraz kontaminasyon gerçekleşmediğini göstermektedir.

### Numune Matriks Eşdeğerliği

Plazma hazırlığı için etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ve asit sitrat dekstroz (ACD) toplama tüplerinde toplanan tam kan arasındaki numune matriks eşdeğerliğini göstermek için test gerçekleştirilmiştir. Taze ve dondurulmuş plazma numuneleri arasında (iki tip tüpte toplanır) eşdeğerliği belirlemek için ilave testler gerçekleştirilmiştir. Taze numuneler, üç seviyede CMV eklenip eşdeğerlik bakımından test edilene kadar 4°C'de tutulmuştur. Daha sonra örnekler, minimum 24 saat boyunca -20°C'de dondurulmuştur. Bu dondurarak saklama süresinden sonra numuneler çözülür ve yeniden test edilmiştir. Taze/dondurulmuş plazmanın yanı sıra EDTA/ACD plazma numunelerinden elde edilen sonuçlar, regresyon analizi ile eşdeğerlik bakımından karşılaştırılmıştır. Veriler, EDTA ve ACD plazma numuneleri ile taze ve dondurulmuş plazma numuneleri arasındaki mükemmel eşdeğerliği, 1,0'a 0,02 yaklaşık eğimlerle ve çok düşük yanlılıkla (kesişim), aşağıdaki *Tablo 11*'de sunulduğu şekilde ortaya koymuştur.

**Tablo 11:** Numune Matriks Eşdeğerliği

Parametre Gerekliliği	ACD/K2EDTA		Taze/Dondurulmuş	
	Taze	Dondurulmuş	ACD	EDTA
Eğim [0,9-1,1]	1,000	0,982	1,014	1,000
Kesişim [ $<0,5 \log_{10}$ IU/mL]	-0,050	0,018	-0,061	0,020
$p$ değeri $> 0,05$	0,848	0,644	0,895	0,631

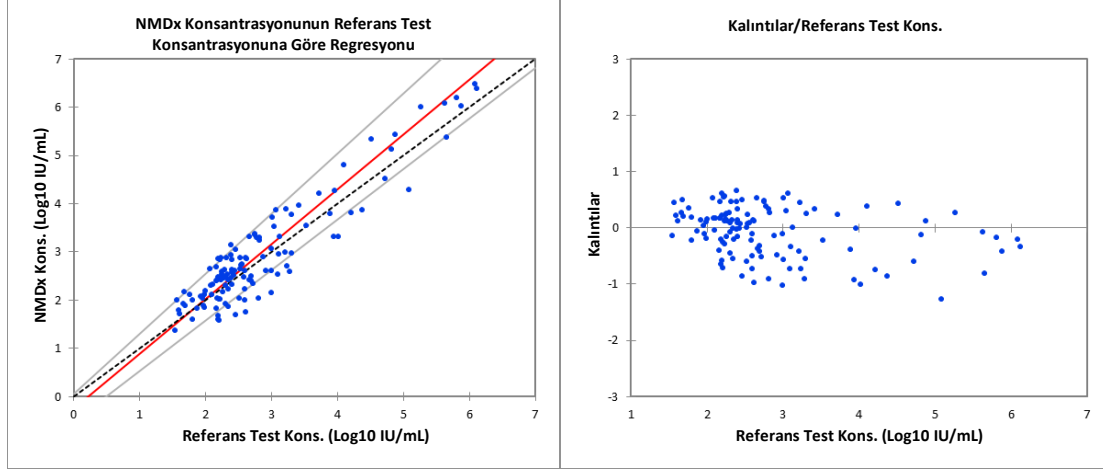
### Klinik Yöntem Karşılaştırması

NeuMoDx CMV Quant Assay'in kantitatif performansı, CMV ile enfekte olan hastalardan seyreltilmemiş klinik numuneler test edilerek, FDA/CE karşılaştırma tayinlerine göre değerlendirilmiştir. Test, dört harici referans laboratuvarından elde edilen, tanıtıcı bilgileri gizlenmiş, kalıntı, klinik numuneler ile tek kör çalışma ile NeuMoDx'te kurum içi olarak gerçekleştirilmiştir. Birden fazla NeuMoDx Molecular System arasında, (tek) körlü çalışma yöntemiyle NeuMoDx CMV Quant Assay kullanılarak toplam 284 plazma numunesi işlenmiştir.

NeuMoDx Molecular System'larda görülen işleme ve sistem hataları minimum düzeyde olmuştur ve kriterleri karşılamıştır. Örnekler için toplamda 3 Indeterminate (IND) (Şüpheli) sonuç elde edilmiş, bu da %95 CI (%0,27-3,32) ile %1 genel ilk IND (Şüpheli) oranıyla sonuçlanmıştır. Bu 3 numuneyi normal iş akışında tekrar işlemek için yeterli hacim kalmamıştır. Başlangıçta 10 Unresolved (UNR) (Çözümlememiş) sonuç elde edilmiştir ancak UNR (Çözümlememiş) sonuçları için Basematrix'te 1:10 oranında dilüsyon için CMV Quant Assay tarafından önerilen prosedür izlendiğinde, uygun şekilde seyreltilen 10 UNR (Çözümlememiş) örneğin tümünün tekrar testi yapıldığında geçerli sonuçlar elde edilmiştir. Dolayısıyla, yetersiz hacim nedeniyle tekrar testi yapılamayan Indeterminate (Şüpheli) sonuçlardan ötürü Toplam İşleme Hata Oranı, %95 CI (%0,27-%3,3) ile %1,06 olmuştur.

Quantitation Error (Kantitasyon Hatası) bayrağı oluşturan 4 örnek olmuş, bu 4 örneğin 3'ünde, geçerli bir kantitatif sonuç elde etmek adına Basematrix'te örneğin 1:10 oranında bir dilüsyonunun kullanıldığı önerilen prosedür uyarınca tekrar testi yapılabilmektedir. Çalışmada elde edilen 283 geçerli sonuçtan, 129 örnek, referans testler tarafından atanan ilgili konsantrasyon değerleriyle birlikte NeuMoDx CMV Assay tarafından Positive (Pozitif) olarak raporlanmıştır. Bu örneklerden altısından beşinin referans test tarafından LLOQ altında olduğu raporlanmış ve birinin ULOQ üzerinde olduğu raporlanmıştır. Dolayısıyla toplam 123 örneğin, hem NeuMoDx CMV Quant Assay hem de referans CE-IVD testleri tarafından atanan ilgili konsantrasyon değerleri mevcut olmuştur ve bu örnekler kantitatif korelasyon analizinde kullanılmıştır. Deming Regresyon ve Passing-Bablok Regresyon analizleri, NeuMoDx CMV Assay ile elde edilen konsantrasyon değerleri ile referans testler tarafından raporlanan değerleri korele etmek için kullanılmıştır.

Deming Regresyon uyumu ve Passing-Bablok uyumu kullanılarak test edilen tüm örnekler için NeuMoDx CMV Quant Assay konsantrasyonları ve referans testlerin konsantrasyon değerleri arasındaki korelasyonu temsil etmek üzere eşdeğerlik grafikleri oluşturulmuştur ve *Şekil 5*'te sunulmuştur.



**Şekil 5:** Eşdeğerlik (sol) ve Kalıntı (sağ) Grafikleri – NeuMoDx CMV Quant Assay Sonuçlarının Passing-Bablok Regresyon Analizine dayalı TÜM örnekler için Referans Test Sonuçlarıyla Kıyaslanmış Kümülatif Analizi (her iki NeuMoDx System'da da).

Deming Regresyon uyumunun kalitesi, %95 CI (1,0, 1,2) ile 1,1 değerinde eğim katsayısı ve %95 CI (-0,39, 0,03) ile -0,18 değerinde bir kesişim (yanlılık) ile gösterilmiştir. Bu da, NeuMoDx CMV Quant Assay ile Referans testlerde elde edilen konsantrasyon sonuçlarının, kabul edilebilir yanlılık değeriyle birbiriyle yüksek ölçüde korele olduğunu göstermiştir. Passing-Bablok doğrusal uyumunun kalitesi, %95 CI (1,0, 1,2) ile 1,1 değerinde eğim katsayısı ve %95 CI (-0,51, 0,06) ile -0,24 değerinde bir kesişim (yanlılık) ile gösterilmiştir. Bu da, NeuMoDx CMV Quant Assay ile Referans testlerde elde edilen konsantrasyon sonuçlarının, *Tablo 12*'de gösterildiği gibi, kabul edilebilir yanlılık değeriyle birbiriyle yüksek ölçüde korele olduğunu göstermiştir.

**Tablo 12:** Deming ve Passing-Bablok Doğrusal Regresyon Analizinin Özeti

Deming Analizi		Passing-Bablok Analizi	
Kesişim	Eğim Katsayısı	Kesişim	Eğim Katsayısı
-0,18	1,1	-0,24	1,1
%95 CI (-0,39, 0,03)	%95 CI (1,0, 1,2)	%95 CI (-0,51, 0,06)	%95 CI (1,0, 1,2)

### REFERANSLAR

- Centers for Disease Control (CDC). Cytomegalovirus (CMV) and Congenital CMV Infection. (2018). Retrieved from <https://www.cdc.gov/cmV/clinical/features.html>
- Kraft, C. S., Armstrong, W. S., & Caliendo, A. M. (2012). Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: understanding the laboratory perspective. *Clinical infectious diseases*, 54(12), 1793-1797.
- A Ross, S., Novak, Z., Pati, S., & B Boppana, S. (2011). Overview of the diagnosis of cytomegalovirus infection. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 11(5), 466-474.
- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5<sup>th</sup> edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

### TİCARİ MARKALAR










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

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

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

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

### SEMBOLLER

SEMBOL	ANLAMI
<b>R only</b>	Yalnızca reçete ile kullanılır
	Üretici
<b>IVD</b>	<i>In vitro</i> tanı amaçlı tıbbi cihaz
<b>EC REP</b>	Avrupa Topluluğu yetkili temsilcisi
<b>REF</b>	Katalog numarası
<b>LOT</b>	Parti kodu
	Son kullanma tarihi
	Sıcaklık limiti
	Nem sınırlaması
	Tekrar kullanmayın
	<n> test için yeterli içerik
	Kullanma talimatına bakın
	Dikkat
	Biyolojik riskler
<b>CE</b>	CE işareti



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

Sponsor (AUS):  
QIAGEN Pty Ltd  
Level 2 Chadstone Place  
1341 Dandenong Rd  
Chadstone VIC 3148  
Australia



Emergo Europe B.V.  
Westervoortsedijk 60  
6827 AT Arnhem  
The Netherlands



Teknik destek/Vijilans raporlaması: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents