

Real Time PCR Detection Kit

HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum Assay
for BD MAX™ System
Kullanım kılavuzu

Bu kullanım talimatları aşağıdaki referanslar için geçerlidir:

ÜRÜN	REFERANS
VIASURE <i>HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum</i> Assay for BD MAX™ System	444222

Tablo A 1. BD MAX™ System ile kullanılacak ürün için referans.

EN For download IFUS from other languages, please enter in **certest.es/viasure/labeling**. Once you be there, please following the instructions for access to the language that you need. If you need additional information, please contact: viasure@certest.es.

BG За да изтеглите IFUS на други езици, моля, отидете на **certest.es/viasure/labeling**. След това следвайте инструкциите, за да получите достъп до необходимия ви език. Ако имате нужда от допълнителна информация, моля, свържете се с: viasure@certest.es.

CS Chcete-li si stáhnout IFUS v jiných jazycích, přejděte na stránku **certest.es/viasure/labeling**. Jakmile se tam dostanete, postupujte podle pokynů pro přístup k požadovanému jazyku. Pokud potřebujete další informace, kontaktujte prosím: viasure@certest.es.

DA Hvis du vil downloade IFUS på andre sprog, kan du gå til **certest.es/viasure/labeling**. Når du er der, skal du følge instruktionerne for at få adgang til det sprog, du har brug for. Hvis du har brug for yderligere oplysninger, kan du kontakte: viasure@certest.es.

DE Um den IFUS in anderen Sprachen herunterzuladen, gehen Sie bitte zu **certest.es/viasure/labeling**. Wenn Sie dort sind, folgen Sie den Anweisungen, um auf die gewünschte Sprache zuzugreifen. Wenn Sie weitere Informationen benötigen, wenden Sie sich an: viasure@certest.es.

EL Για να κατεβάσετε το IFUS σε άλλες γλώσσες, μεταβείτε στη διεύθυνση **certest.es/viasure/labeling**. Μόλις φτάσετε εκεί, ακολουθήστε τις οδηγίες για να αποκτήσετε πρόσβαση στη γλώσσα που χρειάζεστε. Εάν χρειάζεστε πρόσθετες πληροφορίες, επικοινωνήστε με τη διεύθυνση: viasure@certest.es.

ES Para descargar las IFUS en otros idiomas, por favor, entre en **certest.es/viasure/labeling**. Una vez esté allí, siga las instrucciones para acceder al idioma que necesite. Si necesita información adicional, contacte: viasure@certest.es.

ET IFUSi allalaadimiseks teistes keeltes külastage **certest.es/viasure/labeling**. Kui olete seal, järgige juhiseid, et saada juurdepääs vajalikule keelele. Kui vajate lisateavet, võtke palun ühendust: viasure@certest.es.

FR Pour télécharger l'IFUS dans d'autres langues, veuillez vous rendre sur **certest.es/viasure/labeling**. Une fois sur place, suivez les instructions pour accéder à la langue dont vous avez besoin. Si vous avez besoin d'informations supplémentaires, contactez: viasure@certest.es.

HR Za preuzimanje IFUS-a s drugih jezika unesite **certest.es/viasure/labeling**. Kada ste tamo, slijedite upute za pristup jeziku koji vam je potreban. Ako trebate dodatne informacije, obratite se na: viasure@certest.es.

HU Az IFUS más nyelveken történő letöltéséhez kérjük, látogasson el a certest.es/viasure/labeling weboldalra. Ha ott van, kövesse az utasításokat a kívánt nyelv eléréséhez. Ha további információra van szüksége, kérjük, forduljon a következő címre: viasure@certest.es.

IT Per scaricare l'IFUS in altre lingue, vai su certest.es/viasure/labeling. Una volta che sei lì, segui le istruzioni per accedere alla lingua di cui hai bisogno. Se hai bisogno di ulteriori informazioni, contatta: viasure@certest.es.

LT Norėdami atsisiųsti IFUS kitomis kalbomis, eikite į certest.es/viasure/labeling. Ten atlikite nurodymus, kad pasiektumėte reikiamą kalbą. Jei reikia papildomos informacijos, kreipkitės adresu: viasure@certest.es.

LV Lai lejupielādētu IFUS citās valodās, lūdzu, apmeklējiet certest.es/viasure/labeling. Pēc tam izpildiet norādījumus, lai piekļūtu vajadzīgajai valodai. Ja nepieciešama papildu informācija, lūdzu, sazinieties ar: viasure@certest.es.

NB For å laste ned IFUS fra andre språk, gå inn på certest.es/viasure/labeling. Når du er der, kan du følge instruksjonene for å få tilgang til det språket du trenger. Hvis du trenger ytterligere informasjon, kan du kontakte: viasure@certest.es.

PT Para baixar o IFUS em outros idiomas europeus, acesse certest.es/viasure/labeling. Uma vez lá, siga as instruções para acessar o idioma que você precisa. Se você precisar de informações adicionais, entre em contato: viasure@certest.es.

RO Pentru a descărca IFUS în alte limbi, vă rugăm să accesați certest.es/viasure/labeling. Accesat site-ul, urmați instrucțiunile pentru a selecta limba necesară. Pentru informații suplimentare, contactați: viasure@certest.es.

SV För att ladda ner IFUS från andra språk, vänligen gå in på certest.es/viasure/labeling. När du är där följer du instruktionerna för att få tillgång till det språk du behöver. Om du behöver ytterligare information, vänligen kontakta: viasure@certest.es.

SK Ak si chcete stiahnuť IFUS v iných jazykoch, prejdite na stránku certest.es/viasure/labeling. Keď sa tam dostanete, postupujte podľa pokynov a získajte prístup k požadovanému jazyku. Ak potrebujete ďalšie informácie, obráťte sa na: viasure@certest.es.

FI Lataa suomeksi turvallinen käyttöopas osoitteesta certest.es/viasure/labeling. Kun olet siellä, seuraa ohjeita. Jos tarvitset lisätietoja, ota yhteyttä: viasure@certest.es.

Diliniz listede yoksa certest.es/viasure/labeling adresine danışın. Diliniz listede yoksa viasure@certest.es adresine başvurun.

Not: Kullanıcı, ürünle ilgili herhangi bir ciddi olayı üreticiye ve kullanıcı ve/veya hasta olarak yerleşik olduğu Üye Devletin yetkili makamına bildirmelidir.

İçerik

1. Kullanım amacı.....	6
2. Özet ve Açıklama	6
3. Prosedür ilkesi	7
4. Verilen reaktifler	8
5. Kullanıcı tarafından tedarik edilecek olan reaktifler ve ekipman	8
6. Taşıma, depolama ve kullanım koşulları	9
7. Kullanıcılara için önlemler	9
8. Test prosedürü	11
8.1. Numunelerin toplanması, taşınması ve saklanması	11
8.2. Numunelerin hazırlanması ve DNA ekstraksiyonu.....	13
8.3. PCR protokolü	13
8.3.1. VIASURE HSV-1, HSV-2 & <i>Treponema pallidum</i> Assay for BD MAX™ System için PCR test programı oluşturma	13
8.3.2. BD MAX™ Rack kurulumu	17
8.3.3. BD MAX™ Cihaz kurulumu.....	18
8.3.4. BD MAX™ sonuç raporu	18
9. Sonuçların yorumlanması	19
10. Testin kısıtlamaları	21
11. Kalite kontrol	22
12. Analitik Performans özellikleri.....	23
12.1. Analitik lineerlik.....	23
12.2. Analitik duyarlılık	24
12.2.1. Boş Limit (LoB).....	24
12.2.2. Tespit Limiti (LoD)	24
12.3. Ölçüm aralığı	24
12.4. Doğruluk.....	25
12.4.1. Gerçeklik.....	25
12.4.2. Hassasiyet.....	26

12.4.3.	Doğruluk.....	29
12.5.	Analitik özgüllük ve reaktivite.....	29
12.5.1.	Analitik Özgüllük.....	29
12.5.2.	Analitik reaktivite.....	35
12.6.	Metrolojik izlenebilirlik.....	36
13.	Klinik performans özellikleri	36
	Bibliyografi.....	38
	IVD bileşenlerinin ve reaktiflerin sembolleri	39
	Ticari markalar	39

TÜRKÇE

1. Kullanım amacı

VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, sağlık profesyoneli (HCP) tarafından HSV-1, HSV-2 ve *T. pallidum* enfeksiyonu şüphesiyle değerlendirilen hastalardan alınan anogenital ve oral cilt lezyonları sürüntü örneklerinde Herpes simplex virüs 1 (HSV-1), Herpes simplex virüs 2 (HSV-2) ve *Treponema pallidum* (Sifiliz) DNA'sının eş zamanlı kalitatif tespiti için tasarlanmış otomatik bir qPCR testidir. Bu test, hastanın klinik belirti ve semptomları ve/veya epidemiyolojik risk faktörleri ile birlikte yukarıda belirtilen mikroorganizmayla enfeksiyonun teşhisinde yardımcı olarak kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Pozitif sonuçlar, nükleik asit (NA) hedefinin var olduğunu gösterir ancak test tarafından saptanamayan diğer patojenlerin varlığını dışlamaz. Negatif sonuçlar, NA hedeflerinin varlığını dışlamaz ve tedavi veya diğer hasta yönetimi kararları için yegane dayanak olarak kullanılmamalıdır. Analiz, DNA'nın otomatik ekstraksiyonu için BD MAX™ System'i kullanır ve ardından BD MAX™ sistemi için evrensel reaktifler ve atılabilir maddeler ile birlikte sağlanan reaktiflerin kullanıldığı qPCR'yi kullanır. DNA, örneklerden ekstrakte edilir, qPCR kullanılarak çoğaltılır ve HSV-1, HSV-2 ve *T. pallidum* için spesifik primerler ve floresan haberci boyalı probalar kullanılarak saptanır.

Ürün, özellikle gerçek zamanlı PCR ve *in vitro* diagnostik prosedürleri tekniklerinde (Gerçek Zamanlı PCR cihazı (termal döngüleyici) ve nükleik asit ekstraksiyon sistemi eğitimi dahil) nitelikli ve eğitilmiş klinik laboratuvar personeli tarafından kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

2. Özet ve Açıklama

İnsan Herpes Simplex Virüsü (HSV) tip 1 ve 2, dünya çapında en yaygın virüslerden ikisidir ve genellikle uçuk, genital herpes, herpes stromal keratiti, menenjit ve ensefalit gibi hastalıklarla ilişkilendirilir (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). HSV öncelikle cilt ve mukoza zarlarını etkileyen, atens dönem ve reaktivasyon evrelerinden oluşan kalıcı enfeksiyonlara neden olan bir virüstür (Cole, 2020; Minaya et al., 2017). HSV-1 ve HSV-2'nin bulaşması oral temas yoluyla gerçekleşirken, HSV-2 enfeksiyonları genellikle cinsel yolla bulaşma ile ortaya çıkar ve bu virüslerin klinik belirtileri asemptomatik, hafif veya yaşamı tehdit edici olacak şekilde son derece değişkenlik gösterir (Cole, 2020; WHO, 2023; Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). HSV immün sistemi normal çalışan pek çok kişide hafif ve kendiliğinden iyileşen bir hastalığa neden olur (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Ancak HSV enfeksiyonu, tekrarlayan HSV enfeksiyonu yaşayan immün yetmezlik hastaları gibi belirli kişilerde yüksek morbidite ve mortalite riskleriyle ilişkilendirilmiştir (Cole, 2020; Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). HSV'nin bir türüyle enfeksiyonun tipik olarak aynı serotiple yeniden enfeksiyonu önleyen bağışıklık oluşturduğu ancak diğer serotiplerle yeniden enfeksiyonu önleyemediği belirtilmiştir (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021).

Spiroket *Treponema pallidum*, cinsel yolla bulaşan frengi, yaws, endemik frengi ve pinta hastalıklarının etken ajanı olarak kabul edilmektedir. Bunların hepsi, yalnızca klinik, epidemiyolojik ve coğrafi kriterlere göre ayırt edilebilen çok aşamalı enfeksiyonlardır (Mercuri et al., 2022; Peeling et al., 2023; Radolf et al., 2016; Tudor et al., 2022). *T. p. pertenue* yaws ile, *T. carateum* pinta ile ve *T. p. endemicum* endemik frengi ile ilişkilendirilirken, *T. pallidum* alt türü *pallidum* cinsel yolla bulaşan frengi ile ilişkilendirilen tek alt türdür (Mercuri et al., 2022; Tudor et al., 2022).

Frengi, birincil frengide şankrlar ve ikincil frengide döküntüler veya ülserler gibi her biri farklı belirti ve semptomlar gösteren birden fazla aşamadan oluşur (CDC, 2023; Mercuri et al., 2022; Peeling et al., 2023). Aslında frengi, klinik belirtilerinin çeşitliliği nedeniyle “büyük taklitçi” olarak adlandırılmaktadır (Peeling et al., 2023; Tudor et al., 2022). Bu hastalık, tarih boyunca çeşitli risk altındaki popülasyonları etkilemiştir ve 1998 yılında neredeyse ortadan kaldırılmış olmasına rağmen, 2000 yılından bu yana görülme sıklığı artmaktadır (Mercuri et al., 2022).

HSV-1’i HSV-2’den ayıran testlerin yapılması her zaman önerilir, çünkü bu testler hem prognozu hem de tedaviyi etkiler. CDC, klinik tanının spesifik viroloji ve seroloji testleriyle doğrulanmasını önermektedir (Cole, 2020). Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile HSV-1 ve HSV-2 DNA’sının saptanması akut genital HSV enfeksiyonlarının teşhisi için güvenilir bir laboratuvar yöntemidir (Cole, 2020). *T. pallidum* ile ilgili olarak, bu patojen kültürde üretilmediği için laboratuvar teşhisinde doğrudan tespit ve serolojik testler kullanılmaktadır (Forrestel et al., 2020). Ancak serolojik testler, patojenik treponemalar arasındaki yüksek genetik benzerlik nedeniyle frengiyi diğer treponema enfeksiyonlarından ayırt edemez (Forrestel et al., 2020). PCR gibi nükleik asit amplifikasyon teknikleri, bakteriyel DNA’nın klinik örneklerde hastalığın erken evrelerinde tespit edilmesini sağlar ve yüksek duyarlılıkları nedeniyle frengi salgınının kontrol altına alınması için potansiyel bir strateji sunar (Peeling et al., 2023).

3. Prosedür ilkesi

VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System anogenital ve oral cilt lezyonu sürüntü örneklerinde Herpes simplex virüs 1 (HSV-1), Herpes simplex virüs 2 (HSV-2) ve *Treponema pallidum* (Sifiliz) DNA’sının eş zamanlı olarak kalitatif tespiti için tasarlanmıştır. DNA izolasyonunun ardından, HSV-1’in *glikoprotein L UL1* geninin, HSV-2’nin *glikoprotein G US4* geninin ve *T. pallidum*’un *16S rRNA* geninin korunmuş bir bölgesinin çoğaltılması yoluyla HSV-1, HSV-2 ve *T. pallidum*’un tanımlaması yapılır.

VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, DNA polimerazının 5’ekzonükleaz aktivitesine dayanır. DNA amplifikasyonu sırasında, bu enzim tamamlayıcı DNA dizisine bağlı probu ayırarak, söndürücü (quencher) boyanın raportörden (raportör boyadan) ayrılmasını sağlar. Bu reaksiyon, hedef şablonun miktarıyla orantılı olan floresan sinyalinde bir artış meydana getirir. Bu floresans BD MAX™ System’de ölçülür.

VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System'in her bir tüpünde kararlı bir şekilde gerçek zamanlı PCR testi için gerekli olan tüm bileşenler (spesifik primerler/probler, dNTP'ler, tampon, polimeraz)¹, ayrıca numunenin bütünlüğünü izlemek, ekstraksiyon sürecini izlemek ve/veya polimeraz aktivitesinin inhibisyonunu değerlendirmek için endojen bir dahili kontrol (EIC) (*insan RNase P* geni) bulunmaktadır. İnsan housekeeping genleri temel hücresel işlevlerde rol oynar ve bu nedenle tüm çekirdekli insan hücrelerinde bulunması ve nispeten sabit ekspresyon seviyelerini muhafaza etmesi beklenir.

Hedef	Kanal	Gen
HSV-1	475/520	<i>Glikoprotein L UL1</i> geni
HSV-2	530/565	<i>Glikoprotein G US4</i> geni
<i>T. pallidum</i>	630/665	<i>16S rRNA</i> geni
Endojen Dahili Kontrol (EIC)	585/630	<i>RNase P</i>

Tablo 1. Hedef, kanal ve genler.

4. Verilen reaktifler

VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, Tablo 2'de detaylandırılan malzemeleri ve reaktifleri içerir:

Reaktif/Materyal	Açıklama	Konsantrasyon Aralığı	Barkod	Miktar
<i>HSV-1</i> , <i>HSV-2</i> & <i>Treponema pallidum</i> reaction tube	Lioprotektörler ve Stabilizatörler	±6 g/100 mL*	1E folyo	12 şeffaf tüp içeren 2 poşet
	Nükleotid trifosfat (dNTP'ler)	±1 mM*		
	Primerler ve Probler	0,2-1 nMol/μL*		
	Enzimler	10-100 U/rxn*		
Rehydration Buffer tube	Salin Çözeltisi Karışımı	±13 mM	11 folyo	24 şeffaf tüp içeren 1 poşet
	Tampon (TRIS, pH)	±67 mM		

Tablo 2. VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ile sağlanan reaktifler ve malzemeler, Kat. N°. 444222.

* Stabilize formatlı bileşen için konsantrasyon aralığı, rehidratasyondan sonra anlamına gelir.

5. Kullanıcı tarafından tedarik edilecek olan reaktifler ve ekipman

Aşağıdaki listede, VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System'da bulunmayan ancak kullanım için gerekli olan malzemeler yer almaktadır.

- Gerçek Zamanlı PCR cihazı: BD MAX™ System (Ref: 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (Ref:442827 veya 442828).
- BD MAX™ PCR Cartridges (Ref: 437519).
- Vorteks.

¹"Stabilize" ve "liyofilize" terimlerinin her ikisinin de tüm belge boyunca ayırt edilmeksizin ve eşanlamlı olarak kullanıldığını lütfen unutmayın.

- Mikropipetler (2–1000 µL aralığında hassas ölçüm yapabilen).
- Nükleaz içermeyen su.
- Filtre uçları.
- Pudrasız tek kullanımlık eldivenler.

Opsiyonel:

- Harici kontrol materyalleri, test performansının kalite kontrol prosedürünün bir parçası olarak kullanılabilir. Ticari olarak temin edilebilen kontrol materyali ve/veya önceden pozitif veya negatif olarak karakterize edilen numuneler sırasıyla harici pozitif kontrol (EPC) veya harici negatif kontrol (ENC) olarak kullanılabilir. EPC ve ENC'nin seçimi ve validasyonu, ilgili yerel, eyalet ve/veya federal düzenlemelere ve laboratuvarın standart kalite kontrol prosedürlerine uygun olarak yapılmalıdır. Ayrıca, ticari olarak temin edilebilen kontrol materyali kullanılırken, kullanıcı mevcut kullanım talimatlarını uymalıdır.

6. Taşıma, depolama ve kullanım koşulları

- Kitler, kit etiketinde belirtilen son kullanma tarihine kadar 2-30°C'de sevk edilip saklanabilir.
- Sıvı sızıntısını önlemek için taşıma sırasında titreşimlerden kaçının.
- Reaksiyon tüplerinin bulunduğu alüminyum poşet açıldıktan sonra ürün 2-30°C'de 28 gün içinde kullanılabilir. Şişeyi ışıktan uzak tutun.

Aşağıdaki tabloda tüm kitin ve her bir bileşenin taşınması, depolanması ve kullanımına ilişkin koşullar özetlenmektedir:

Bileşen	Taşıma Koşulları	Saklama Koşulları	Kullanım koşulları
Tüm VIASURE <i>HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum</i> Assay for BD MAX™ System	Kit etiketinde belirtilen raf ömrü boyunca 2-30°C.	Kullanmadan önce: Kit etiketinde belirtilen raf ömrü boyunca 2-30°C.	* Her bir bileşenin kullanım koşullarına bakın.
<i>HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum</i> reaction tube (1E folyo)		Kullanmadan önce: Kit etiketinde belirtilen raf ömrü boyunca 2-30°C. Silika jel bulunan torba açıldıktan sonra: 2-30°C, 28 güne kadar.	Oda sıcaklığı.
Rehydration Buffer tube		Kullanmadan önce: Kit etiketinde belirtilen raf ömrü boyunca 2-30°C. Silika jel bulunan torba açıldıktan sonra: 2-30°C, 28 güne kadar.	Oda sıcaklığı.

Tablo 3. VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ve her bir bileşen için taşıma, saklama ve kullanım koşullarının özeti.

7. Kullanıcılara için önlemler

- Ürün, gerçek zamanlı PCR teknikleri ve in vitro tanı prosedürleri konusunda nitelikli ve eğitilmiş klinik laboratuvar personeli tarafından kullanılmak üzere tasarlanmıştır.
- *In vitro* tanısal kullanım içindir.
- VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System kullanılmadan önce VIASURE ürününün kullanım kılavuzu ve BD MAX™ Sistemi Kullanıcı Kılavuzu dikkatle okunmalıdır.

Burada açıklanan prosedürler, güvenlik önlemleri ve sınırlamalar hakkındaki bilgiler anlaşılmadan testi gerçekleştirmeyin.

- Son kullanma tarihi geçmiş reaktifleri ve/veya materyalleri kullanmayın.
- Dış kutuyu mühürleyen etiket açılmışsa kiti kullanmayın.
- Koruyucu kutu ulaştığında açılmış veya kırılmışsa reaktifleri kullanmayın.
- Koruyucu poşetler ulaştığında açıksa veya kırılmışsa reaktifleri kullanmayın.
- Reaktif poşetler içinde kurutucu mevcut değilse veya parçalanmışsa reaktifleri kullanmayın.
- Kurutucu maddeyi reaktif poşetlerinden çıkarmayın.
- Folyo kırılmış veya hasar görmüşse reaktifleri kullanmayın.
- Farklı poşetlerden ve/veya kitlerden ve/veya partilerden reaktifleri karıştırmayın.
- Reaktiflerigüneş ışığından korumak için, her kullanımdan sonra reaktiflerin koruyucu torbalarını derhal fermuarla kapatın. Kapatmadan önce poşetlerdeki fazla havayı giderin.
- Reaktifleri neme karşı koruyun. Neme uzun süre maruz kalmak ürün performansını etkileyebilir.
- Etiketin bozulmasını önlemek için ürünü çözücülerin yakınında kullanmayın.
- Reaksiyon karışımının, normalde tüpün altında, normalden farklı (konik şekil olmayan, homojen olmayan, boyut olarak daha küçük/daha büyük ve/veya beyazımsı renkten farklı) stabilize formatta görünümü, testin işlevini değiştirmez.
- BD MAX™ rack kurulumu sırasında reaksiyon tüpü ve rehidrasyon tampon tüpünün yerine sıkıca oturduğundan emin olun.
- Laboratuvarın aynı genel alanında diğer PCR testlerinin yapıldığı durumlarda, VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, BD MAX™ ExK™ TNA-3 extraction kit veya test için gerekli diğer reaktifler ve BD MAX™ System'in kontamine olmamasını sağlamak için dikkatli olunmalıdır. Reaktiflerin mikrobiyal ve ribonükleaz (RNaz)/deoksiribonükleaz (DNaz) kontaminasyonundan daima kaçının. Steril RNaz/DNaz içermeyen, tek kullanımlık, aerosole dirençli veya pozitif deplasmanlı pipet uçlarının kullanılması önerilir. Her numune için yeni uç kullanın. Reaktifler ve kartuşlar (BD MAX™ PCR Cartridge) kullanılmadan önce eldivenler değiştirilmelidir.
- Ortamın amplikonlarla kontaminasyonunu önlemek için, BD MAX™ PCR Cartridge kullandıktan sonra parçalamayın. BD MAX™ PCR Cartridge contaları kontaminasyonu önleyecek şekilde tasarlanmıştır.
- Tek yönlü bir iş akışı tasarlayın. Ekstraksiyon Alanında başlanmalı ve Amplifikasyon ve Tespit Alanında devam edilmelidir. Numuneleri, ekipmanı ve reaktifleri önceki adımın gerçekleştirildiği alana geri götürmeyin.
- İyi Laboratuvar Uygulamalarına Uyun. Koruyucu kıyafet giyin, tek kullanımlık eldivenler, gözlükler ve maske kullanın. Çalışma alanında bir şey yemeyin, içmeyin, sigara kullanmayın veya kozmetik ürünler uygulamayın. Testi bitirdikten sonra ellerinizi yıkayın.
- Numuneler ile numunelere maruz kalan tüm reaktifler ve materyaller potansiyel olarak bulaşıcı ve/veya biyolojik risk taşıyan madde muamelesi görmeli ve ulusal güvenlik düzenlemelerine uygun olarak ele

alınmalıdır. Numunelerin toplanması, taşınması, saklanması, kullanımı ve bertarafı sırasında gerekli önlemleri alın.

- Numuneler ve reaktifler biyolojik güvenlik kabini içinde kullanılmalıdır. Potansiyel olarak bulaşıcı numunelerin işlenmesine yönelik mevcut talimatlara uygun personal protective equipment (PPE) (kişisel koruyucu ekipman) kullanın. Atıkları yerel düzenlemelere ve eyalet düzenlemelerine uygun olarak atın.
- Yaygın olarak kullanılan ekipmanın, özellikle mikropipetler ve çalışma yüzeylerinin düzenli olarak dekontamine edilmesi önerilir.
- (EC) 1907/2006 sayılı (REACH) Yönetmeliği uyarınca, VIASURE Assays for BD MAX™ System sağlığa ve çevreye zararsız olarak sınıflandırıldığı için Malzeme Güvenlik Veri Formlarına (Material Safety Data Sheets) gerek yoktur; çünkü bu ürünler (EC) No 1272/2008 (CLP) Yönetmeliğinde belirtilen tehlike sınıflandırma kriterlerini karşılayan veya beyan için belirtilen düzenlemede belirlenen değerin üzerinde konsantrasyona sahip tehlikeli maddeler ve/veya karışımlar içermemektedir. Malzeme Güvenlik Veri Formuna (Material Safety Data Sheet) gerek olmadığını belirten bir beyan, Certest Biotec S.L. firmasından talep edilebilir.
- BD MAX™ System üzerinde PCR test programının tanımlamasının, “PCR protokolü” (örnek ekstraksiyon parametreleri, özel barkodlar, PCR ayarları vb.) başlığındaki talimatları takip edilerek yapıldığından emin olun.
- Ek uyarılar, önlemler ve prosedürler için BD MAX™ System Kullanıcı El Kitabına bakın.
- Analiz sertifikası cihazla birlikte verilmez; ancak ihtiyaç duyulması halinde Certest Biotec S.L. web sitesinden (www.certest.es) indirilebilir.

8. Test prosedürü

8.1. Numunelerin toplanması, taşınması ve saklanması

VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, Copan ESwab® (Copan's Liquid Amies Elution Swab) kullanılarak toplanan anogenital ve oral cilt lezyonu sürüntü örneklerinde test edilmiştir (bu metinde “doğal cilt lezyonu örnekleri” olarak anılacaktır). Diğer numune türleri kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

Toplanan, saklanan ve taşınan numuneler, kullanıcı tarafından doğrulanan şartlarda muhafaza edilmelidir. Genel olarak, klinik numuneler, taşıma ortamı olan veya olmayan (numune türüne bağlı olarak) temiz kaplarda uygun şekilde toplanmalı ve etiketlenmelidir. Toplandıktan sonra numuneler biyolojik tehlike içeren malzeme torbasına konulmalı ve testin kalitesini garantilemek için mümkün olan en kısa sürede taşınmalı ve işlenmelidir. Örnekler, patojen materyallerin taşınmasına ilişkin yerel ve ulusal düzenlemelere uyularak, oda sıcaklığında (RT) veya $2\pm2^{\circ}\text{C}$ 'de taşınmalıdır ve bu işlem 48 saat içinde tamamlanmalıdır. Uzun süreli taşıma

işlemleri için, taşımayı -20°C veya daha düşük bir sıcaklıkta yapmanızı önerilmektedir². Moleküler testler için alınan örnekler, nükleik asitlerin saklama sırasında bozulmaması için kontrollü koşullarda saklanmalıdır. Test için taze örneklerin kullanılması önerilir, ancak bu mümkün olmadığında veya geriye dönük bir çalışmada numunelerin öncelikle -70 veya -80 °C'de, ikinci seçenek olarak ise -20 °C'de saklanması gerekir³.

Klinik numuneler uygun laboratuvar talimatlarına ve/veya laboratuvar politikaları kılavuzuna uygun şekilde toplanmalı, taşınmalı ve saklanmalıdır. Numuneler için bkz. IDSA guideline (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018). Enfeksiyon hastalıklarının teşhisi için mikrobiyoloji laboratuvarını kullanma rehberi: Infectious Diseases Society of America ve American Society for Microbiology (Amerika Bulaşıcı Hastalıklar Derneği ve Amerikan Mikrobiyoloji Derneği) 2018 güncellemesi. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94) veya Sánchez-Romero, M. I., García-Lechuz Moya, J. M., González López, J. J. & Orta Mira, N. Collection, transport and general processing of clinical specimens in Microbiology laboratory. *Enfermedades Infecc. y Microbiol. Clin.* (İngilizce baskı) 37, 127–134 (2019).

Lütfen unutmayın: Yukarıda belirtilen örnek toplama, taşıma ve saklama koşulları, nükleik asit tespiti için kullanılan genitoüriner sistem örneklerine yönelik öneriler temel alınarak belirlenmiştir ve daha önce belirtilen kılavuzlarda yer alan önerilere dayanmaktadır. Bununla birlikte, numunelerin uygun şekilde taşınması ve korunması için laboratuvar kılavuzlarına ve/veya laboratuvar politika kılavuzuna uymanızı öneririz.

VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ile iç stabilite çalışması, doğal cilt lezyonu negatif matrisinin Human herpesvirus 1, KOS suşu (ATCC® VR-1493 Ref. FR-310 (IRR)), Herpes Simplex Virus Tip 2, MS suşu (Ref. 0810006CF, Zeptomatrix) ve *Treponema pallidum*, SS14 suşu (Washington University) ile 3xLoD konsantrasyonunda zenginleştirilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Stabilite, üç farklı test ile analiz edilmiştir: birincil örnek stabilitesinin 2±2°C ve 25±2°C'de SBT stabilitesi ile birlikte incelendiği iç içe geçmiş test, -20±2°C'de birincil örnek stabilitesi ve dondurma (-80°C) - çözülme döngüleri (25°C). Sonuçlar, saklanan örneklerin test edilen tüm koşullarda iyi bir performans sergilediğini göstermiştir. Sonuç olarak, birincil örnek stabilitesi açısından, doğal cilt lezyonu örnekleri 2±2°C ve 25±2°C'de 48 saat sonra kararlıdır. SBT'de stabilite açısından, örnekler 2±2°C ve 25±2°C'de SBT'de 7 gün sonra kararlıdır (SBT'ye eklenmeden önce 2±2°C ve 25±2°C'de en fazla 48 saat bekletilmiştir). Ayrıca, örnekler -20±2°C'de 6 aylık saklama süresinden ve en az 5 dondurma-çözülme döngüsünden sonra kararlıdır.

² IDSA guideline (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt, B. S. (2018). Enfeksiyon hastalıklarının teşhisi için mikrobiyoloji laboratuvarını kullanma rehberi: Infectious Diseases Society of America ve American Society for Microbiology (Amerika Bulaşıcı Hastalıklar Derneği ve Amerikan Mikrobiyoloji Derneği) 2018 güncellemesi. *Clinical Infectious Diseases* (Klinik Bulaşıcı Hastalıklar), 67(6), e1-e94))

³ Sánchez-Romero, M. I., García-Lechuz Moya, J. M., González López, J. J. & Orta Mira, N. Collection, transport and general processing of clinical specimens in Microbiology laboratory. *Enfermedades Infecc. y Microbiol. Clin.* (İngilizce baskı) 37, 127–134 (2019).

8.2. Numunelerin hazırlanması ve DNA ekstraksiyonu

Numune hazırlama işlemini kullanılan ekstraksiyon kiti olan BD MAX™ ExK™ TNA-3'nin kullanım talimatlarındaki önerilere uyarak gerçekleştirin.

1. Bir BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube içine 500 µL örnek pipetleyin ve tüpü bir septum başlığıyla kapatın. Numuneyi 1 dakika boyunca yüksek hızda vorteksleyerek tamamen karıştırın. BD MAX™ System Operation'a (Kullanımına) geçin.

Not: Vorteksleme işleminin **test çalıştırılmadan** birkaç dakika önce yapıldığından emin olun. Aynı BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube yeniden test için kullanılıyorsa, örneğin uygun şekilde homojenleşmesini sağlamak için testi başlatmadan birkaç dakika önce tüpü **manuel olarak karıştırmak** önerilir.

Uygulamaya özel ekstraksiyon hazırlama prosedürlerinin kullanıcı tarafından geliştirilip doğrulanması gerektiğini ve diğer bazı numunelerin ön işlem gerektirebileceğini unutmayın.

8.3. PCR protokolü

Not: Detaylı talimatlar için lütfen BD MAX™ System Kullanıcı Kılavuzu'na başvurun.

8.3.1. VIASURE HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum Assay for BD MAX™ System için PCR test programı oluşturma

Not: VIASURE HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum Assay for BD MAX™ System testi için program oluşturduysanız 8.3.1 adımı atlayarak doğrudan 8.3.2 adımına geçebilirsiniz.

- 1) BD MAX™ System'in "Run" (Çalıştır) ekranında, "Test Editor" (Test Düzenleyici) sekmesini seçin.
- 2) "Create" (Oluştur) düğmesine tıklayın.

"Basic Information" (Temel Bilgiler) sekmesinde:

- 3) "Test Name" (Test Adı) alanına testinizin adını yazın: ör. VIASURE HHT.

Not: Test adının benzersiz olması ve en fazla yirmi karakterden oluşması gerekir.

- 4) "Extraction Type" (Ekstraksiyon Tipi) açılır menüsünde, "ExK TNA-3"yi seçin.
- 5) "Master Mix Format" (Master Karışım Formatı) açılır menüsünde, "Type 5: Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer" (Tip 5: Rehidrasyon Tamponu ile Konsantre Liyofilize MM)'yi seçin.
- 6) "Sample Extraction Parameters" (Örnek Ekstraksiyon Parametreleri) alanında "User Defined" (Kullanıcı Tanımlı) seçeneğini belirleyin ve aşağıdaki parametre değerlerini ayarlayın (Tablo 4).

<i>Sample Extraction Parameters</i> (Örnek Ekstraksiyon Parametreleri)	<i>Value (units)</i> (Değer (birimler))
<i>Lysis Heat Time</i> (Lizis Isı Süresi)	15 (dk)
<i>Lysis Temperature</i> (Lizis Sıcaklığı)	55 (°C)
<i>Sample Tip Height</i> (Örnek Uç Yüksekliği)	1600 (adım)
<i>Sample Volume</i> (Örnek Hacmi)	475 (µL)
<i>Wash Volume</i> (Yıkama Hacmi)	500 (µL)
<i>Neutralization Volume</i> (Nötralizasyon Hacmi)	Yok
<i>DNase Heat Time</i> (DNaz Isı Süresi)	Yok

Tablo 4. BD MAX™ ExK™ TNA-3 ile gerçekleştirilen örnek ekstraksiyonu parametreleri.

- 7) “Ct Calculation” alanında (Ct Hesaplaması)’nda “Call Ct at Threshold Crossing” (Eşiğin Geçilmesi Halinde Ct’yi Ara)’yı seçin (varsayılan olarak seçilidir).
- 8) Yazılım sürümü 5.00 veya üzeri ise ve barkodlu folyolu takma tüpleri varsa, “Custom Barcodes” (Özel Barkodlar) alanında aşağıdaki yapılandırmayı seçin:
- Snap-In 2 Barcode (Snap-In 2 Barkodu): 1E (ilgili *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* reaction tube).
 - Snap-In 3 Barcode (Snap-In 3 Barkodu): 11 (Rehydration Buffer tube için)

“PCR Settings” (PCR Ayarları) sekmesinde:

- 9) “PCR settings” (PCR ayarları) alanında Tablo 5’te belirtilen aşağıdaki parametreleri girin: “Alias” (Takma ad) (en fazla yedi alfanümerik karakter), “PCR Gain” (PCR Kazancı), “Threshold” (Eşik), “Ct Min” ve “Ct Max”.

<i>Channel</i> (Kanal)	<i>Alias</i> (Takma Ad)	<i>PCR Gain</i> (PCR Kazanımı)	<i>Threshold</i> (Eşik)	<i>Ct Min</i> (Ct Min)	<i>Ct Max</i> (Ct Maks)
475/520 (FAM)	HSV1	40	200	0	40
530/565 (HEX)	HSV2	60	200	0	40
585/630 (ROX)	EIC	40	200	0	40
630/665 (Cy5)	TRE	60	200	0	40
680/715 (Cy5.5)	-	0	0	0	0

Tablo 5. PCR settings (PCR ayarları).

Not: Her kanal için başlangıç noktası olarak yukarıda listelenen minimum eşik değerlerinin ayarlanması önerilir, ancak eşiklerin floresan eğrilerinin üstel fazı dahilinde ancak arka plan sinyallerinin üzerinde kalmasını sağlamak için nihai ayarların sonuç enterpolasyonu sırasında son kullanıcı tarafından belirlenmesi gerekir. Farklı cihazlar için eşik değeri, farklı sinyal yoğunlukları nedeniyle değişebilir.

10) "Color compensation" (Renk telafisi) alanına aşağıdaki parametreleri girin (Tablo 6).

	Channel (Kanal)	False Receiving Channel (Yanlış Alıcı Kanal)				
		475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Eksitasyon Kanalı)	475/520	-	4	0	0	0
	530/565	0	-	0	0	0
	585/630	0	0	-	4	0
	630/665	0	0	0	-	0
	680/715	0	0	0	0	-

Tablo 6. "Color compensation" (Renk telafisi) parametreleri.

"Melt Settings" (Erime Ayarları) sekmesinde herhangi bir işlem yapmaya gerek yoktur; bu sekme bu ürün için geçerli değildir.

"Test Steps" (Test Aşamaları) sekmesinde:

- 11) Aşama adını (en fazla yirmi karakter) girin ve PCR protokolünün her aşamasını tanımlamak için aşağıdaki parametreleri ayarlayın: "Profile Type" (Profil Türü), "Cycles" (Döngüler), "Time" (Süre) ve "Temperature" (Sıcaklık) ve tespit aşamasını tanımlamak için "Detect" (Tespit) alanını seçin (Tablo 7). Yeni bir aşama eklemek için "Add" (Ekle) düğmesine tıklayın ve gerekli tüm aşamalar tanımlanana kadar bu işlemi tekrarlayın.

Not: "Type" (Tür) alanı boş olmalıdır.

Step (Adım)	Step name (Adım adı)	Profile Type (Profil Tipi)	Cycles (Döngüler)	Time (s) (Süreler)	Temperature (Sıcaklık)	Detect (Tespit)
Initial denaturation (Başlangıç denatürasyonu)	IN-denaturation	Hold	1	120	98°C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Denatürasyon ve Yeniden Birleştirme/Genişletme (Veri toplama))	Annealing/Extension	2- Temperature	45	10	95°C	-
				41	63°C	✓

Tablo 7. PCR protokolü.

"Result Logic" (Sonuç Mantığı) sekmesinde:

- 12) "Target" (Hedef) alanına hedefinizin adını yazın: ör. HSV1 (en fazla yedi alfanümerik karakter). Her bir hedef için (ör. HSV2 veya TRE) 12-15. adımları tekrarlayın ve tanımlanan hedefe ilişkin tabloları izleyin.
- 13) Hedef sonuç analizine istenen dalga boylarını (PCR kanalları) dahil etmek için "Analyze" (Analiz et) onay kutusunu tıklayın (Tablolar 8-10).

<i>Wavelength</i> (Dalga boyu)	<i>Alias</i> (Takma Ad)	<i>Type</i> (Tür)	<i>Analyze</i> (Analiz)
475/520	HSV1	PCR	✓
585/630	EIC	PCR	✓

Tablo 8. HSV1 (Herpes simplex Virüs 1) hedefi için "Result logic" (Sonuç mantığı) sekmesinde PCR kanalları seçimi.

<i>Wavelength</i> (Dalga boyu)	<i>Alias</i> (Takma Ad)	<i>Type</i> (Tür)	<i>Analyze</i> (Analiz)
530/565	HSV2	PCR	✓
585/630	EIC	PCR	✓

Tablo 9. HSV2 (Herpes simplex Virüs 2) hedefi için "Result logic" (Sonuç mantığı) sekmesinde PCR kanalları seçimi.

<i>Wavelength</i> (Dalga boyu)	<i>Alias</i> (Takma Ad)	<i>Type</i> (Tür)	<i>Analyze</i> (Analiz)
585/630	EIC	PCR	✓
630/665	TRE	PCR	✓

Tablo 10. TRE (*Treponema pallidum*) hedefi için "Result logic" (Sonuç mantığı) sekmesinde PCR kanalları seçimi.

14) "Edit Logic" (Mantığı Düzenle) düğmesine tıklayın.

15) "Edit Logic" (Mantığı Düzenle) penceresinde sonuç türlerinin tüm kombinasyonları listelenir. Her bir satır için "Result" (Sonuç) açılır menüsünde, o satırdaki koşullar sağlandığında çağrılan sonucu 11-13 numaralı tabloları izleyerek seçin.

<i>Result</i> (Sonuç)	HSV1 (475/520)	EIC (585/630)
POS	Valid (Geçerli)	Valid (Geçerli)
UNR	Valid (Geçerli)	Invalid (Geçersiz)
NEG	Invalid (Geçersiz)	Valid (Geçerli)
UNR	Invalid (Geçersiz)	Invalid (Geçersiz)

Tablo 11. HSV1 (Herpes simpleks virüs 1) hedefi için sonuç türleri ve sonuç mantığı kombinasyonlarının listesi. Mevcut sonuçlar POS (Pozitif), NEG (Negatif) ve UNR'dir (Çözümlememiş).

<i>Result</i> (Sonuç)	HSV2 (530/565)	EIC (585/630)
POS	Valid (Geçerli)	Valid (Geçerli)
UNR	Valid (Geçerli)	Invalid (Geçersiz)
NEG	Invalid (Geçersiz)	Valid (Geçerli)
UNR	Invalid (Geçersiz)	Invalid (Geçersiz)

Tablo 12. HSV2 (Herpes simpleks virüs 2) hedefi için sonuç türleri ve sonuç mantığı kombinasyonlarının listesi. Mevcut sonuçlar POS (Pozitif), NEG (Negatif) ve UNR'dir (Çözümlememiş).

<i>Result</i> (Sonuç)	TRE (630/665)	EIC (585/630)
POS	Valid (Geçerli)	Valid (Geçerli)
UNR	Valid (Geçerli)	Invalid (Geçersiz)
NEG	Invalid (Geçersiz)	Valid (Geçerli)
UNR	Invalid (Geçersiz)	Invalid (Geçersiz)

Tablo 13. TRE (*Treponema pallidum*) hedefi için sonuç türleri ve sonuç mantığı kombinasyonlarının listesi. Mevcut sonuçlar POS (Pozitif), NEG (Negatif) ve UNR'dir (Çözümlememiş).

Not: Daha önce tanımlanan Ct Maks değerine (Tablo 5) göre, HSV1 (475/520), HSV2 (530/565), EIC (585/630) ve TRE (630/665) kanalları için sonuç türü, elde edilen Ct değeri ≤ 40

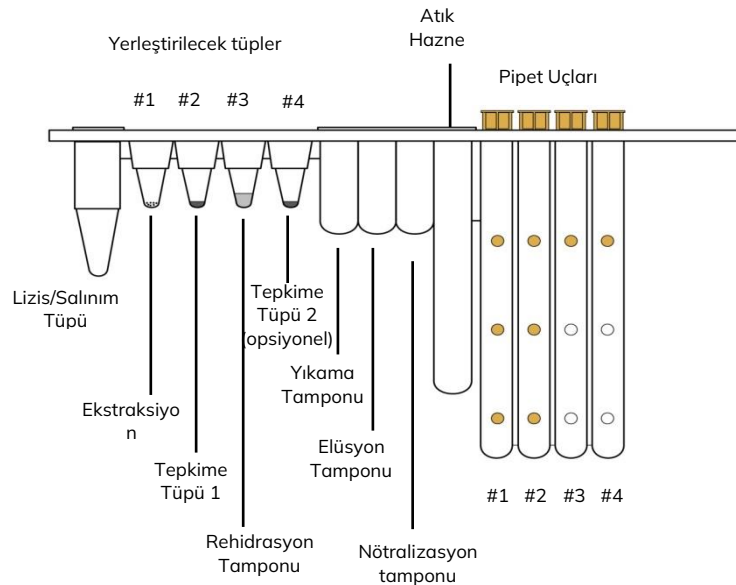
olduğunda “Valid” (Geçerli), elde edilen Ct değeri >40 olduğunda “Invalid (Geçersiz)d” olarak kabul edilir.

16) Testi kaydetmek için “Save” (Kaydet) düğmesine tıklayın.

8.3.2. BD MAX™ Rack kurulumu

- 1) Test edilecek her bir numune için, BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit içinden bir adet Unitized Reagent Strips çıkarın. Tüm sıvıların tüplerin alt kısmında olduğundan ve BD MAX™ System numune raflarına yüklendiğinden emin olmak için her bir şeridi hafifçe sert bir yüzeye vurun.
- 2) Gerekli sayıda BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes Ekstraksiyon Tüpü'nü (B4) (beyaz folyo) koruyucu poşetlerinden çıkarın. Ekstraksiyon Tüpünü/Tüplerini (beyaz folyo) TNA şeridindeki ilgili pozisyonlara yerleştirin (1. Yerleştirme pozisyonu, raftaki beyaz renkli kodlama. Şekil 1'e bakın). Fazla havayı çıkartın ve poşeti fermuar ile kapatın.
- 3) Uygun sayıda *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* reaction tube (1E folyo) belirleyin ve bunları şeritteki ilgili konumlara oturtun (2. yerleştirme pozisyonu, raftaki yeşil renkli kodlama). Şekil 1'e bakın).
 - a. Fazla havayı çıkartın ve alüminyum poşetleri fermuar ile kapatın.
 - b. Rehidrasyonu doğru şekilde gerçekleştirebilmek için, lütfen liyofilize ürünün tüpün dibinde olduğundan ve tüpün üst kısmına veya folyo kapamasına yapışmadığından emin olun. Tüm ürünün tüpün altında olduğundan emin olmak için her bir tüpü sert bir yüzeye hafifçe vurun.
- 4) Gerekli sayıda Rehydration Buffer tubes (11 folyo) çıkarın ve şeritteki konumlarına yerleştirin (3. Yerleştirme pozisyonu, raftaki renksiz kodlama. Şekil 1'e bakın).
 - a. Fazla havayı çıkartın ve poşeti fermuar ile kapatın.
 - b. Aktarımı doğru şekilde gerçekleştirebilmek için, sıvının tüpün dibinde olduğundan ve tüpün üst kısmına veya folyo kapamasına yapışmadığından emin olun. Tüm tamponun tüpün altında olduğundan emin olmak için her tüpü sert bir yüzeye hafifçe vurun.

Şekil 1. BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit içindeki BD MAX™ TNA Reagent Strip (TNA).



8.3.3. BD MAX™ Cihaz kurulumu.

- 1) BD MAX™ System yazılımı v4.50A veya daha üstü sürümünde “Run” (Çalıştır) ekranında “Work List” (İş Listesi) sekmesini seçin.
- 2) “Test” açılır menüsünden istediğiniz testi seçin: ör. VIASURE HHT (eğer test oluşturulmamışsa 8.3.1 bölümüne bakın).
- 3) “Kit Lot Number” (Kit Parti Numarası) açılır menüsünden, kit için uygun parti numarasını seçin (kullanılan ekstraksiyon kitinin dış kutusunda bulunur) (isteğe bağlı).

Not: Parti numaraları, burada seçilmeden önce “Envanter” ekranında tanımlanmış olmalıdır.

- 4) Barkod tarayıcı ile tarayarak veya elle girerek Sample Buffer Tube (Örnek Tampon Tüpü) kimlik numarasını “Sample tube” (Örnek tüpü) alanına girin.
- 5) “Patient ID” (Hasta Kimliği) ve/veya “Accession” (Giriş) alanını doldurun ve Tab veya Enter tuşuna basın. Tüm Sample Buffer Tubes barkodları (Numune Tampon Tüpleri) girilene kadar devam edin. “Specimen/Patient ID” (Numune/hasta kimliğinin) ve “Sample Buffer Tubes” (Numune Tampon Tüplerinin) öğesinin doğru şekilde eşleştiğinden emin olun.
- 6) Hazırlanan Sample Buffer Tube öğesini (Numune Tampon Tüpünü) BD MAX™ Racks’a yerleştirin.
- 7) Rafları BD MAX™ System’e yükleyin (A Rafı, BD MAX™ System’in sol tarafında ve B Rafı sağ tarafta yer alır).
- 8) BD MAX™ System’e gerekli sayıda BD MAX™ PCR Cartridge(s) yerleştirin.
- 9) BD MAX™ System’in kapağını kapatın.
- 10) Prosedüre başlamak için “Start” (Başla) düğmesine tıklayın.

8.3.4. BD MAX™ sonuç raporu

- 1) Menü çubuğundan “Results” (Sonuçlar) düğmesine tıklayın.
- 2) Ya listenizdeki çalıştır tuşuna çift tıklayın ya da “view button”a (görüntüle düğmesi) basın.
- 3) Ekranın alt kısmındaki “Print” (Yazdır) ve “Export” (Dışa aktar) düğmeleri etkinleştirilecektir.

Sonuçları yazdırmak için:

1. “Print” (Yazdır) öğesine tıklayın.
2. Çalıştırma raporunun “Print” (Yazdır) önizleme penceresinde şunları seçin: “Run Details” (Çalıştırma Detayları), “Test Details” (Test Detayları) ve “Plots” (Çizit).
3. Raporu yazdırmak için “Print” (Yazdır) üzerine tıklayın veya raporun bir PDF dosyasını USB belleğe aktarmak için “Export” (Dışa aktar) üzerine tıklayın.

Sonuçları dışa aktarmak için:

1. “Export” (Dışa aktar) düğmesine tıklayarak raporu (PDF ve CSV dosyası) bir USB belleğe aktarın.

2. Dışa aktarma tamamlandığında “Results Export” (Sonuçları Dışa Aktar) penceresinde başarılı/başarısız simgesi görüntülenir.

9. Sonuçların yorumlanması

Verilerin nasıl analiz edileceğine ilişkin ayrıntılı açıklamalar için BD MAX™ System Kullanıcı Kılavuzu'na başvurun.

Verilerin analizi, üreticinin talimatlarına göre BD MAX™ yazılımı tarafından yapılır. BD MAX™ yazılımı, aşağıdaki şekilde test edilen her bir numunenin her bir tespit kanalı için Ct değerlerini ve amplifikasyon eğrilerini raporlar:

- 0'ın Ct değeri, belirtilen eşik değerine sahip yazılım tarafından hesaplanan hiçbir Ct değerinin olmadığını gösterir (bkz. Tablo 5). “0” Ct değeri gösteren numunenin amplifikasyon eğrisi manuel olarak kontrol edilmelidir.
- 1 Ct değeri, herhangi bir amplifikasyon işleminin gerçekleşmediğini, yazılım tarafından herhangi bir Ct değeri hesaplanmadığını veya hesaplanan Ct değerinin belirtilen eşik değerin altında ya da belirlenen Ct Maks'ın (Cut-off) üzerinde olduğunu gösterir.
- Diğer herhangi bir Ct değeri, amplifikasyon eğrisi ile ilintili olarak ve Tablo 14'te verilen numune yorumlama kılavuzların kullanılarak tanımlanan sonuç mantığına göre yorumlanmalıdır.

Amplifikasyon karışımının doğru çalıştığını doğrulamak için Endojen Dahili Kontrol (EIC) sinyalini kontrol edin. Ek olarak, herhangi bir BD MAX™ System hatası raporu olup olmadığını kontrol edin.

Sonuçlar aşağıdaki tabloyu kullanarak okunmalı ve analiz edilmelidir:

HSV-1 (hedef adı: HSV1)	HSV-2 (hedef adı: HSV2)	<i>T. pallidum</i> (hedef adı: TRE)	Hastanın bireysel numunelerinin yorumlanması
POS	POS	POS	HSV-1, HSV-2 ve <i>Treponema pallidum</i> DNA'sı saptandı.
POS	POS	NEG	HSV-1 ve HSV-2 DNA'sı saptandı. <i>Treponema pallidum</i> DNA'sı saptanmadı.
POS	NEG	POS	HSV-1 ve <i>Treponema pallidum</i> DNA'sı saptandı. HSV-2 DNA'sı saptanmadı.
NEG	POS	POS	HSV-2 ve <i>Treponema pallidum</i> DNA'sı saptandı. HSV-1 DNA'sı saptanmadı.
POS	NEG	NEG	HSV-1 DNA'sı saptandı. HSV-2 ve <i>Treponema pallidum</i> DNA'sı saptanmadı.
NEG	POS	NEG	HSV-2 DNA'sı saptandı. HSV-1 ve <i>Treponema pallidum</i> DNA'sı saptanmadı.
NEG	NEG	POS	<i>Treponema pallidum</i> DNA'sı saptandı. HSV-1 ve HSV-2 DNA'sı saptanmadı.

NEG	NEG	NEG	HSV-1, HSV-2 ve <i>Treponema pallidum</i> DNA'sı saptanmadı.
UNR	UNR	UNR	PCR reaksiyonunda inhibitörlerin olması ya da numune işleme ve/veya amplifikasyon adımlarında genel bir sorun (hata kodu ile rapor edilmemiş) meydana gelmesi durumunda Çözümlememiş (UNR) Sonuç elde edilir. ¹
IND	IND	IND	Belirsiz tahlil sonucu (IND). BD MAX™ System arızası nedeniyle. Bir hata koduna bağlı cihaz arızası durumunda gösterilen tahlil sonucu. ²
INC	INC	INC	Eksik tahlil sonucu (INC). BD MAX™ System arızası nedeniyle. Çalışmanın tamamlanamaması durumunda gösterilen tahlil sonucu. ²

Tablo 14. Numunelerin yorumlanması.

1 Endojen Dahili Kontrol (EIC) için amplifikasyon sinyali Ct değeri ≤ 40 olan bir sinyal göstermelidir. EIC için bir sinyal yoksa veya Ct değeri > 40 ise sonuç Kararsız (UNR) olarak kabul edilir ve testin tekrarlanması gerekir. Aynı Sample Buffer Tube (SBT) ile aynı örnekten yeni bir SBT hazırlayarak veya yeni bir örnekten testi tekrarlamayı önerilir. Çözülmemiş (UNR) sonucun, PCR reaksiyonundaki inhibitörlerin varlığından kaynaklanabileceği de belirtilmelidir. Bu durumlarda, bu örnekleri 1/10 oranında seyreltilmesi önerilir.

NOT: doğal cilt lezyonu örnekleri, $2\pm 2^{\circ}\text{C}$ - $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de saklandığında 48 saate kadar SBT'ye aktarılmadan saklanabilir (ESwab® from Copan'da belirtilmiştir). Aynı SBT'den yeniden test yapma durumunda, örneğin uygun şekilde homojenleşmesini sağlamak için SBT'yi manuel olarak çalkalamak önerilir. Doğal cilt lezyonu örneklerinin SBT'de $2\pm 2^{\circ}\text{C}$ - $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 7 güne kadar saklanabileceğini unutmayın.

2 Belirsiz (IND) veya Eksik (INC) sonuçlar bir sistem arızası nedeniyle elde edilmiş olabilir ve yeniden test edilmesi gereklidir. Uyarı ve hata kodlarının yorumlanması için BD MAX™ System Kullanıcı Kılavuzu'na bakın.

Not: Harici kontroller kullanılırken; negatif için ENC ve pozitif için EPC (bilinen pozitif örneklerdeki numunede mevcut olan mikroorganizma(lar) için pozitif olması beklenir) olmak üzere aşağıdaki beklenen sonuçları vermelidir. Pozitif bir test sonucu veren bir ENC, bir kontaminasyon olayı veya numune işleme hatası olduğunu gösterir. Negatif sonuç veren bir EPC, numune işleme/hazırlama tekniğinde bir sorun olduğunu gösterir. Numune işleme/hazırlama tekniğini gözden geçirin. Harici kontrol hatası meydana geldiğinde yeniden test edilmesi gerekir.

Devam eden bir belirsiz sonuç durumunda, kullanım talimatlarının, kullanıcı tarafından kullanılan ekstraksiyon işleminin gözden geçirilmesi; her bir PCR adımının doğru uygulandığının teyidi ve parametrelerin gözden geçirilmesi; ve eğrinin sigmoid şekilde olduğunun ve floresan yoğunluğunun kontrol edilmesi önerilir.

Test sonuçları tıbbi geçmiş, klinik semptomlar ve diğer tanı testleri baz alınarak, bir sağlık uzmanı tarafından değerlendirilmelidir.

10. Testin kısıtlamaları

- Test sonuçları tıbbi geçmiş, klinik semptomlar ve diğer tanı testleri baz alınarak, bir sağlık uzmanı tarafından değerlendirilmelidir.
- Bu test diğer örnek türleriyle kullanılabilse de yalnızca anogenital ve oral cilt lezyonu sürüntü örnekleri ile valide edilmiştir.
- İyi bir test performansı için liyofilize ürün, tüpün altında olmalı ve tüpün üst alanına veya folyo kapamaya yapışmamalıdır. Tüm ürünün tüpün altında olduğundan emin olmak için her bir tüpü sert bir yüzeye hafifçe vurun.
- Tespit edilecek bir hedef yoksa BD MAX™ Sisteminin boş kanallarında olası karışma gözlemlenebilir, bu nedenle sonuçlar yorumlanırken yalnızca bunların yükseltildiği kanalların seçilmesi gerekir. Sorularınız için lütfen viasuresupport@certest.es ile iletişime geçin.
- Testin kalitesi numunenin kalitesine bağlıdır; nükleik asit, klinik örneklerden uygun şekilde ekstrakte edilmelidir.
- Bu test kalitatif bir testtir ve kantitatif değerler sağlamaz veya mevcut organizma sayısını göstermez. PCR ile elde edilen Ct değerlerini, kullanılan termal döngüleyiciye ve çalışmanın kendisine bağlı olduğundan numunenin konsantrasyonu ile ilişkilendirmek mümkün değildir.
- Bu gibi durumlarda, tespit sınırının altında son derece düşük hedef seviyeleri tespit edilebilir, ancak sonuçlar tekrarlanamayabilir.
- Bu aralığın üstünde veya altında konsantrasyonlara sahip numuneler hatalı sonuçlar verebileceğinden, lütfen testin amaçlanan ölçüm aralığına dikkat edin.
- HSV-1, HSV-2 ve/veya *T. pallidum* örnekleri içeren hedef DNA'nın yüksek konsantrasyonlarda olduğu örneklerveya önceki reaksiyonlardan PCR ürünleri nedeniyle kontaminasyondan kaynaklanan yanlış pozitif sonuçlar olabilir.
- VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System'da kullanılan HSV-1'in *glikoprotein L UL1*, HSV-2'nin *glikoprotein G US4* ve *T. pallidum*'un *16S rRNA* genlerinin tespitinde gereken spesifik primer ve prob kombinasyonları öngörülebilir yanlış pozitif sonuçlara neden olabilecek insan genomu, insan mikroflorası veya diğer mikroorganizmalarla anlamlı kombinasyonlar göstermemektedir.
- Yalancı Negatif sonuçlar, aşağıdakiler dahil çeşitli faktörlerden ve bunların kombinasyonlarından kaynaklanabilir:
 - Uygun olmayan örneklerin toplanması, taşınması, depolanması ve/veya muamele yöntemleri.
 - Uygun olmayan işleme prosedürleri (DNA ekstraksiyonu dahil).
 - Numunelerin taşınması/depolanması ve/veya işlenmesi sırasında DNA'nın bozulması.
 - Primer veya prob bağlanma bölgelerindeki mutasyonlar veya polimorfizmler, yeni veya bilinmeyen HSV-1, HSV-2 ve/veya *T. pallidum* suşlarının tespitini etkileyebilir.
 - Örnekteki mikrobiyal yükün test için tespit sınırının altında olması.

- qPCR inhibitörlerinin veya diğer türden müdahale edici maddelerin varlığı. Enfeksiyonu önlemek için veya enfeksiyonun tedavisi sırasında kullanılan aşılardan, bazı antiviral terapötiklerin, antibiyotiklerin, kemoterapötiklerin, immünosupresan ilaçların veya antifungallerin etkisi değerlendirilmemiştir.
- Bu kullanım kılavuzlarının 12.5.1 numaralı bölümünde (müdahale eden maddelerin incelenmesi) belirtilenler dışında müdahale eden maddelerin etkisi değerlendirilmemiştir. Lütfen, qPCR reaksiyonunun tamamen veya kısmen karışmasına neden olan en yaygın endojen ve eksojen maddeleri kontrol etmek için bu bölüme bakın. Bu bölümde belirtilmeyen diğer maddeler hatalı sonuçlara yol açabilir.
- Kullanım talimatlarına ve test prosedürüne uyulmaması.
- Pozitif test sonucu, mutlaka canlı mikroorganizma varlığını göstermez ve bu mikroorganizmaların bulaşıcı olduğu veya klinik semptomlara neden olan ajanlar olduğu anlamına gelmez. Ancak, pozitif bir sonuç, HSV-1, HSV-2 ve/veya *T. pallidum* hedef dizilerinin var olduğunu gösterir.
- Negatif sonuçlar, bir klinik örnekte HSV-1, HSV-2 ve/veya *T. pallidum* DNA'sının varlığını dışlamaz ve tedavi veya diğer hasta yönetimi kararları için tek dayanak olarak kullanılmamalıdır. HSV-1, HSV-2 ve/veya *T. pallidum* kaynaklı enfeksiyonlar sırasında mikropların en yüksek seviyede olduğu en uygun örnek türleri ve zamanlama belirlenmemiştir. Patojeni tespit etmek için aynı hastadan birden fazla numune (tip ve zaman noktası) alınması gerekebilir.
- Diğer cinsel yolla bulaşan hastalıklar (CYBH) için yapılan tanı testleri negatifse ve klinik gözlemler, hasta öyküsü ve epidemiyolojik bilgiler HSV-1, HSV-2 ve/veya *T. pallidum* enfeksiyonunun olası olduğunu gösteriyorsa, yanlış negatif sonuç düşünülmeli ve hastanın yeniden test edilmesi gündeme alınmalıdır.
- Çoklu etmenler nedeniyle floresan değerleri değişebilir; örneğin: Diğerlerinin yanı sıra PCR ekipmanı (aynı model olsa bile), ekstraksiyon sistemi, örnek türü, örneğin daha önceki tedavisi vs.
- Pozitif ve negatif prediktif değerler, tüm *in vitro* tanı testlerinde prevalansa son derece bağımlıdır. VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System performansı, prevalansa ve test edilen popülasyona bağlı olarak değişiklik gösterebilir.
- VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System kullanıldığında Çözülmeyen, Belirsiz veya Eksik sonuçlar elde edilirse, testin tekrarlanması gerekir. Çözülmemiş sonuçlar, numunede inhibitörlerin varlığından veya liyofilize edilmiş reaksiyon karışımı tüpünün yanlış rehidrasyonundan kaynaklanabilir. Bir cihaz arızası varsa, Belirsiz veya Eksik sonuçlar elde edilecektir.

11. Kalite kontrol

VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System her bir reaksiyon tüpünde tekniğin doğru performansını teyit eden bir Endojen Dahili Kontrol (EIC) içerir. Ayrıca, harici kontrollerin (EPC ve ENC) kullanılması, testin performansını doğrulamayı sağlar. Harici kontroller, sonuçların yorumlanması amacıyla BD MAX™ System tarafından kullanılmaz; numune olarak değerlendirilir. Harici Pozitif Kontrol

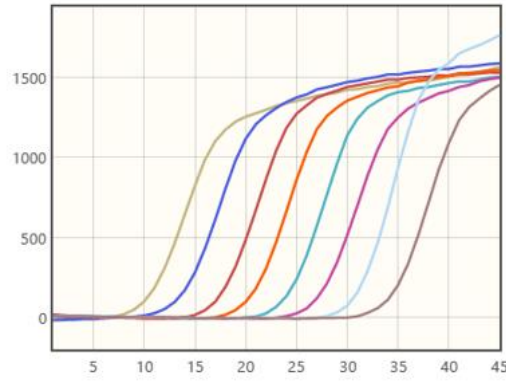
(EPC), test reaktiflerinin olası arızasını izlemek için, Harici Negatif Kontrol (ENC) ise hedef nükleik asitler tarafından ortam veya reaktif kontaminasyonunu tespit etmek için kullanılmaktadır.

12. Analitik Performans özellikleri

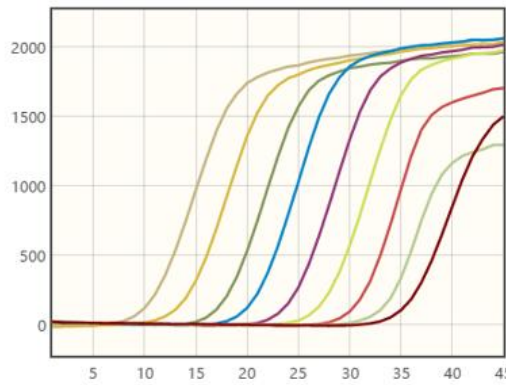
12.1. Analitik lineerlik

Testin doğrusallığı, HSV-1, HSV-2 ve *T. pallidum*'a ait spesifik ve sentetik DNA'nın bilinen bir konsantrasyonunu ($2E+07$ ile $2E+01$ kopya/ μ L arasında değişen) içeren yapay cilt lezyonu matrisinin (Artificial Matrix for Cutaneous Lesion, Biochemazone BZ394) on kat ardışık seyreltisi test edilerek belirlenmiş ve doğrulanmıştır. Bir testten elde edilen amplifikasyon grafiği örneği aşağıda yer almaktadır:

Şekil 2. BD MAX™ System'da çalışılan HSV-1 ($2E+07$ ila $2E+01$ kopya/ μ L) kalıbının seyreltme serileri (475/520 (FAM) kanalı).

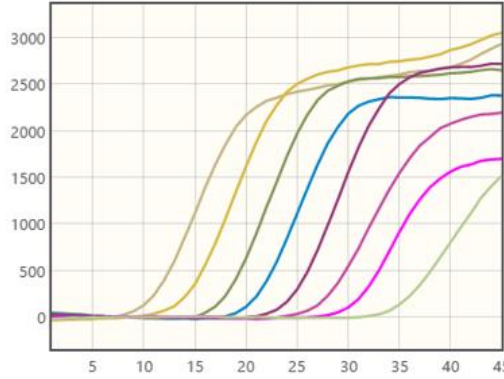


Şekil 3. BD MAX™ System'da çalışılan HSV-2 ($2E+07$ ila $2E+01$ kopya/ μ L) kalıbının seyreltme serileri (530/565 (HEX) kanalı).



⁴ Anogenital ve oral cilt lezyonu sürüntü örneklerinin sınırlı kullanılabilirliği nedeniyle, yapay matrisin validasyon testlerinde kullanılabileceğini doğrulamak için doğal matris ile yapay matris arasında bir eşdeğerlik çalışması yapılmıştır. Bu nedenle, hem doğal hem de yapay matrisler test edilmiş ve eşdeğer olduğu doğrulanmıştır.

Şekil 4. BD MAX™ System'da çalışılan *T. pallidum* (2E+07 ila 2E+01 kopya/µL) kalıbının seyreltme serileri (630/665 (Cy5) kanalı).



12.2. Analitik duyarlılık

Analitik duyarlılık genellikle tespit sınırı (LoD) olarak adlandırılır. Pratikte, LoD ve Boş Limit (LoB) parametreleri , analitik duyarlılık değerlendirmesinin bir parçası olarak belirlenir.

12.2.1. Boş Limit (LoB)

“Boş limit” (LoB) belirlemek için, üç parti VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System kullanılarak bir şablon içermeyen kontrol testi ve üç tür örneğin 24 replikasyonu gerçekleştirilmiştir: doğal cilt lezyonu negatif örnekleri, yapay cilt lezyonu matrisi ve RNaz/DNaz içermeyen su.

FAM, HEX ve Cy5 kanallarında sinyalin yokluğu ve ROX kanalında Endojen İç Kontrol (EIC) sinyalinin varlığı doğrulanmıştır (doğal veya simüle edilmiş cilt lezyonu matrisi). Sonuç olarak, elde edilen sonuçlar, ürünün test edilen farklı matrislerde spesifik olmayan amplifikasyonlar üretmediğini doğrulamıştır.

12.2.2. Tespit Limiti (LoD)

VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System'in tespit sınırı (LoD) doğal cilt lezyonu örnekleri kullanılarak üç parti ile analiz edilmiştir . Kullanılan referans suşlar Human herpesvirus 1, KOS suşu (ATCC® VR-1493, Ref FR-310 (IRR)), Herpes Simplex Virus Tip 2, MS suşu (Ref, 0810006CF (Zeptomatrix)) ve *Treponema pallidum*, SS14 suşudur (Washington University). Sonuç olarak, VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System , doğal cilt lezyonu örneklerinde HSV-1 için 2,52E+02 TCID50/mL, HSV-2 için 6,30E+00 TCID50/mL ve *T. pallidum* için 6,60E+03 hücre/mL LoD değeri ile $\geq$ %95 pozitif orana sahiptir.

12.3. Ölçüm aralığı

Testin ölçüm aralığı, HSV-1, HSV-2 ve *T. pallidum*'a ait spesifik DNA'nın bilinen bir konsantrasyonunu içeren on kat ardışık seyreltisi test edilerek belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, HSV-1 ve *T. pallidum* hedefleri için

2E+07 ile 2E+00 kopya/μl aralığında, HSV-2 hedefi için 2E+07 ile 2E-01 kopya/μl aralığında doğru hedef tespiti sağlamıştır.

Sonuç olarak, VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System'in ölçüm aralığı başarıyla belirlenmiş, bu da geniş bir viral/bakteriyel yük spektrumunda güvenilir, doğru ve tekrarlanabilir sonuçlar sağlayarak testin çeşitli klinik tanı senaryolarında kullanılabilirliğini doğrulamıştır.

12.4. Doğruluk

12.4.1. Gerçeklik

VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System'in gerçekliği, aşağıda listelenen referans materyali cilt lezyonu matrisi ile zenginleştirilerek test edilmiştir.

1. Sentetik DNA fragmentleri

- HSV-1'in *glikoprotein L UL1* geni için sentetik DNA fragmenti: HSV1.XPC, FAM kanalı.
- HSV-2'nin *glikoprotein G US4* geni için sentetik DNA fragmenti: HSV2.XPC, HEX kanalı.
- *T. pallidum*'un *16S rRNA* geni için sentetik DNA fragmenti: TREXPC, Cy5 kanalı.

Sentetik DNA fragmentlerinin tümü uygun kanalda doğru şekilde saptandı.

2. American Type Culture Collection (ATCC®)

Harici Referans	Mikroorganizma	Ürün Adı	Çeşit	Sonuç
VR-1493	Herpes simplex virüs 1	Human herpesvirus 1	KOS Suşu	Saptandı
VR-260	Herpes simplex virüs 1	Human Herpesvirus 1	HF Suşu	Saptandı
VR-539	Herpes simplex virüs 1	Human Herpesvirus 1	MacIntyre Suşu	Saptandı
VR-733	Herpes simplex virüs 1	Human Herpesvirus 1	F Suşu	Saptandı
VR-3393	Herpes simplex virüs 2	Human Herpesvirus 2	G Suşu	Saptandı
VR-1779	Herpes simplex virüs 2	Human Herpesvirus 2	ATCC-2011-2 Suşu	Saptandı
BAA-2642SD	<i>Treponema pallidum</i>	Quantitative Synthetic <i>Treponema pallidum</i> DNA	Yok	Saptanmadı

Tablo 15. American Type Culture Collection (ATCC®) kuruluşundan alınan referans materyal.

ATCC'den gelen tüm suşlar uygun kanalda doğru şekilde saptandı ve EIC ≤ 40 Ct değerinde amplifikasyon gösterdi, Quantitative Synthetic *Treponema pallidum* DNA (ATCC kodu BAA-2642SD) hariç. Bu sentetik DNA, *polA* geni, *23S* geni, *16S* geni, *flaA*, *47kDa* protein geni ve *bmp* geninin fragmanlarını içermektedir. Ancak VIASURE Assay kullanılarak çok yüksek konsantrasyonda (4,70E+04 kopya/μL'ye kadar) tespit yapılamaması, *16S* genindeki hedef bölgenin ATCC'den gelen sentetik DNA'ya dahil edilmediğini düşündürmektedir. Bu nedenle referans materyal olarak kullanılamaz.

3. National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC)

Harici Referans	Mikroorganizma	Ürün Adı	Çeşit	Sonuç
16/368	Herpes simplex virüs 1	1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-1 (HSV-1)	Yok	Saptandı
17/122	Herpes simplex virüs 2	1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-2 (HSV-2)	Yok	Saptandı

Tablo 16. National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC) kuruluşundan alınan referans materyal.

NIBSC'den gelen tüm suşlar uygun kanalda doğru şekilde saptandı ve EIC ≤ 40 Ct değerinde amplifikasyon gösterdi.

4. Kontrol materyali

Harici Referans	Kaynak	Mikroorganizma	Ürün Adı	Çeşit	Sonuç
0810006CF	ZeptoMetrix	Herpes simplex virüs 2	Herpes Simplex Virus Type 2 (HSV-2)	MS Suşu	Saptandı
MBC109	Vircell S.L.	<i>Treponema pallidum</i>	AMPLIRUN® TREPONEMA PALLIDUM DNA CONTROL	Yok	Saptandı
Yok	University of Washington	<i>Treponema pallidum</i>	Heat-killed <i>Treponema pallidum</i>	Nichols suşu	Saptandı
Yok	University of Washington	<i>Treponema pallidum</i>	Heat-killed <i>Treponema pallidum</i>	SS14 suşu	Saptandı

Tablo 17. Vircell S.L, ZeptoMetrix ve University of Washington'dan alınan HSV-2 ve *T. pallidum* kontrol materyali.

Kullanılan tüm suşlar ve referans materyaller uygun kanalda doğru şekilde saptandı ve EIC ≤ 40 Ct değerinde amplifikasyon gösterdi.

12.4.2. Hassasiyet.

VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System testinin hassasiyetini belirlemek için, yapay cilt lezyonu matrisi Human herpesvirus 1 KOS suşu (ATCC® VR-1493, Ref FR-310 (IRR)), Herpes Simplex Virus Tip 2 MS suşu (Ref 0810006CF, Zeptomatrix) ve *Treponema pallidum* SS14 suşu (Washington University) ile zenginleştirilmiş ve test içi (tekrarlanabilirlik), testler arası, partiler arası ve cihazlar arası testler (yeniden üretilebilirlik) gerçekleştirilmiştir.

Test içi

Test içi sonuçlar, VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System kullanılarak aynı çalışmada tüm örneklerin altı replikası analiz edilerek test edilmiştir. Sonuçların bir özeti aşağıdaki tabloda gösterilmektedir.

Hedef	Kanal	Numune türü	Ct ($\bar{x}$)	σ	%CV
HSV-1	475/520 (FAM)	3xLoD	33,32	0,49	1,48
		5xLoD	32,93	0,12	0,37
		Negatif kontrol	NEG	Yok	Yok
HSV-2	530/565 (HEX)	3xLoD	31,08	0,40	1,28
		5xLoD	32,00	0,24	0,74
		Negatif kontrol	NEG	Yok	Yok
EIC	585/630 (ROX)	3xLoD	30,42	0,15	0,48
		5xLoD	29,90	0,48	1,60
		Negatif kontrol	NEG	Yok	Yok
<i>Treponema pallidum</i>	630/665 (Cy5)	3xLoD	34,17	0,55	1,61
		5xLoD	31,95	0,43	1,35
		Negatif kontrol	NEG	Yok	Yok

Tablo 18. VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System için Test içi sonuçlar. (Ct) = eşik döngüsü. ($\bar{x}$) = Ct değerinin aritmetik ortalaması, (σ) = standart sapma, (CV %) = varyasyon katsayısı, NEG = negatif, UYG. DEĞ. = uygulanabilir değil.

Testler arası

Testler arası sonuçlar, VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System kullanılarak üç farklı günde üç farklı operatör tarafından farklı örneklerin dört replikası test edilerek elde edilmiştir. Sonuçların bir özeti aşağıdaki tabloda gösterilmektedir.

Hedef	Kanal	Numune türü	Ct ($\bar{x}$)	σ	%CV
HSV-1	475/520 (FAM)	3xLoD	33,21	0,47	1,41
		5xLoD	31,85	0,78	2,43
		Negatif kontrol	NEG	Yok	Yok
HSV-2	530/565 (HEX)	3xLoD	33,83	0,56	1,66
		5xLoD	32,68	0,48	1,48
		Negatif kontrol	NEG	Yok	Yok
EIC	585/630 (ROX)	3xLoD	29,82	0,43	1,43
		5xLoD	29,94	0,40	1,33
		Negatif kontrol	29,78	0,46	1,54
<i>Treponema pallidum</i>	630/665 (Cy5)	3xLoD	32,61	1,07	3,29
		5xLoD	31,86	1,24	3,88
		Negatif kontrol	NEG	Yok	Yok

Tablo 19. VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System testler arası sonuçları. (Ct) = eşik döngüsü. ($\bar{x}$) = Ct değerinin aritmetik ortalaması, (σ) = standart sapma, (CV %) = varyasyon katsayısı, NEG = negatif, UYG. DEĞ. = uygulanabilir değil.

Partiler arası

Partiler arası değerler, VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System'in üç partisi kullanılarak farklı örneklerin altı replikası ile belirlenmiştir. Sonuçların bir özeti aşağıdaki tabloda gösterilmektedir.

Hedef	Kanal	Numune türü	Ct ($\bar{x}$)	σ	%CV
HSV-1	475/520 (FAM)	3xLoD	33,26	0,46	1,38
		5xLoD	33,29	0,33	1,00
		Negatif kontrol	NEG	Yok	Yok
HSV-2	530/565 (HEX)	3xLoD	30,98	0,86	2,78
		5xLoD	32,70	0,58	1,79
		Negatif kontrol	NEG	Yok	Yok
EIC	585/630 (ROX)	3xLoD	30,04	0,57	1,89
		5xLoD	30,26	0,56	1,86
		Negatif kontrol	29,97	0,69	2,31
<i>Treponema pallidum</i>	630/665 (Cy5)	3xLoD	33,53	0,76	2,26
		5xLoD	32,24	0,55	1,69
		Negatif kontrol	NEG	Yok	Yok

Tablo 20. VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System partiler arası sonuçları. (Ct) = eşik döngüsü. ($\bar{x}$) = Ct değerinin aritmetik ortalaması, (σ) = standart sapma, (CV %) = varyasyon katsayısı, NEG = negatif, UYG. DEĞ. = uygulanabilir değil.

Cihazlar arası

Cihazlar arası değerler, VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System kullanılarak ve üç farklı BD MAX™ System kullanılarak, test içi, testler arası ve partiler arası testlerde kullanılan aynı örneklerin dört replikası ile belirlenmiştir. Sonuçların bir özeti aşağıdaki tabloda gösterilmektedir.

Hedef	Kanal	Numune türü	Ct ($\bar{x}$)	σ	%CV
HSV-1	475/520 (FAM)	3xLoD	33,71	0,52	1,54
		5xLoD	32,68	0,59	1,79
		Negatif kontrol	NEG	Yok	Yok
HSV-2	530/565 (HEX)	3xLoD	33,56	0,80	2,39
		5xLoD	32,65	0,42	1,28
		Negatif kontrol	NEG	Yok	Yok
EIC	585/630 (ROX)	3xLoD	29,51	0,77	2,59
		5xLoD	29,23	0,39	1,33
		Negatif kontrol	29,98	0,52	1,75
<i>Treponema pallidum</i>	630/665 (Cy5)	3xLoD	32,28	0,62	1,93
		5xLoD	31,19	0,40	1,29

		Negatif kontrol	NEG	Yok	Yok
--	--	-----------------	-----	-----	-----

Tablo 21. VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System cihazlar arası sonuçları. (Ct) = eşik döngüsü. ($\bar{x}$) = Ct değerinin aritmetik ortalaması, (σ) = standart sapma, (CV %) = varyasyon katsayısı, NEG = negatif, UYG. DEĞ. = uygulanabilir değil.

Sonuç olarak, doğruluk çalışması VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System'in güvenilir performans ve tutarlılığını doğrulamıştır.

12.4.3. Doğruluk

Doğruluk çalışması, Dış Kalite Değerlendirme (EQA) Programlarından gelen panellerin analizi yoluyla gerçekleştirilmiştir. HSV-1, HSV-2 veya *T. pallidum* içeren örnekler, diğer hedef olmayan mikroorganizmalarla birlikte analiz edilmiştir. Aşağıdaki tabloda gösterilen tüm test sonuçları, EQA Programı düzenleyicileri tarafından sağlanan nihai raporlarla karşılaştırılmıştır.

Hedef	ORA	TP	TN	FP	FN	PPA	NPA
HSV-1	1 (0,51-1)	4	30	0	0	1 (0,40-1)	1 (0,88-1)
HSV-2	1 (0,90-1)	12	22	0	0	1 (0,74-1)	1 (0,85-1)
<i>Treponema pallidum</i>	0,97 (0,85-0,99)	7	26	0	1	0,88 (0,47-0,99)	1 (0,87-1)

Tablo 22. VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System kullanılarak elde edilen doğruluk sonuçları. (ORA) = genel uyum, (TP) = gerçek pozitif, (TN) = gerçek negatif, (FP) = yanlış pozitif, (FN) = yanlış negatif, (PPA) = Pozitif Yüzde Uyumu, (NPA) = Negatif Yüzde Uyumu.

Sonuç olarak, VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, HSV-1, HSV-2 ve *T. pallidum* DNA'sının tespitinde yüksek doğruluk sağlar ve test edilen tüm suşlarda mükemmel NPA ve PPA değerleri sunar.

12.5. Analitik özgüllük ve reaktivite

Analitik özgüllük ve analitik reaktivite, VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System için *in silico* ve deneysel olarak, sertifikalı referans suşlar, sertifikalı referans RNA/DNA'lar ve Dış Kalite Değerlendirme (EQA) programlarından gelen materyaller gibi farklı başlangıç materyalleri kullanılarak değerlendirilmiştir.

12.5.1. Analitik Özgüllük

Analitik özgüllük, testin hedeflediği mikroorganizmayı tespit etme yeteneğidir. Analitik özgüllük için dört bileşen dikkate alınmalıdır: çapraz reaktivite, koinfeksiyon, mikrobiyal ajan kaynaklı müdahale ve madde kaynaklı müdahale. Genetik olarak ilişkili mikroorganizmalar bir hasta örneğinde mevcut olduğunda çapraz reaktivite ortaya çıkabilirken, bu mikroorganizmalar hedef mikroorganizmaların tespitini değiştirirse mikrobiyal müdahale meydana gelebilir. Benzer şekilde, koinfeksiyon çalışması, aynı örnekte farklı konsantrasyonlardaki hedef mikroorganizmaların tespit arasında değişikliğe neden olup olmadığını

değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Son olarak, örnek matrisinde bulunma potansiyeli olan spesifik maddelerin varlığı qPCR performansını etkiliyorsa madde kaynaklı müdahale meydana gelebilir.

Çapraz reaktivite *in silico* analizi

Çapraz reaktivite, NCBI Genbank'tan patojenlerin referans dizileri kullanılarak (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) ve hizalamalar BLAST gibi araçlarla (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) dahili biyoinformatik analiz yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir.

Gösterilecek sonuçlar yalnızca homoloji yüzdesi %80'in üzerinde olan dizileri sunmaktadır. Hizalama yüzdesi %80'in altında homolojiye sahip hizalanmış dizilerin tespit edilme olasılığı düşük olarak değerlendirilmiştir.

Treponema pallidum

Analiz edilen tüm diziler, *T. pallidum* primerleri ve prob seti ile %80'in altında homolojiye sahipti.

In silico çapraz reaktivite analizi, *Treponema paraluiscaeniculi* (Taxid ID: 53435 ve 545766) ile %100 homoloji ortaya koymuştur. Ancak, NCBI aramasına göre, bu dizilerin heterotipik veya taksonomik olarak eş anlamlı olduğu ve *Treponema pallidum* ile de eşleştiği tespit edilmiştir.

Bu nedenle %80'in üzerinde homoloji gösterenler de dahil olmak üzere, analiz edilen dizilerin hiçbir *Treponema pallidum*'un doğru tespitini etkileyemez.

Human alphaherpesvirus 1

Analiz edilen tüm diziler, HSV-1 primerleri ve prob seti ile %80'in altında homolojiye sahipti.

In silico çapraz reaktivite analizi, Şempanze alfa-1 herpesvirüs 105640 suşu (Taxid ID: 332937). Bu alphaherpesvirüs suşunun konağı şempanzedir (*Pan troglodytes*) Herpesvirüsler son derece konak spesifiktir ve konaklarıyla uzun ve senkron bir evrim paylaşırlar. Bu virüs insanda tanımlanmamıştır ve şu anda zoonotik bir virüs olarak değerlendirilmemektedir, bu nedenle HSV-1'in tespitini engellememektedir.

Bu nedenle %80'in üzerinde homoloji gösterenler de dahil olmak üzere, analiz edilen dizilerin hiçbir HSV-1'un doğru tespitini etkileyemez.

Human alphaherpesvirus 2

Analiz edilen tüm diziler, HSV-2 primerleri ve prob seti ile %80'in altında homolojiye sahipti.

Sonuç olarak, VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System'in HSV-1, HSV-2 ve *T. pallidum* hedef tasarımları, diğer mikroorganizmalar mevcut olduğunda *Treponema pallidum*, human alphaherpesvirus 1 ve human alphaherpesvirus 2 tespitinde yanlış pozitiflere neden olmamalıdır.

Analitik özgüllük deneysel test

Çapraz reaktivite deneysel test

VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System'in çapraz reaktivitesi, cinsel yolla bulaşan enfeksiyon semptomlarıyla ilişkili farklı mikroorganizmalar paneli ve çevresel ve filogenetik olarak ilgili mikroorganizmalar test edilerek doğrulanmıştır. Mümkün olduğunca ve konsantrasyon verileri mevcut olduğunda, müdahale edici mikroorganizmalar, tıbbi olarak ilgili seviyelerde (bakteri/mantarlar için genellikle 1E+05 - 1E+06 cfu/mL ve virüsler için 1E+04 - 1E+05 pfu/mL) değerlendirilmiştir. Aşağıda test edilen hiçbir mikroorganizma ile hedef mikroorganizmalar dışında çapraz reaktivite saptanmamıştır.

Çapraz reaktivite testi					
<i>Acinetobacter baumannii</i> 5377 [NCDC KC 755]	-	Haemophilus influenzae L-378 Suşu	-	<i>Listeria monocytogenes</i> Serotip 4b	-
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius 1863 CECT 2071	-	Hepatit A HM175/18f	-	Monkeypox virus	-
<i>Atopobium vaginae</i>	-	Herpes Simplex Virus type-1 1st WHO IS for HSV-1	+	<i>Mycoplasma genitalium</i> M30 Suşu	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	Herpes Simplex Virus type-2 1st WHO IS for HSV-2	+	<i>Mycoplasma hominis</i> LBD-4 Suşu	-
<i>Candida albicans</i>	-	Herpes Virus 2 MS Suşu	+	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> NCTC 8375 [B 5025] Suşu	-
<i>Candida glabrata</i>	-	Human Herpesvirus 1 HF suşu	+	<i>Neisseria meningitidis</i> M2091 Suşu	-
<i>Candida krusei</i> Issatchenkia orientalis Kudryavtsev 1960 CECT 1433	-	Human Herpesvirus 1 F Suşu	+	<i>Proteous mirabilis</i> NCDC 2059-70	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	Human Herpesvirus 1 KOS (ATCC-VR-1493) Suşu	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> RH 815 Suşu	-
<i>Candida tropicalis</i> (Castellani) Berkhout 1923 CECT 1005	-	Human Herpesvirus 1 MacIntyre Suşu	+	<i>Serratia marcescens</i> subsp. marcescens	-
<i>Chlamydia trachomatis</i> Serotip E	-	Human Herpesvirus 2 ATCC-2011-2 Suşu	+	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. Aureus, Seattle 1945 suşu	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	Human Herpesvirus 2 G Suşu	+	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 810-2 Suşu	-
<i>Enterobacter cloacae</i> subsp. cloacae	-	Human papillomavirus 16	-	<i>Treponema pallidum</i> DNA Control, Vircell	+
<i>Enterococcus faecalis</i> Tip suşu CECT 8120	-	Human papillomavirus 18	-	<i>Treponema pallidum</i> Nichols Suşu	+
<i>Enterococcus faecium</i> vanA, CECT 5253 suşu	-	<i>Klebsiella oxytoca</i> MIT 10-5243 Suşu	-	<i>Treponema pallidum</i> SS14 Suşu	+
Epstein-Barr Virus 1st WHO IS for Epstein-Barr Virus EBV	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> UHKPC57 Suşu	-	<i>Trichomonas vaginalis</i> , QCMD TV18S-01	-
<i>Escherichia coli</i> Tip suşu	-	<i>Listeria innocua</i>	-	<i>Ureaplasma urealyticum</i> T-suş 960 (CX8) [960, CIP 103755, NCTC 10177]	-
<i>Gardnerella vaginalis</i> 594 [NCTC 10287]	-	<i>Listeria ivanovii</i> subsp. londoniensis	-	Varicella Zoster Virus Ellen Suşu	-
<i>Haemophilus ducreyi</i> Class I	-	<i>Listeria monocytogenes</i> Serotip 1/2	-		

Tablo 23. Çapraz reaktivite analizine dahil edilen referans patojenik mikroorganizmalar. "+/-" sonucu, saptanan hedefe bağlı olarak farklı kanallardan elde edilen pozitif veya negatif sonucu ifade eder. Test edilen bir mikroorganizma cihaz tarafından saptanan hedeflerden biri olduğunda, ilgili kanalda pozitif sonuç elde edilirken diğer kanallarda negatif sonuç elde edilir.

Sonuç olarak, çapraz reaktivite testlerinden elde edilen sonuçlar, VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* ssayfor BD MAX™ System'in yüksek özgüllüğe sahip olduğunu göstererek yanlış pozitif sonuçlar riskini en aza indirmektedir. Diğer ilgili mikroorganizmalarla herhangi bir spesifik olmayan amplifikasyon gözlenmediğinden, cihazın hedefleri doğru bir şekilde ayırt etme yeteneğine sahip olduğu düşünülmektedir.

Eşzamanlı enfeksiyon çalışması

Human herpesvirus 1, KOS suşu (ATCC® VR-1493, Ref FR-310 (IRR)), Herpes Simplex Virus Tip 2, MS suşu (Ref, 0810006CF (Zeptomatrix)) ve *Treponema pallidum*, SS14 suşu (Washington University) farklı konsantrasyonlarda kullanılarak bunlardan herhangi birinin varlığının, konsantrasyondan bağımsız olarak diğerlerinin tespitini değiştirip değiştirmediğini doğrulamak için koinfeksiyon çalışması yapılmıştır. Referans materyalle kontamine edilmiş üç doğal cilt lezyonu negatif matris örneği analiz edilmiştir; bir hedef düşük konsantrasyonda (3xLoD) ve diğer hedefler çok yüksek konsantrasyonda, mümkün olduğu kadar genellikle 1E+04 – 1E+05 birim/mL olarak analiz edilmiştir.

Sonuçlar, VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ile analiz edildiğinde hedeflenen mikroorganizmaların tespitinin değişmediğini göstermektedir.

Müdahale edici mikrobiyal ajanların incelenmesi

VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System için potansiyel müdahale edici mikrobiyal ajanları analiz etmek üzere bir mikrobiyal müdahale çalışması yapılmıştır. Human herpesvirus 1, KOS suşu (ATCC® VR-1493, Ref FR-310 (IRR)), Herpes Simplex Virus Tip 2, MS suşu (Ref, 0810006CF (Zeptomatrix)) ve *Treponema pallidum*, SS14 suşu (Washington University) ile zenginleştirilmiş doğal cilt lezyonu negatif matrisi kullanılarak, HSV-1, HSV-2 ve *T. pallidum* hedeflerinin varlığında klinik, çevresel ve filogenetik olarak ilgili farklı mikroorganizmalardan oluşan bir panel test edilmiştir. Mümkün olduğunca ve konsantrasyon verileri mevcut olduğunda, virüs, bakteri ve/veya mantarlar, tıbbi olarak ilgili seviyelerde (bakteri/mantarlar için genellikle 1E+05 - 1E+06 cfu/mL ve virüsler için 1E+04 - 1E+05 pfu/mL) değerlendirilmiştir.

Testin kontrolleri olarak Pozitif Matris Kontrolü ve Negatif Matris Kontrolü (sırasıyla PMC ve NMC) dahil edilmiştir. PMC, herhangi bir müdahale edici mikrobiyal ajan olmadan spesifik hedef suşlar ile zenginleştirilmiş negatif matrise, NMC ise herhangi bir müdahale edici mikrobiyal ajan içermeyen negatif matrise karşılık gelmektedir.

Mikroorganizma Adı	Test edilen konsantrasyon	Sonuç
PMC	Yok	N.I
NMC	Yok	N.I
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Mevcut değil	N.I

<i>Atopobium vaginae</i>	4,52E+03 cfu/μL	N.I
<i>Candida albicans</i>	4,18E+03 cfu/μL	N.I
<i>Candida glabrata</i>	2,46E+03 cfu/μL	N.I
<i>Candida parapsilosis</i>	Mevcut değil	N.I
<i>Candida tropicalis</i>	3,04E+04 kopya/μL	N.I
<i>Chlamydia trachomatis Serotip E</i>	3,20E+06 IFU/mL	N.I
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,28E+03 cfu/μL	N.I
1st WHO IS for Epstein-Barr Virus EBV	5,00E+04 IU/mL	N.I
<i>Gardnerella vaginalis</i> 594 [NCTC 10287]	4,40E+05 cfu/mL	N.I
<i>Haemophilus ducreyi</i> Class I	1,40E+02 kopya/μL	N.I
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,20E+03 cfu/μL	N.I
Hepatit A	2,80E+03 TCID50/μL	N.I
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Mevcut değil	N.I
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Mevcut değil	N.I
<i>Listeria innocua</i>	Mevcut değil	N.I
<i>Listeria ivanovii</i> subsp. londoniensis	Mevcut değil	N.I
<i>Listeria monocytogenes</i> (CECT 4031)	2,90E+03 cfu/μL	N.I
<i>Listeria monocytogenes</i> (CECT 935)	2,70E+03 cfu/μL	N.I
<i>Mycoplasma hominis</i>	4,40E+03 cfu/μL	N.I
<i>Mycoplasma genitalium</i>	3,80E+03 cfu/μL	N.I
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6,20E+03 cfu/μL	N.I
<i>Neisseria meningitidis</i>	5,70E+04 cfu/μL	N.I
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,90E+04 cfu/μL	N.I
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,60E+04 cfu/μL	N.I
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	9,20E+03 cfu/μL	N.I
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	2,00E+04 cfu/μL	N.I
<i>Acinetobacter baumannii</i> 5377 [NCDC KC 755]	8,10E+05 cfu/mL	N.I
<i>Bacteroides fragilis</i>	3,40E+02 kopya/μL	N.I
<i>Enterococcus faecalis</i> Tip suşu	5,00E+05 cfu/mL	N.I
<i>Enterococcus faecium</i> vanA	3,50E+05 cfu/mL	N.I
Human papillomavirus 16	1,00E+03 IU/μL	N.I
Human papillomavirus 18	1,00E+03 IU/μL	N.I
<i>Serratia marcescens</i>	2,30E+05 cfu/mL	N.I
Varicella-Zoster Virus	7,26E+04 cfu/mL	N.I
<i>Citrobacter freundii</i> Tip suşu	6,20E+02 cfu/μL	N.I
<i>Escherichia coli</i> Tip suşu	5,20E+02 cfu/μL	N.I
<i>Proteus mirabilis</i>	2,55E+01 cfu/μL	N.I
Monkeypox virus	1,50E+03 kopya/mL	N.I

Tablo 24. Müdahale edici mikrobiyal ajan testi. N.I. = Müdahale yok, (PMC) = pozitif matris kontrolü, (NMC) = negatif matris kontrolü, (TCID50): Doku Kültürü Enfeksiyöz Doz 50%, (IU): Uluslararası Birimler, (cfu): koloni oluşturan birimler, (kopya): kopyalar, (IFU): enfeksiyon birimi.

Sonuç olarak, test edilen hiçbir mikroorganizmanın hedeflenen nükleik asidin tespitinde müdahaleye neden olmadığı gözlemlenmiştir.

Müdahale edici maddelerin incelenmesi

VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System üzerinde endojen ve ekzojen maddelerin olası müdahale etkisini test etmek için bir müdahale çalışması yapılmıştır. Doğal cilt lezyonu negatif matrisine referans suşlarla zenginleştirilmiş toplam 22 potansiyel müdahale edici madde eklenmiştir: Human herpesvirus 1, suş KOS (ATCC® VR-1493, Ref FR-310 (IRR)), Herpes Simplex Virus Tip 2, suş MS (Ref, 0810006CF (Zeptomatrix)) ve *Treponema pallidum*, suş SS14 (Washington University); ve altı replika ile değerlendirilmiştir.

Testin kontrolleri olarak Pozitif Matris Kontrolü ve Negatif Matris Kontrolü (sırasıyla PMC ve NMC) dahil edilmiştir. PMC, spesifik hedef suşlarla kontamine edilmiş negatif matrise karşılık gelirken, NMC, herhangi bir müdahale edici madde veya eklenmiş mikroorganizma/referans materyal içermeyen negatif matrise karşılık gelir. Aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

Madde adı	Test edilen konsantrasyon	Sonuç
PMC	Yok	N.I.
NMC	Yok	N.I.
Asiklovir	6,60E-02 mg/mL	N.I.
Albümin	1,00E+01mg/mL	N.I.
Tam Kan	1,00E+00% (v/v)	N.I.
Lökositler/monositler	1,00E+06 hücre/mL	N.I.
Müsin	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Clamiox (hidrokortizon)	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Neosayomol (difenhidramin)	3,87E-02 mg/mL	N.I.
Letibalm (dudak balsamı)	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Kazein	7,00E+00mg/mL	N.I.
Hemoal (benzokain)	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Durex Frescor	5,00E+01 µL/mL	N.I.
SOIVRE Intim Oil	5,00E+01 µL/mL	I
	1,25E+01 µL/mL	N.I.
Liade	7,20E+00 mg/mL	N.I.
Kadın idrarı	1,00E+01% (v/v)	N.I.
Erkek idrarı	1,00E+01% (v/v)	N.I.
Feçes	2,20E-01 % (v/v)	N.I.
Semen sıvısı	5,00E+00% (v/v)	N.I.
Halibut	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Vagisil Krem	7,50E-01 mg/mL	N.I.
Mısır nişastası	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Talquistina	2,64E+00% (v/v)	I
	6,60E-01% (v/v)	I
	3,30E-01% (v/v)	I
	1,70E-01% (v/v)	N.I.
Tiokonazol	2,50E+00 mg/mL	N.I.

Tablo 25. Potansiyel karışan maddeler. N.I: Raporlanabilir karışma yok / I: Karışma var.

VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System üzerinde, endojen ve eksojen olmak üzere farklı potansiyel müdahale edici maddeler test edilmiştir. SOIVRE Intim Oil 50 µL/mL ve Talquistina %2,64 (v/v) test edilirken müdahale gözlenmiştir. Bu müdahale etkilerinin artık gözlenmediği konsantrasyona ulaşılan kadar dilüsyonlar yapılmıştır: SOIVRE Intim Oil için 12,5 µL/mL ve Talquistina için %0,17 (v/v). Elde edilen sonuçlar, test edilen nihai konsantrasyonlarda, değerlendirilen maddelerin hiçbirinin müdahaleye neden olmadığını göstermektedir.

12.5.2. Analitik reaktivite

Analitik reaktivite, doğru pozitif sonuç veren hedef mikrobiyal suşların veya DNA/RNA örneklerinin yüzdesi olarak tanımlanabilir. Analitik reaktivite *in silico* ve deneysel analizlerle incelenmiştir.

In Silico analizde analitik reaktivite

VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System'in analitik reaktivitesi, NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) gibi kamuya açık nükleotit dizisi veritabanı kullanılarak, ve hedef genlerin doğru şekilde tespit edilebildiğini göstermek için dahili biyoinformatik analiz yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir. Primerler ve prob tasarımının *in silico* analizi, *T. pallidum* için 4.941 (veritabanından indirilip çoğaltılan diziler kaldırıldıktan sonra kalan diziler), HSV-1 için 9.779 ve HSV-2 için 8.689 analiz edilen diziye karşı hizalama yapılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda gösterilmiştir:

<i>Treponema pallidum</i>					
Gen	Hizalanmış diziler: 607				
	Uyuşmazlık içermeyen	Uyuşmazlık içeren	Tespiti doğrulanan diziler	Tespiti olmayan diziler	Tespiti bilinmeyen diziler
<i>16S rRNA</i>	%99,84	%0,16	%99,84	%0	%0,16
Human alphaherpesvirus 1					
Gen	Hizalanmış diziler: 513				
	Uyuşmazlık içermeyen	Uyuşmazlık içeren	Tespiti doğrulanan diziler	Tespiti olmayan diziler	Tespiti bilinmeyen diziler
<i>UL1</i>	%87,33	%12,67	%97,66	%0	%2,34
Human alphaherpesvirus 2					
Gen	Hizalanmış diziler: 549				
	Uyuşmazlık içermeyen	Uyuşmazlık içeren	Tespiti doğrulanan diziler	Tespiti olmayan diziler	Tespiti bilinmeyen diziler
<i>US4</i>	%93,44	%6,56	%93,44	%0	%6,56

Tablo 26. Analitik Reaktivite *in silico* testi. "Hizalanmış diziler" = analiz edilen toplam dizilerden uyumsuzluk olmadan veya uyumsuzluklarla hizalanan dizilerin sayısı, "Tespiti doğrulanan diziler" = tespiti garanti edilen, uyumsuzluğu olmayan veya ıslak analiz edilen diziler, "Tespiti olmayan diziler" = daha önceki negatif deneysel kanıtlar nedeniyle deneysel tespiti garanti edilemeyen, önceden *in silico* analiz edilen diziler, "Tespiti bilinmeyen diziler" = deneysel tespiti garanti edilemeyen, önceden *in silico* analiz edilen diziler.

Özetle, kapsayıcılık analizi VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ile *16S rRNA*, *UL1* ve *US4* genlerinin sırasıyla *T. pallidum*, HSV-1 ve HSV-2'nin doğru şekilde tespit edildiğini göstermiştir.

Analitik reaktivite deneysel test

VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System'in analitik reaktivitesi Human Herpesvirus 1, HF suşu (ATCC kodu VR-260), Human Herpesvirus 1, MacIntyre suşu (ATCC kodu VR-539), Human Herpesvirus 1, F suşu (ATCC kodu VR-733) ve 1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-1 (HSV-1) (NIBSC 16/368) DNA'sına karşı değerlendirilmiş ve pozitif sonuçlar göstermiştir.

VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System'in analitik reaktivitesi, Human Herpesvirus 2, G suşu (ATCC kodu VR-3393), Human Herpesvirus 2, suş ATCC-2011-2 (ATCC kodu VR-1779) ve 1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-2 (HSV-2) (NIBSC 17/122) DNA'sına karşı değerlendirilmiş ve pozitif sonuçlar göstermiştir.

VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System for *Treponema pallidum*'ün analitik reaktivitesi, *Treponema pallidum*, Nichols suşu (University of Washington) ve *Treponema pallidum* DNA Control (Viracell MBC109) DNA'sına karşı değerlendirilmiş ve pozitif sonuçlar göstermiştir.

12.6. Metrolojik izlenebilirlik

Bu test ölçüm amacıyla geliştirilmemiştir.

13. Klinik performans özellikleri

VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System'in klinik performansı, hemşirelik personeli tarafından Copan eSwab® kullanılarak toplanan anogenital ve oral cilt lezyonu sürüntü örnekleri kullanılarak test edilmiştir. Toplama işlemi için, steril sürüntü (FLOQSwab), 1 mL Copan's Liquid Amies Elution Swab içeren sağlanan tüpe konulmuştur. Sonuçlar aşağıdaki gibiydi:

	Saha	Numune türü	İş akışı	Hedef
1	Certest Biotec S.L. (Zaragoza, İspanya) ve Hospital Universitario Miguel Servet (Zaragoza, İspanya) iş birliği ile Biobanco del Sistema de Salud de Aragón (BSSA) örnekleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.	Anogenital ve oral cilt lezyonu sürüntüsü (Retrospektif çalışma)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	HSV-1
				HSV-2
				<i>T. pallidum</i>
2	Certest Biotec S.L. (Zaragoza, İspanya) Cerba Xpert örnekleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.	Anogenital ve oral cilt lezyonu sürüntüsü (Retrospektif çalışma)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	HSV-1
				HSV-2
				<i>T. pallidum</i>

Tablo 27. Saha, numune türü, iş akışı ve hedef.

VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System için gerçek pozitif ve negatif değerler, yanlış pozitif ve negatif değerler, duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değerler (PPV), negatif prediktif değerler (NPV) ve olasılık oranları (LR) hesaplanmıştır. Farklı çalışmaların sonuçları ve analizleri, her iki çalışmada da aynı referans yöntemin, aynı örneklerin ve aynı dahil etme/dışlama kriterlerinin kullanılması nedeniyle tek bir referans değeri olarak derlenmiştir. Sonuçlar aşağıdaki tabloda gösterilmiştir:

Saha	Karşılaştırma testi	Hedef	TP	TN	FP	FN	Hassasiyet	Özgüllük	PPV	NPV	LR+	LR-
1+2	Allplex™ Genital Ulcer Assay (Seegene)	HSV-1	50	96	0	1	0,98 (0,90-1)	1 (0,96-1)	1 (0,93-1)	0,99 (0,94-0,99)	188,4 (11,86-2992)	0,029 (0,006-0,14)
		HSV-2	49	97	0	1	0,98 (0,89-0,99)	1 (0,96-1)	1 (0,93-1)	0,99 (0,94-0,99)	190,2 (11,98-3021)	0,03 (0,006-0,14)
		<i>T. pallidum</i>	40	106	0	1	0,98 (0,87-0,99)	1 (0,97-1)	1 (0,91-1)	0,99 (0,96-0,99)	206,36 (12,98-3280)	0,036 (0,007-0,173)

Tablo 28. VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System için gerçek pozitif (TP) ve negatif (TN) değerler, yanlış pozitif (FP) ve yanlış negatif (FN) değerler, duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değerler (PPV), negatif prediktif değerler (NPV) ve olasılık oranları (LR).

Sonuç olarak, VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System kullanılarak HSV-1, HSV-2 ve *T. pallidum* tespiti için yüksek düzeyde uyum gösteren sonuçlar elde edilmiştir.

Bibliyografi

- CDC. (2023). *Enfermedades de transmisión sexual (ETS)*. <https://www.cdc.gov/std/spanish/sifilis/stdfact-syphilis-s.htm>
- Cole, S. (2020). Herpes Simplex Virus: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Nursing Clinics of North America*, 55(3), 337–345. <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2020.05.004>
- Forrestel, A. K., Kovarik, C. L., & Katz, K. A. (2020). Sexually acquired syphilis: Laboratory diagnosis, management, and prevention. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 82(1), 17–28. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2019.02.074>
- Mercuri, S. R., Moliterni, E., Cerullo, A., Di Nicola, M. R., Rizzo, N., Bianchi, V. G., & Paolino, G. (2022). Syphilis: a mini review of the history, epidemiology and focus on microbiota. *New Microbiologica*, 45(1), 28–34.
- Minaya, M. A., Jensen, T. L., Goll, J. B., Korom, M., Datla, S. H., Belshe, R. B., & Morrison, L. A. (2017). Molecular Evolution of Herpes Simplex Virus 2 Complete Genomes: Comparison between Primary and Recurrent Infections GENETIC DIVERSITY AND EVOLUTION crossm. *American Society for Microbiology*. <https://doi.org/10.1128/JVI>
- Peeling, R. W., Mabey, D., Chen, X. S., & Garcia, P. J. (2023). Syphilis. *The Lancet*, 402, 336–346. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)02348-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)02348-0)
- Radolf, J. D., Deka, R. K., Anand, A., Šmajš, D., Norgard, M. V., & Yang, X. F. (2016). Treponema pallidum, the syphilis spirochete: making a living as a stealth pathogen HHS Public Access. *Nat Rev Microbiol*, 14(12), 744–759. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.141>
- Tudor, M. E., Al Aboud, A. M., & Gossman, W. (2022, July 23). *Syphilis*. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL); StatPearls Publishing. <https://doi.org/10.1016/j.med.2022.04.001>
- WHO. (2023). *Herpes Simplex Virus*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus>
- Zhu, S., & Viejo-Borbolla, A. (2021). Pathogenesis and virulence of herpes simplex virus. *Virulence*, 12(1), 2670–2702. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1982373>

IVD bileşenlerinin ve reaktiflerin sembolleri

IVD	<i>In vitro</i> tanı cihazı		Kuru halde tutun		Son kullanma tarihi		üretici	LOT	Parti kodu
	Kullanım talimatlarına bakın		Sıcaklık sınırlaması		<n> testi için yeterli içerik	UDI	Benzersiz Cihaz Kimliği	REF	Katalog numarası
CE	CE işareti		Güneş ışığından uzak tutun						

Ticari markalar

BD MAX™, Becton, Dickinson and Company'nin tescilli markasıdır.

Değişiklik hakları saklıdır. Tüm hakları saklıdır. © Certest Biotec, S.L.

Bu prospektüste yer alabilecek diğer tüm ticari markalar ilgili sahiplerinin mülkiyetindedir.



Certest Biotec, S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, N° 1, 50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spain)

Tel. (+34) 976 520 354 | viasure@certest.es | www.certest.es

Avustralya sponsor bilgileri:

Becton Dickinson Pty Ltd., 66 Waterloo Road.
Macquarie Park NSW 2113, Australia

Yeni Zelanda sponsor bilgileri:

Becton Dickinson Limited, 14B George Bourke Drive.
Mt. Wellington Auckland 1060, Yeni Zelanda

Kontrol Değişimi		
Versiyon No.	Değişiklikler	Tarih
00	Orijinal versiyon. Bu versiyon İngilizce orijinal belgesinin bir çevirisidir: IUo-444222en0725.00.	27 Temmuz 2025

Tablo A 2. Kontrol değişim tablosu.

Revizyon: 00

VIASURE

by **certest**



 **Certest Biotec, S.L.**
Pol. Industrial Río Gállego II · Calle J, N°1 50840,
San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spain)

 **(+34) 976 520 354**

 **viasure@certest.es**

 **www.certest.es**

certest

F-566 rev.03

Modification rights reserved. All rights reserved. © Certest Biotec, S.L.
The products, services and data set out in this document may suffer changes
and/or variations on the texts and pictures shown.