

**REF** 201500 NeuMoDx™ EBV 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 EBV Quant Assay plazmadaki insan Epstein-Barr virüsü (EBV) DNA'sının kantitasyonuna yönelik otomatik ve *in vitro* bir nükleik asit amplifikasyon testidir. NeuMoDx 288 Molecular System ve NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System'lar) üzerinde uygulanan NeuMoDx EBV Quant Assay, hedef nükleik asidi plazmadan izole etme amaçlı otomatik DNA ekstraksiyonunu ve Epstein-Barr virüsü genomundaki yüksek ölçüde korunmuş iki bölgeyi hedefleyen gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunu (Polymerase Chain Reaction, PCR) içerir.

NeuMoDx EBV Quant Assay, NeuMoDx 288 ve NeuMoDx 96 Molecular System'lar kullanılarak taze ve dondurulmuş insan plazma numunelerindeki Epstein-Barr virüsü DNA'sının *in vitro* saptanması ve kantitasyonuna yöneliktir. NeuMoDx EBV Assay, EBV enfeksiyonlarının teşhisi ve izlenmesinde kullanıma yöneliktir. Tayin, antiviral tedaviye verilen yanıtı değerlendirme amacıyla EBV DNA seviyelerini ölçmek için kullanılabilir. Bu tayinin, EBV enfeksiyonunun klinik yönetimi ve izlenmesi amacıyla klinik tablo ve hastalığın ilerlemesine ilişkin diğer laboratuvar göstergeleri ile birlikte kullanılması amaçlanmıştır. Tayin, kan veya kan ürünlerinde EBV varlığına yönelik bir tarama testi olarak kullanıma yönelik değildir.

**ÖZET VE AÇIKLAMA**

Plazmanın hazırlanması için, antikoagülasyon ajanı olarak EDTA içeren steril kan toplama tüplerinde toplanan insan tam kanı kullanılabilir. Testi başlatmak için NeuMoDx System ile uyumlu bir numune tüpünde bulunan plazma, bir numune tüp taşıyıcısına yerleştirilir ve NeuMoDx System çalışma tablasına yüklenir. Her bir numune için plazma örneğinin 250 µL'lik bir alikotu NeuMoDx Lysis Buffer 5 ile karıştırılır ve NeuMoDx System, hedef nükleik asidi ekstrakte etmek, gerçek zamanlı PCR amplifikasyonu için izole DNA'yı hazırlamak ve mevcutsa amplifikasyon ürünlerini (EBV genomundaki iki adet yüksek ölçüde korunmuş bölge) amplifiye etmek ve saptamak için gerekli tüm adımları otomatik olarak gerçekleştirir. NeuMoDx EBV Quant Assay, ekstraksiyon ve amplifikasyon işlemlerinde karşılaşılabilecek NeuMoDx System veya reaktif hatalarının ve potansiyel olarak inhibe edici maddelerin varlığını izlemeye yardımcı olması amacıyla bir DNA Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC1) içerir.

EBV, her yaşta insanı enfekte eden, insan herpes virüsü ailesine ait yaygın ve çift sarmallı bir DNA virüsüdür. Dünya genelinde >90 oranında kişinin EBV ile enfekte olduğu veya önceden enfekte olmuş olduğu tahmin edilmektedir.<sup>1</sup> EBV; tükürük, kan ve semen gibi vücut sıvılarıyla ve organ transplantı yoluyla yayılır. Birçok kişi EBV ile çocuklukta enfekte olur. Bu kişiler, EBV ile enfekte oldukları sürece tipik olarak belirti vermezler. Bağışıklık yetmezliği olan kişiler EBV enfeksiyonundan kaynaklı olarak daha şiddetli semptomlar ve komplikasyonlar geliştirebilirler. Latent EBV enfeksiyonu en çok transplant sonrası hastalar için risk teşkil eder. Transplant sonrası lenfoproliferatif hastalıklar (Post-Transplant Lymphoproliferative Disorder, PTLD) arasında, herhangi bir türde organ transplantasyonu yapılan hastalarda morbidite ve mortalitenin en önemli nedenlerinden olan<sup>2</sup> ve EBV'nin immün kontrolünde immünoşüpresif ajanların etkisinden kaynaklı olarak B hücrelerinde EBV etkisiyle meydana gelen tümör oluşumu yer alır.

EBV viral yük izlemesinin kullanımı, EBV ile ilişkili PTLD'nin teşhisini ve yönetimini kolaylaştırır. Bununla birlikte, EBV ile ilişkili PTLD'nin teşhisinde kandaki EBV nükleik asidinin saptanması yeterli değildir. Nükleik asit testi (Nucleic Acid Testing, NAT) yalnızca, EBV ile enfekte olan hastaların klinik yönetimi ve izlenmesi amacıyla, klinik tablo ve hastalık ilerlemesine ilişkin diğer laboratuvar göstergeleri ile birlikte kullanılmalıdır. Bağışıklık yetmezliği olan kişilerde EBV enfeksiyonlarının yönetimi ve tedavisine ilişkin mevcut yönergeler antiviral tedavinin *ne zaman* başlatılacağı konusunda belirsiz olsa da, bu yönergelerin tümü, antiviral tedavi başlatıldıktan sonra, bu tür popülasyonlarda ilaçların şiddetli yan etkilerinin hafifletilmesinde yardımcı olması için viral yükün sürekli izlenmesini gerektirir.<sup>3,4</sup>

**PROSEDÜR PRENSİPLERİ**

NeuMoDx System üzerindeki NeuMoDx EBV Quant Assay, analizi gerçekleştirmek için NeuMoDx EBV Quant Test Strip, NeuMoDx EBV Calibrator'lar, NeuMoDx EBV External Control'lar, NeuMoDx Lysis Buffer 5 ve NeuMoDx genel kullanım reaktiflerini kullanır. NeuMoDx EBV Quant Assay, gerçek zamanlı PCR ile otomatik DNA ekstraksiyonu, amplifikasyonu ve saptamasını bir araya getirir. Tam kan numuneleri, plazmanın hazırlanması amacıyla EDTA tüplerinde toplanır. NeuMoDx System ile uyumlu bir numune tüpündeki plazma numunesi, bir Numune Tüpü Taşıyıcısına yerleştirilir ve işlenmek üzere NeuMoDx System çalışma tablasına yüklenir. 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, EBV'ye özgü hedefler ve SPC1'in PCR amplifikasyonu için gerekli olan tüm öğeleri içeren tescilli NeuDry™ amplifikasyon reaktiflerini rehidre etmek için elüsyonu yapılmış 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 bölmesinde gerçekleşir. NeuMoDx Cartridge ayrıca, gerçek zamanlı PCR'nin ardından amplikonu tutmak ve böylece temel olarak, amplifikasyon sonrası kontaminasyon riskini ortadan kaldırmak üzere tasarlanmıştır.

NeuMoDx EBV Quant Assay, EBV genomundaki yüksek ölçüde korunmuş iki bölge olan BALF5 ve BXFL1'i hedefler. İkili hedef tasarımı, mutasyon durumunda yanlış negatif riskini azaltarak tayinin sağlamlığını artırır. 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 yakınlığın kaybolmasına neden olarak FRET kaynaklı baskılama etkisinin aşılmasına yol açar ve floroforun floresansı ile saptanmasını sağlar. Saptanan floresan sinyali, salınan florofor ile doğru orantılıdır ve mevcut olan hedef DNA miktarı ile korele edilebilir.

5' uçta florofor ile etiketli (490/521 nm), 3' uçta ise koyu baskılayıcı ile etiketlenmiş bir TaqMan probu, EBV DNA'sının saptanmasında kullanılır. SPC1 saptanmasında TaqMan probu, 5' uçta alternatif bir floresan boya (535/556 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 sonucu (POSITIVE (POZİTİF)/NEGATIVE (NEGATİF)/INDETERMINATE (ŞÜPHELİ)/UNRESOLVED (ÇÖZÜMLENMEMİŞ)) raporlar. Sonuç POSITIVE (POZİTİF) ise NeuMoDx System yazılımı ayrıca, hesaplanan konsantrasyonun kantitasyon limitleri dışında olması durumunda örnek ile ilişkili kantitatif bir değer sağlar veya raporlar.

### REAKTİFLER/SARF MALZEMELERİ

#### Sağlanan Materyal

REF	İçindekiler	Birim başına test	Paket başına test
201500	<b>NeuMoDx EBV Quant Test Strip</b> EBV ve SPC1'e özgü TaqMan prob ve primerlerini içeren kurutulmuş PCR reaktifleri.	16	96

#### Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Ek Materyaller (NeuMoDx'ten Ayrı Olarak Temin Edilebilir)

REF	İçindekiler
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> Kurutulmuş paramanyetik partiküller, litik enzim ve örnek işleme kontrolleri
800500	<b>NeuMoDx EBV Calibrator'lar</b> Standart eğrinin geçerliliğini belirlemek için tek kullanımlık EBV Yüksek ve Düşük Kalibratör setleri
900501	<b>NeuMoDx EBV External Control'lar</b> NeuMoDx EBV Quant Assay'in günlük geçerliliğini belirlemek için tek kullanımlık EBV Pozitif ve Negatif Kontrol setleri
400900	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 5</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 EBV Quant Assay, yalnızca NeuMoDx System'lar ile *in vitro* tanı amaçlı kullanım içindir.
- Numuneler, her zaman enfeksiyöz gibi düşünülerek ve Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories<sup>5</sup> ile CLSI Belgesi M29-A4<sup>6</sup> içinde açıklananlar gibi güvenli laboratuvar prosedürleri doğrultusunda kullanılmalıdır.
- Pozitif bir sonuç EBV DNA'sının varlığına işaret eder.
- NeuMoDx EBV Quant Assay'in performansı, NeuMoDx System kullanımı ve enfeksiyöz materyallerin ele alınması konusunda eğitilmiş personel tarafından kullanım sınırlıdır.
- 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 (yüksek ve düşük NeuMoDx EBV Calibrator'lar [REF 800500] işlenerek oluşturulur) bulunmalıdır.
- NeuMoDx EBV Quant Assay ile test boyunca 24 saatte bir olmak üzere NeuMoDx EBV External Control'ların [REF 900501] işlenmesi gerekir.
- İkincil alikotların minimum numune hacmi, aşağıda tanımlandığı şekilde tüp boyutu/numune tüpü taşıyıcısına bağlıdır. Belirtilen minimum değer in altındaki hacim "Quantity Not Sufficient" (Miktar Yeterli Değil) hatasına neden olabilir.
- Uygun olmayan sıcaklıklarda veya belirtilen saklama sürelerinden daha uzun süreliğine saklanan numunelerin kullanımı geçersiz veya hatalı sonuçlar verebilir.
- Tüm reaktiflerin ve sarf malzemelerinin mikrobiyal ve deoksiribonükleaz (DNaz) kontaminasyonundan her zaman 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 EBV 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 EBV Quant Test Strip'in veya NeuMoDx Extraction Plate'in folyo mührüne veya NeuMoDx Lysis Buffer 5 kabının 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 kullanıldığı yerlerde sigara içmeyin ve bir şey yiyip içmeyin.
- Kullanılmayan reaktifleri ve atığı, ülkeye özel, federal, bölgesel, eyalete özel ve yerel yönetmelikler doğrultusunda bertaraf edin.

### ÜRÜNÜ SAKLAMA, KULLANMA VE STABİLİTE

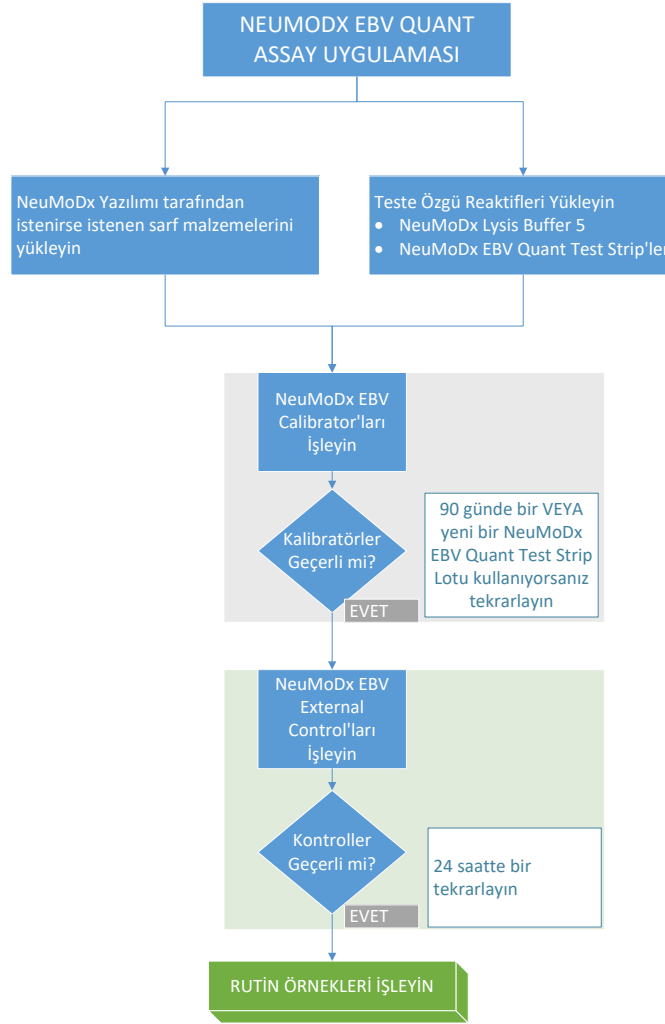
- NeuMoDx EBV Quant Test Strip'ler, 18 ila 23 °C sıcaklıkta saklandığında, birincil ambalajı içinde, ürünün üzerindeki etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir.
- Belirtilen son kullanma tarihi geçmiş sarf malzemelerini ve reaktifleri kullanmayın.
- Birincil veya ikincil ambalajının hasar gördüğü görsel olarak tespit edilen hiçbir test ürününü kullanmayın.
- Başka bir NeuMoDx System'a önceden yüklenmiş hiçbir test ürününü yeniden yüklemeyin.
- NeuMoDx EBV Quant Test Strip, yüklendikten sonra, NeuMoDx System üzerinde 14 gün boyunca kalabilir. Yüklü test şeritlerinin kalan raf ömrü yazılım tarafından takip edilir ve kullanıcıya gerçek zamanlı olarak bildirilir. Sistem, izin verileden daha uzun süreliğine kullanılmış test şeritlerinin çıkarılmasını ister.
- NeuMoDx EBV Calibrator'lar ve NeuMoDx EBV External Control'lar, enfeksiyöz olmasa da, laboratuvar biyolojik tehlikeli atığında kullanım sonrasında içerikteki hedef nükleik asit ile kontaminasyon riskini azaltmak için laboratuvar biyolojik tehlikeli atığına atılmalıdır.

### NUMUNE TOPLAMA, TAŞIMA VE SAKLAMA

*Tüm numuneleri, enfeksiyöz ajan bulaştırma olasılığı varmış gibi kullanın.*

- Tam kanı veya birincil tüplerde saklanan hiçbir numuneyi dondurmayın.
- Plazma numunelerini hazırlamak için tam kan, antikoagülan olarak EDTA kullanılarak steril tüplerde toplanmalıdır. Numune toplama tüpü üreticisinin talimatlarını izleyin.
- 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.
- Hazırlanan plazma numuneleri, işlenmeden önce NeuMoDx System'da 8 saate kadar kalabilir. İlave saklama süresi gerekiyorsa numunelerin soğutulması veya dondurulması önerilir.
- Hazırlanan plazma numuneleri testten önce, 7 günü aşmamak kaydıyla 2 ila 8°C sıcaklıkta ve oda sıcaklığında maksimum 8 saat saklanmalıdır.
- Hazırlanan plazma numuneleri, plazma için, işlenmeden önce 8 haftaya kadar <-20 °C'de saklanabilir. Plazma örnekleri, kullanılmadan önce 2'nin üzerinde dondurma/çözdürme döngüsüne tabi tutulmamalıdır.
  - Örnekler dondurulmuşsa örneklerin oda sıcaklığında (15-30 °C) tamamen çözünmesini bekleyin; eşit dağılımlı bir örnek elde etmek için vorteksleyin.
  - Dondurulmuş örnekler çözdürüldükten sonra 8 saat içinde test gerçekleştirilmelidir.
- Gönderilen numuneler ambalajlanmalı ve uygun ülke düzenlemeleri ve/veya uluslararası düzenlemeler ile uyumlu bir şekilde etiketlenmelidir.
- Numuneleri anlaşılır bir şekilde etiketleyin ve numunelerin EBV testi için olduğunu belirtin.
- Test Hazırlığı bölümüne ilerleyin.

NeuMoDx EBV Quant Assay'in genel uygulama süreci aşağıda Şekil 1 üzerinde özetlenmiştir.



Şekil 1: NeuMoDx EBV Quant Assay Uygulaması İş Akışı

## KULLANMA TALİMATI

### Test Hazırlığı

1. Numune barkod etiketini, NeuMoDx System ile uyumlu numune tüpüne uygulayın.
2. Aşağıda tanımlanan hacimlere göre, NeuMoDx System ile uyumlu olan barkodlu numune tüpüne, plazmanın bir alikotunu aktarın:
  - Numune Tüpü Taşıyıcısı (32 tüplü): 11-14 mm çap ve 60-120 mm yükseklik; minimum dolum hacmi  $\geq 400$  mL
  - Numune Tüpü Taşıyıcısı (24 tüplü): 14,5-18 mm çap ve 60-120 mm yükseklik; minimum dolum hacmi  $\geq 850$  mL

### 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 carrier'ı, NeuMoDx EBV 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 Kutusunu uygun şekilde boşaltın.
4. NeuMoDx System yazılımı tarafından istenirse Calibrator'ları [REF 800500] ve/veya External Control'ları [REF 900501] 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 EBV Quant Test Strip yalnızca NeuMoDx System'lar üzerinde kullanılabilir.
- NeuMoDx EBV Quant Test Strip'in performansı, antikoagülan olarak EDTA ile toplanan tam kandan hazırlanan plazma numuneleri için belirlenmiştir. NeuMoDx EBV Quant Test Strip'in değerlendirilmemiş başka klinik numune türleri ile kullanımı değerlendirilmemiştir ve testin diğer numune türleri için performans özellikleri bilinmemektedir.
- EBV saptaması örnekte bulunan virüslerin 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 tüplerinin yanlış tanımlanması sonucu hatalı sonuçlar elde edilebilir. Bunlara ek olarak, örnekteki viral partiküllerin sayısı NeuMoDx EBV 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 EBV hedeflerinin hem de SPC1 hedefinin amplifiye etmemesi durumunda geçersiz bir sonuç (Indeterminate (Şüpheli) veya Unresolved (Çözümlememiş)) raporlanır ve testin tekrarlanması gerekir.
- NeuMoDx EBV Quant Assay sonucu Positive (Pozitif) ancak kantitasyon değeri kantitasyon limitlerinin ötesindeyse NeuMoDx System, saptanan EBV'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 EBV'nin LLoQ'nun altında olması durumunda NeuMoDx EBV Quant Assay, numunenin başka bir alikotu ile (istenirse) tekrarlanabilir.
- Saptanan EBV'nin ULoQ'nun üstünde olması durumunda NeuMoDx EBV Quant Assay, orijinal numunenin seyreltilmiş bir alikotu ile tekrarlanabilir. EBV negatif plazma veya Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare, Milford, MA) içinde 1:100 veya 1:1000 oranında bir dilüsyon önerilir. Sistem, orijinal numunenin konsantrasyonunu aşağıda belirtildiği şekilde otomatik olarak hesaplar: Tekrarlama öncesinde seyreltme faktörü yazılımda uygun şekilde seçildiği sürece orijinal numune konsantrasyonu = log10 (seyreltme faktörü) + seyreltilmiş örneğin raporlanan konsantrasyonu olur.
- 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 aktif viral enfeksiyona işaret etmez. Pozitif bir sonuç daha ziyade, Epstein-Barr Virüsü DNA'sı varlığının olası olduğu anlamına gelir.
- Gerçekleşme olasılığı çok düşük olsa da, NeuMoDx EBV Quant Assay tarafından hedeflenen her iki korunmuş EBV genomu bölgesindeki silinme veya mutasyonlar, saptamayı etkileyebilir veya NeuMoDx EBV Quant Test Strip kullanılırken hatalı bir sonuca yol açabilir.
- NeuMoDx EBV 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 EBV Quant Assay sonuçları NeuMoDx System yazılımı tarafından, NeuMoDx EBV Tahlil Tanımlama Dosyasında (EBV Assay Definition File, EBV ADF) belirtilen karar algoritması ve sonuç işleme parametreleri kullanılarak otomatik olarak oluşturulur. NeuMoDx EBV Quant Assay sonucu, hedefin ve örnek işleme kontrolünün amplifikasyon durumuna dayalı olarak Negative (Negatif), raporlanan EBV 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 EBV Quant Assay Karar Algoritması**

Sonuç	EBV	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) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (VE) } EP \geq 1500]$	Uygulanamaz
Positive (Pozitif), Üst Kantitasyon Limitinin [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] üzerinde ( $\text{Log}_{10}$ IU/mL)	[CONC] (KONS.) $> 8,0 \text{ Log}_{10}$ IU/mL, NO QUANT (MİKTAR YOK)	Uygulanamaz
Positive (Pozitif), Alt Kantitasyon Limitinin [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] altında ( $\text{Log}_{10}$ IU/mL)	[CONC] (KONS.) $< 2,3 \text{ Log}_{10}$ IU/mL, NO QUANT (MİKTAR YOK)	Uygulanamaz
Negative (Negatif)	Uygulanamaz OR (VEYA) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND (VE) } EPR \leq 2]$ OR (VEYA) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (VE) } EP < 1500]$ OR (VEYA) $Ct > 38$	AMPLIFIED (AMPLİFİYE) ( $29 \leq Ct \leq 35$ ) and (ve) $EP \geq 2000$
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 EBV'nin  $\text{Log}_{10}$  IU/mL cinsinden ifade edilen hesaplanmış miktarı. Aşağıdaki Test Hesaplaması kısmına bakın.

### Test Hesaplaması

- NeuMoDx EBV Quant Assay'in Kantitasyon aralığında olan örnekler söz konusu olduğunda, örneklerdeki EBV DNA'sı konsantrasyonu, saklanan standart eğri kalibrasyon katsayısıyla birlikte kullanılarak hesaplanır.
  - Belirli bir NeuMoDx System'da, her bir NeuMoDx EBV Quant Test Strip lotu için Standart Eğri geçerliliğini belirlemek üzere işlenen NeuMoDx EBV Calibrator'ların sonuçlarına dayalı olarak bir "kalibrasyon katsayısı" hesaplanır.
  - Kalibrasyon katsayısı, System tarafından otomatik olarak, EBV DNA'sı konsantrasyonunun nihai tayininde kullanılır.
- NeuMoDx EBV Quant Assay sonuçları  $\text{Log}_{10}$  IU/mL cinsinden raporlanır.
- Bilinmeyen örneklerin nihai kantitasyonu, Nükleik Asit Amplifikasyon Teknikleri için Epstein-Barr Virüsüne yönelik 1. WHO Uluslararası Standardına göre izlenebilir.

### Test Kalibrasyonu

Numunelerdeki EBV 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

- NeuMoDx EBV Calibrator'lar bir kit [REF 800500] içinde sağlanır ve Basematrix içinde hazırlanmış, enfeksiyöz olmayan kapsül içinde EBV hedefi içerir.
- NeuMoDx System'a yeni bir EBV Tahlil Tanımlama Dosyası yüklenmişse, mevcut kalibratör setinin geçerlilik süresi (90 güne ayarlıdır) dolmuşsa veya NeuMoDx System yazılımı üzerinde değişiklik yapılmışsa Her yeni NeuMoDx EBV Quant Test Strip lotu ile birlikte bir EBV kalibratör setinin işlenmesi gerekir.
- NeuMoDx System yazılımı, kullanıcıyı, kalibratörlerin işlenmesi gerektiğinde bilgilendirir; kalibratörler başarılı bir şekilde işlenene kadar yeni bir test şeridi lotu test için kullanılamaz.

4. 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 4 Log<sub>10</sub> IU/mL, Yüksek Kalibratör nominal hedefi ise 6 Log<sub>10</sub> IU/mL'dir.
  - c) Kalibrasyon katsayısı, test şeridi lotları arasında beklenen farklılığı dikkate alacak şekilde hesaplanır. Bu kalibrasyon katsayısı, nihai EBV konsantrasyonunun belirlenmesinde kullanılır.
5. Bir veya her iki kalibratörün geçerlilik kontrolünde başarısız olması durumunda başarısız kalibratörlerin işlemlerini, 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.
6. 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

1. Pozitif kontrollere yönelik Basematrix içinde enfeksiyöz olmayan kapsüle alınmış EBV hedefi içeren harici kontrol materyalleri, NeuMoDx EBV External Control'ların [REF 900501] bulunduğu bir kit içinde NeuMoDx Molecular, Inc. tarafından sağlanır.
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 gerekliyse bir set harici kontrolü dondurucudan alın ve şişelerin oda sıcaklığında (15-30 °C) çözülmesini bekleyin. Homojenliği sağlamak için nazikçe vorteksleyin.
4. 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 tanıyın 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, EBV Positive (EBV Pozitif) bir sonuç, negatif kontrol ise EBV Negative (EBV 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 her iki durumda da, geçerlilik testinde başarısız olan kontrollerin bulunduğu yeni çözülürmüş bir şişeye NeuMoDx EBV external control'ları tekrarlayın.
  - d) Pozitif NeuMoDx EBV external control Negative (Negatif) sonuç raporlamaya devam ederse NeuMoDx müşteri hizmetleri ile iletişime geçin.
  - e) Negatif NeuMoDx EBV external control Positive (Pozitif) sonuç raporlamaya devam ederse NeuMoDx müşteri hizmetleri ile iletişime geçmeden önce, TÜM reaktifleri ve sarf malzemelerini 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 EBV Quant Test Strip'e eklenerek, multipleks gerçek zamanlı PCR aracılığıyla, hedef EBV DNA'sı (varsa) ile SPC1'in varlığının saptanmasını sağlar. SPC1 amplifikasyonunun saptanması, NeuMoDx System yazılımının DNA ekstraksiyonunun ve PCR amplifikasyon işlemlerinin etkililiğini izlemesini sağlar.

NeuMoDx System üzerinde gerçekleştirilen bir NeuMoDx EBV Quant Assay'ın 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, EBV 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 EBV Quant Assay'in Analitik Duyarlılığı, Nükleik Asit Amplifikasyon Teknikleri için EBV'ye yönelik 1. WHO Uluslararası Standardına uygun düşük dilüsyonda eklenmiş EBV negatif plazma numuneleri test edilerek onaylanmıştır. Bu onay testi, NeuMoDx EBV Quant Assay'in 200 IU/mL'de NeuMoDx System'larda beklenen Saptama Limitinde (Limit of Detection, LoD) gerçekleştirilmiştir. LoD,  $\geq 95$  oranına saptanacak en düşük hedef seviyesi olarak tanımlanmıştır. Çalışma, birçok sistem arasında, uygun NeuMoDx reaktif lotları ile gerçekleştirilmiştir. Saptama oranları *Tablo 2*'de gösterilmektedir.

**Tablo 2:** NeuMoDx EBV Quant Assay LoD Tayini; Plazma Numuneleri için Pozitif Saptama Oranı

Hedef Konsantrasyon [IU/mL]	PLAZMA		
	Geçerli Testlerin Sayısı	Pozitiflerin Sayısı	Saptama Oranı
200	120	117	%97,5
0	60	0	%0

#### Analitik Duyarlılık – Alt Kantitasyon Limiti (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

Alt Kantitasyon Limiti (Lower Limit of Quantitation, LLoQ),  $>95$  saptama oranına ulaşılan VE toplam analitik hatanın (Total Analytic Error, TAE)  $\leq 1,0$  olduğu en düşük hedef seviyesi olarak tanımlanır. 200 IU/mL'yi EBV Quant Assay için hem LoD hem de LLoQ olarak onaylamak için TAE'yi belirleme amacıyla doğruluk oranı çalışma sonuçları kullanılmıştır. Bu hesaplanan TAE aşağıdaki şekilde tanımlanmıştır:

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

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

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

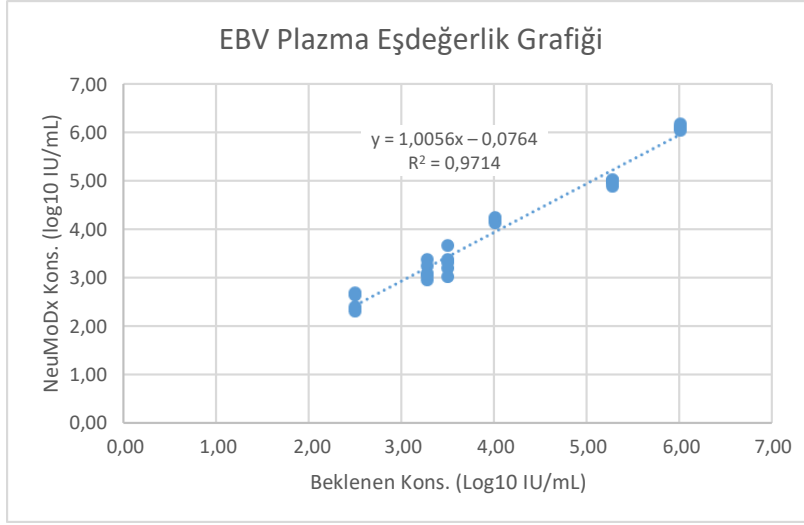
Hedef Kons. [IU/mL]	Hedef Kons. [Log <sub>10</sub> IU/mL]	Plazma				
		Ortalama Kons. [Log <sub>10</sub> IU/mL]	Saptama (%)	SD	Yanlılık	TAE
200	2,30	2,35	97,5	0,28	0,05	0,61

Bu çalışmaların sonucuna dayalı olarak, NeuMoDx EBV Quant Assay'in LoD ve LLoQ değerlerinin her ikisi de 200,0 IU/mL [2,30 Log<sub>10</sub> IU/mL] olarak belirlenmiştir.

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

NeuMoDx EBV Quant Assay'in doğrusallığı ve Üst Kantitasyon Limiti (Upper Limit of Quantitation, ULoQ), belirlenen izlenebilirliği EBV'ye yönelik 1. WHO Uluslararası Standardına uygun olan NeuMoDx kapsül içinde EBV hedefi ve Exact EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) kullanılan bir dilüsyon serisi hazırlanarak plazma içinde belirlenmiştir. 2,0-8,0 Log<sub>10</sub> IU/mL konsantrasyon aralığını kapsayacak bir panel oluşturmak üzere, havuzda birleştirilmiş EBV negatif plazma içinde 10 üyeli bir panel hazırlanmıştır. NeuMoDx EBV Quant Assay'in ULoQ değerinin 8,0 Log<sub>10</sub> IU/mL olduğu belirlenmiştir. Standart eğrinin doğrusallığını değerlendirmek için bir doğrulama paneli hazırlanmıştır ve NeuMoDx System tarafından raporlanan EBV tayin konsantrasyonları, beklenen değerler ile karşılaştırmalı olarak şurada sunulmaktadır: *Şekil 2*.





Şekil 2: NeuMoDx EBV Quant Assay'in Doğrusallığı

### Analitik Özgüllük – Çapraz Reaktivite

Analitik özgüllük, kan/plazma numunelerinde bulunabilen 35 organizmanın yanı sıra EBV'ye filogenetik olarak benzeyen türler çapraz reaktivite bakımından taranarak ortaya konmuştur. Yüksek konsantrasyonda organizmalar, 5-6 organizmalık havuzlarda hazırlanmıştır. Test edilen organizmalar *Tablo 4*'te gösterilmektedir. Test edilen hiçbir organizmada, NeuMoDx EBV Quant Assay'in %100 analitik özgüllüğünü doğrulayan hiçbir çapraz reaktivite gözlemlenmemiştir.

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

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

NeuMoDx EBV Quant Assay, EBV klinik plazma numunelerinde karşılaşılan tipik eksojen ve endojen olumsuz etkileyen maddelerin varlığında değerlendirilmiştir. Bunlara, anormal ölçüde yüksek seviyede kan bileşenlerinin yanı sıra, *Tablo 5* içinde sınıflandırılan yaygın antiviral ve immünoşüpresan ilaçlar da dahildir. Her madde, 3 Log<sub>10</sub> IU/mL EBV eklenmiş taranmış EBV negatif insan plazmasına eklenmiş ve örnekler olumsuz etkileşim bakımından analiz edilmiştir. Bunlara ek olarak, EBV enfeksiyonu ile ilişkili yaygın hastalık durumu plazması da olası etkileşim bakımından test edilmiştir. Test edilen tüm maddelerin ortalama konsantrasyonu ve yanlılığı, aynı seviyede EBV eklenmiş kontrol örnekleri ile karşılaştırmalı olarak *Tablo 6*'da raporlanmıştır. Eksojen ve endojen maddelerden hiçbiri, NeuMoDx EBV Quant Assay'in özgüllüğünü etkilememiştir.

**Tablo 5:** Etkileşim Testi – Eksojen Ajanlar (ilaç 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 (EBV)		Everolimus	İmmünoşüpresan
	Valgansiklovir hidroklorür	Antiviral (EBV)		Klavulanat potasyum	Antibiyotik
Havuz 2	Prednizon	Kortikosteroid/İmmünoşüpresan	Havuz 5	Famotidin	Histamin reseptör antagonisti
	Sidofovir	Antiviral (EBV)		Sulfametoksazol	Antibiyotik
	Sefotetan	Antibiyotik (geniş spektrumlu)		Valasiklovir	Antiviral (Herpesviridae)
	Sefotaksim	Antibiyotik (geniş spektrumlu)		Letermovir	Antiviral (EBV)
	Flukonazol	Antifungal		Tikarsilin disodyum	Antibiyotik
Havuz 3	Mikofenolat mofetil	İmmünoşüpresan	Leflunomid	İmmünoşüpresan	
	Mikofenolat sodyum	İmmünoşüpresan			
	Piperasilin	Antibiyotik			
	Sirolimus/Rapamisin	İmmünoşüpresan			
	Tazobaktam	Modifiye antibiyotik			

**Tablo 6:** Etkileşim Testi – Eksojen ve Endojen Ajanlar

Endojen	Ortalama Kons.	Yanılık
	Log <sub>10</sub> IU/mL	Log <sub>10</sub> IU/mL
Hemoglobin	3,20	0,23
Trigliseritler	3,15	0,28
Bilirubin	3,48	-0,05
Albümin	3,2	0,22
Eksojen (ilaçlar)	Ortalama Kons.	Yanılık
	Log <sub>10</sub> IU/mL	Log <sub>10</sub> IU/mL
Havuz 1: Azatioprin, Siklosporin, Foskarnet, Gansiklovir, Valgansiklovir hidroklorür	3,30	0,13
Havuz 2: Prednizon, Sidofovir, Sefotetan, Sefotaksim, Flukonazol	3,22	0,21
Havuz 3: Mikofenolat mofetil, Mikofenolat sodyum, Piperasilin, Sirolimus/Rapamisin, Tazobaktam	3,36	0,07
Havuz 4: Trimetoprim, Vankomisin, Takrolimus, Everolimus, Klavulanat potasyum	3,32	0,11
Havuz 5: Famotidin, Sulfametoksazol, Letermovir, Valasiklovir, Tikarsilin disodyum, Leflunomid	3,47	-0,10
Hastalık Durumu	Ortalama Kons.	Yanılık
	Log <sub>10</sub> IU/mL	Log <sub>10</sub> IU/mL
Sistemik Lupus Eritematozus (SLE)	3,23	0,20
Antinükleer Antikor (ANA)	3,33	0,10
Romatoid Artrit (RA)	3,19	0,24

### Laboratuvar İçi Hassasiyet

NeuMoDx EBV Quant Assay'in hassasiyeti, iki gün boyunca iki NeuMoDx 288 System ve bir NeuMoDx 96 System kullanılarak, günde üç defa, EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) ile hazırlanan EBV numunelerinden oluşan 4 üyeli bir panelin 3 tekrarı test edilerek belirlenmiştir. Çalışma içi, gün içi ve Sistem içi hassasiyetler karakterize edilmiş ve genel standart sapmanın  $\leq 0,33 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$  olduğu belirlenmiştir. Sistemler, günler ve çalışmalar arasında, *Tablo 7*'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 7:** Laboratuvar İçi Hassasiyet – NeuMoDx System'larda NeuMoDx EBV Quant Assay

Hedef EBV Kons. [ $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ ]	Ortalama EBV Kons. [ $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ ]	Sistem İçi SD	Gün İçi SD	Çalışma İçi SD	Genel (Laboratuvar İçi) SD
5,2	5,30	0,27	0,25	0,25	0,27
4,2	4,25	0,21	0,21	0,12	0,21
3,2	3,38	0,22	0,20	0,20	0,22
2,7	3,03	0,30	0,30	0,30	0,33

### Lotlar Arası Yeniden Üretilirlik

NeuMoDx EBV Quant Assay'in Lotlar Arası Yeniden Üretilirliği, Kalifikasyon Testinin (Qualification Testing, QT) bir parçası olarak, temel reaktiflerden oluşan üç lot (NeuMoDx EBV Quant Test Strip'ler ve Lysis Buffer 5) değerlendirilerek belirlenmiştir. Performansı değerlendirmek için EBV pozitif plazmanın 4 üyeli bir paneli kullanılmıştır (*Tablo 8*). Lot içi ve lotlar arası farklılık analiz edilmiş ve sonuçlar *Tablo 8-9*'da sunulmuştur. NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strip'ler için maksimum genel yanlışlık  $0,03 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$  ve maksimum genel standart sapma  $0,20 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$  olmuştur. NeuMoDx Lysis Buffer 5 için maksimum genel yanlışlık  $0,12 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$  ve maksimum genel standart sapma (Standard Deviation, SD)  $0,41 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$  olmuştur. Tüm panel üyelerinin kantitasyonu tolerans spesifikasyonu dahilinde olduğu için lotlar arasında eşdeğer performans ortaya konmuştur.

**Tablo 8:** Lotlar Arası Yeniden Üretilirlik – NeuMoDx EBV Quant Assay, Test Strip

Hedef EBV Kons. [ $\text{IU/mL}$ ]	Ortalama EBV Kons. [ $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ ]	N (Lot Başına Geçerli Sonuçlar)	Yanlışlık	Lotlar Arası SD	Lot İçi SD	Genel SD
5,0	4,98	18	0,02	0,06	0,08	0,10
4,0	3,98	18	0,02	0,08	0,09	0,12
3,0	3,02	18	0,02	0,06	0,10	0,12
2,0	2,03	18	0,03	0,05	0,20	0,20

**Tablo 9:** Lotlar Arası Yeniden Üretilirlik – NeuMoDx EBV Quant Assay, Lysis Buffer 5

Hedef EBV Kons. [ $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ ]	Ortalama EBV Kons. [ $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ ]	N (Lot Başına Geçerli Sonuçlar)	Yanlışlık	Lotlar Arası SD	Lot İçi SD	Genel SD
5,0	4,97	5	0,03	0,05	0,03	0,06
4,0	3,96	5	0,04	0,22	0,10	0,24
3,0	3,03	5	0,03	0,09	0,11	0,15
2,0	2,12	5	0,12	0,39	0,13	0,41

### Örnek İşleme Kontrolünün Etkinliği

Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC1), NeuMoDx EBV Quant Assay'e, işleme adımı hatalarını veya tayinin performansını olumsuz etkileyen inhibisyonu raporlamak üzere eklenmiştir. NeuMoDx CMV Quant Assay model olarak kullanılarak, SPC1'in etkinliği, örnek işleme sırasında potansiyel olarak gerçekleşebilecek ve NeuMoDx System performans izleme sensörleri tarafından *saptanamayabilecek* kritik işleme adımı hatalarını temsil eder nitelikte koşullar altında plazma numuneleri için test edilmiştir. Sitomegalovirüs pozitif numuneler ( $3 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ 'de) ve negatif numuneler, şu koşullar altında değerlendirmeye tabi tutulmuştur: inhibitör varlığı, yıkama solüsyonu iletilmedi ve yıkama üfleme yok. Viral hedef 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 SPC1 saptaması veya viral hedef saptaması ve kantitasyonu üzerinde önemli bir olumsuz etki oluşturmadığı ortaya konmuştur. Dolayısıyla SPC1, NeuMoDx System'da tayin performansını etkili bir şekilde izleme konusunda başarı göstermiştir.

**Tablo 10:** Plazmada viral DNA için Örnek İşleme Kontrolünün Etkinliği\*

Test Edilen İşleme Adımı Hatası	Örnek İşleme Kontrolü 1 Amplifikasyon Durumu	CMV Hedefi Amplifikasyon Durumu	Tayın Sonucu
Presence of Inhibitor (İnhibitör 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)	Kontrolün 0,3 Log <sub>10</sub> IU/mL dahilinde Kantitasyon ile Positive (Pozitif)

\*Plazma numunelerindeki Sitomegalovirüs (Cytomegalovirus, CMV), Örnek İşleme Kontrolü Etkinliği değerlendirmesinde model sistem olarak kullanılmıştır.

### Çapraz kontaminasyon

Plazma numuneleri için çapraz kontaminasyon oranı, kanla bulaşan benzer bir DNA virüsü olan Sitomegalovirüsün (Cytomegalovirus, CMV) yüksek pozitif ve negatif örnekleri dönüşümlü olarak işlenerek belirlenmiştir. Dama düzenindeki testin üç seti, CMV negatif plazmanın toplam 108 kopyası ve 6,0 Log<sub>10</sub> IU/mL'de CMV eklenen plazmanın 108 kopyası ile gerçekleştirilmiştir. Negatif numunenin 108 tekrarının tümü negatif olarak raporlanmıştır. Bu da, NeuMoDx System'da plazma örneği işleme sırasında çapraz kontaminasyon gerçekleşmediğini göstermektedir.

### Numune Matriks Eşdeğerliği

Model olarak kanla bulaşan benzer bir virüs olan CMV kullanılarak, taze ve dondurulmuş plazma numuneleri arasındaki eşdeğerliği göstermek için test yapılmıştır. 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 çözündürülmüş ve yeniden test edilmiştir. Taze/dondurulmuş plazma numunelerinin sonuçları, regresyon analizi kullanılarak eşdeğerlik bakımından karşılaştırılmıştır. Veriler, 1,0 eğim ve çok düşük yanlılık (kesişim) ile, aşağıdaki *Tablo 11*'de sunulduğu şekilde taze ve dondurulmuş plazma numuneleri arasında mükemmel eşdeğerlik sergilemiştir.

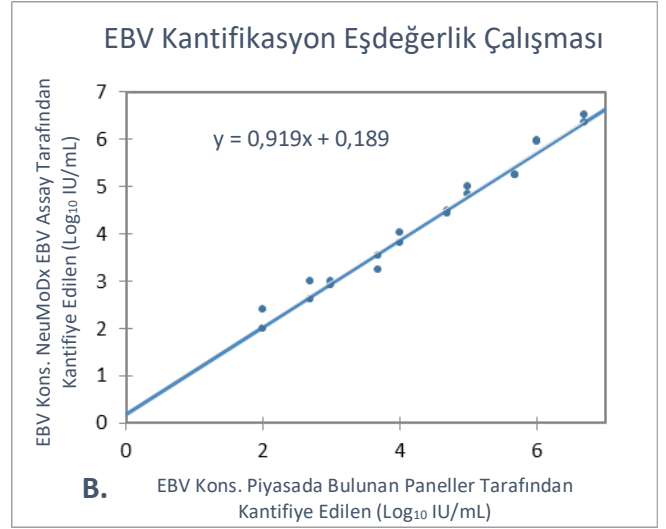
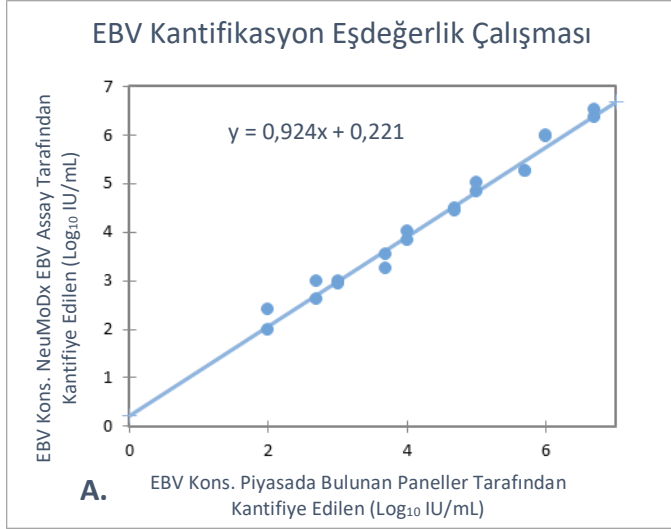
**Tablo 11:** Numune Matriks Eşdeğerliği

Parametre Gerekliliği	Taze/Dondurulmuş EDTA
Eğim [0,9-1,1]	1,000
Kesişim <0,5 Log <sub>10</sub> IU/mL	0,020
p değeri > 0,05	0,631

### Kantitasyon Performansı Karakterizasyonu

NeuMoDx EBV Quant Assay'in kantitatif performansı, AcroMetrix ve Exact Diagnostics'in piyasada bulunabilen iki EBV Doğrulama Paneli (EBV)'ye yönelik 1. WHO Uluslararası Standardına göre izlenebilir) NeuMoDx Molecular System'larda işlenerek karakterize edilmiştir.

Deming Regresyonu (*Şekil 3A*) veya Passing-Bablok yöntemi (*Şekil 3B*) ile analiz yapıldığında, NeuMoDx EBV Quant Assay ile piyasada bulunabilen iki EBV doğrulama paneli (*Şekil 3*) arasında mükemmel korelasyon elde edilmiştir.



**Şekil 3. AcroMetrix ve Exact Diagnostics Doğrulama Panelleri ile NeuMoDx EBV Quant Assay Arasındaki Eşdeğerlik Grafiği.**

**A. Deming yöntemi kullanılarak doğrusal regresyon analizi. B. Passing-Bablok yöntemi kullanılarak doğrusal regresyon analizi.**

Deming Regresyon uyumunun kalitesi, 0,92 değerinde bir genel eğim katsayısı ve 0,22 değerinde bir kesişim (yanlılık) ile gösterilmiştir. Bu da, NeuMoDx EBV Quant Assay ile EBV Doğrulama Panellerinden elde edilen konsantrasyon sonuçlarının, kabul edilebilir yanlılık ile birbirleriyle korele olduğunu ortaya koymuştur. Passing-Bablok doğrusal uyumu da, NeuMoDx EBV Quant Assay ile EBV Doğrulama Panellerinden elde edilen sonuçlar arasındaki korelasyonun büyüklüğünü, 0,92 değerinde bir genel eğim katsayısı ve 0,19 değerinde bir kesişim (yanlılık) ile desteklemiştir. Passing-Bablok analizinin *p* değeri 0,40 olarak hesaplanmıştır.

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

Deming Analizi		Passing-Bablok Analizi	
Kesişim	Eğim Katsayısı	Kesişim	Eğim Katsayısı
0,22	0,92	0,19	0,92
%95 CI (-0,11, 0,55)	%95 CI (0,86, 0,99)	%95 CI (-0,08, 0,41)	%95 CI (0,87, 0,99)

### REFERANSLAR

1. Epstein-Barr virus infection. N Engl J Med. 2000 Aug 17;343(7):481-92.
2. Epstein-Barr Virus–Positive Posttransplant Lymphoproliferative Disease After Solid Organ Transplantation: Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Management. Transplant Direct. 2016 Jan; 2(1): e48.
3. Evidence based clinical practice guideline for management of EBV-associated post-transplant lymphoproliferative disease (PTLD) in solid organ transplant. Cincinnati Children’s Hospital Medical Center. 2011- June, revised Jan, 2012.  
<https://www.guidelinecentral.com/summaries/evidence-based-clinical-practice-guideline-for-management-of-ebv-associated-post-transplant-lymphoproliferative-disease-ptld-in-solid-organ-transplant/>
4. Epstein-Barr Virus and Posttransplant Lymphoproliferative Disorder in Solid Organ Transplant Recipients. American Journal of Transplantation 2009; 9 (Suppl 4): S87–S96. doi: 10.1111/j.1600-6143.2009.02898.x
5. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
6. 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.

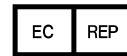
SEMBOLLER

SEMBOL	ANLAMI
R only	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 İşareti



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