

REF 300300 NeuMoDx™ HCV 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

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 HCV Quant Assay, HCV ile enfekte kişilerin HCV antikor bakımından pozitif olan 1 ila 6 genotiplerinin bulunduğu insan plazma ve serum numunelerinden hepatit C virüsü (HCV) RNA'sının kantitasyonuna yönelik olan, otomatik bir *in vitro* nükleik asit amplifikasyon testidir. NeuMoDx 288 Molecular System ve NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System'lar) üzerinde uygulanan NeuMoDx HCV Quant Assay, hedef nükleik asidi numuneden izole etme amaçlı otomatik RNA ekstraksiyonunu ve hepatit C viral genomundaki yüksek ölçüde korunmuş sekansları hedefleme amaçlı gerçek zamanlı ters transkriptaz polimeraz zincir reaksiyonunu (RT-PCR) içerir.

NeuMoDx HCV Quant Assay, HCV enfeksiyonuna sahip hastaların yönetiminde yardımcı olarak kullanıma yöneliktir. NeuMoDx HCV Quant Assay'den elde edilen sonuçlar, tüm ilgili klinik ve laboratuvar bulguları bağlamında yorumlanmalıdır. NeuMoDx HCV Quant Assay, kan veya kan ürünleri için bir tarama testi olarak veya HCV enfeksiyonunun klinik durumunu tanılama amacıyla kullanıma yönelik değildir.

ÖZET VE AÇIKLAMA

Plazmanın hazırlanması için antikoagülasyon ajanları olarak veya plazma hazırlama tüplerinde (plasma preparation tubes, PPT) etilendiamintetraasetik asit (EDTA) veya asit sitrat dekstroz (acid citrate-dextrose, ACD) içeren steril kan toplama tüplerinde toplanan insan tam kanı kullanılabilir. Serum ise serum tüpleri veya serum ayırma tüplerinde (serum separation tubes, SST) toplanmalıdır. Teste hazırlık amacıyla NeuMoDx System ile uyumlu ikincil bir numune tüpündeki plazma veya serum ya da birincil bir numune tüpündeki fraksiyonlara ayrılmış kan, özel bir numune tüpü taşıyıcı kullanılarak NeuMoDx System'a yüklenir. Her bir numune için plazma/serum örneğinin bir alikotu NeuMoDx Lysis Buffer 3 ile karıştırılır ve NeuMoDx System, hedef nükleik asidi ekstrakte etmek, gerçek zamanlı RT-PCR amplifikasyonu için izole RNA'yı hazırlamak ve mevcutsa amplifikasyon ürünlerini amplifiye etmek ve saptamak için gerekli tüm adımları otomatik olarak gerçekleştirir. NeuMoDx HCV Quant Assay, tayinin sağlamlığını artırmak için HCV genomunun iki adet yüksek ölçüde korunmuş bölgesini hedefler. NeuMoDx HCV Quant Assay ekstraksiyon ve amplifikasyon işleminde karşılaşılabilecek NeuMoDx System veya reaktif hatalarının yanı sıra, potansiyel inhibe edici maddelerin varlığını izlemeye yardımcı olması amacıyla bir RNA Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC2) de içerir.

HCV, hem akut hem de kronik enfeksiyona yol açabilen tek zincirli, pozitif iplikçikli bir RNA virüsüdür¹. Mevcut durumda hepatit C için bir aşı bulunmamaktadır. Akut enfeksiyon genellikle semptomsuz seyrettiği ve çok nadiren yaşamı tehdit eden hastalıkla ilişkilendirildiği halde, HCV ile enfekte olan kişilerin yarısından fazlasında kronik enfeksiyon gelişebilmektedir. Kronik HCV enfeksiyonuna sahip kişilerin 20 yıl içinde karaciğer sirozuna yakalanma riski %15-30 arasındadır. Dünya çapında tahmini 71 milyon kişinin kronik HCV enfeksiyonuna sahip olduğundan şüphelenilmekte ve bu kişilerin önemli bir kısmında siroz veya karaciğer kanseri görülmesi beklenmektedir.²⁻⁴ Kan yoluyla bulaşan bir virüs olarak HCV, öncelikli olarak kan ve kan ürünleri yoluyla bulaşmıştır. Kan tarama testlerinin yaygın olarak benimsenmesi, kan bağı yoluyla görülen enfeksiyonların sayısını önemli ölçüde azaltmıştır.¹

HCV antikorlarının saptanmasında aktif ve temizlenmiş enfeksiyon arasında ayırım yapılmaz. Sonuç olarak, HCV laboratuvar testi algoritmaları, antikor pozitif kişilere, tedaviyi (gerekliyse) başlatmadan önce plazma veya serumdaki HCV RNA'sı saptanarak aktif HCV enfeksiyonu tanısı konmasını gerektirir. HCV RNA'sının kantitasyonu (viral yük) günümüzde başarılı HCV tedavisini tanımlamak ve izlemek için kullanılmaktadır.

HCV enfeksiyonlarının yönetimi ve tedavisine ilişkin mevcut yönergeler, bazal çizgiyi belirlemek amacıyla antiviral tedavinin başlangıcından önce ve tedavinin bitiminden sonra 12. hafta veya sonrasında kantitatif HCV RNA'sı testi yapılmasını önermektedir. Bazen ilave zaman noktaları önerilebilir. Kalıcı viral yanıt (Sustained virologic response, SVR) HCV tedavisinin hedefidir ve tedaviden sonra saptanamayan (saptama limiti <25 IU/mL olan bir tayin ile) HCV RNA'sı olarak tanımlanmaktadır.⁵⁻⁷ Yakın zamanlı Amerikan Karaciğer Hastalıkları Araştırmaları Derneği yönergeleri, HCV RNA'sının yalnızca başlangıçtaki bazal çizgide değil, tedavi süresince düzenli olarak (4 hafta) ve tedavinin tamamlanmasından sonraki 12. haftada da test edilmesini önermektedir. HCV RNA'sının saptanmasına yönelik testler, serolojik testler ile birlikte, aktif HCV enfeksiyonunun tanımlanmasında kullanılır.⁶

PROSEDÜR PRENSİPLERİ

NeuMoDx HCV Quant Assay; gerçek zamanlı RT-PCR ile otomatik RNA ekstraksiyonu, amplifikasyonu ve saptamasını bir araya getirir. Tam kan numuneleri, plazma hazırlığı için EDTA, ACD veya PPT tüplerinde ve/veya serum hazırlığı için SST tüplerinde toplanır. Birincil (fraksiyonlara ayrılmış) kan numunesi veya uyumlu ikincil numune tüpündeki bir plazma/serum alikotu barkodlanır ve NeuMoDx System'a yerleştirilir. NeuMoDx System, işlemeye başlamak için NeuMoDx Lysis Buffer 3 ve NeuMoDx Extraction Plate içinde bulunan ajanlarla karıştırılmak üzere, plazmanın /serumun bir alikotunu otomatik olarak aspire eder. NeuMoDx System; RNA ekstraksiyonu ve konsantrasyonu, reaktif hazırlığı ve gerçek zamanlı RT-PCR kullanılarak hedef sekansların nükleik asit amplifikasyonu/saptanması işlemlerini otomatik hale getirir ve entegre eder. Eklenen Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC2), inhibe edici maddelerin varlığının ve sistem, işlem veya reaktif hatalarının izlenmesine yardımcı olur. Numune NeuMoDx System'a yüklendikten sonra hiçbir operatör müdahalesi gerekmez.

NeuMoDx System; lizis, RNA 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. Bağlı nükleik asitle birlikte partiküller, bağlanmayan elemanların NeuMoDx Wash Reagent ile yıkanarak giderildiği NeuMoDx Cartridge içine yüklenir. Bağlanan RNA

daha sonra, NeuMoDx Release Reagent kullanılarak elüsyona tabi tutulur. NeuMoDx System, HCV ve SPC2 hedeflerinin amplifikasyonu için gerekli olan tüm elemanları içeren tescilli NeuDry™ amplifikasyon reaktiflerini rehidre etmek için elüsyonu yapılan RNA'yı kullanır. Böylece, hem hedef hem de kontrol RNA sekanslarının eş zamanlı amplifikasyonu ve saptanması sağlanır. Kurutulmuş RT-PCR reaktifleri sulandırıldıktan sonra NeuMoDx System, hazırlanan RT-PCR'ye hazır karışımı, NeuMoDx Cartridge'in bir PCR bölmesine (numuneye göre) dağıtır. Kontrol ve hedef (mevcutsa) sekanslarının ters transkripsiyonu, amplifikasyonu ve saptanması, PCR bölümünde gerçekleşir. NeuMoDx Cartridge, PCR sonrasında amplikonu bulunduracak ve böylece, amplifikasyon sonrası kontaminasyon riskini neredeyse tamamen ortadan kaldıracak şekilde tasarlanmıştır.

Amplifiye hedefler, ilgili hedeflerinin amplikonlarına özgü florojenik oligonükleotid prob moleküllerinin bulunduğu 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 Förster Rezonans Enerji Transferi (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) aracılığıyla yayılan floresansı baskılamasını sağlar.

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

5' uçta florofor ile etiketli (Eksitasyon: 490 nm ve Emisyon: 521 nm), 3' uçta ise koyu baskılayıcı ile etiketlenmiş bir TaqMan probu, HCV RNA'sının saptanmasında kullanılır. SPC2'nin saptanmasında TaqMan probu, 5' uçta alternatif bir floresan boya (Eksitasyon: 535 nm ve Emisyon: 556 nm), 3' uçta ise koyu baskılayıcı ile etiketlenir. NeuMoDx System yazılımı, her amplifikasyon döngüsünün sonunda TaqMan problemleri tarafından yayılan floresan sinyalini izler. Amplifikasyon tamamlandığında NeuMoDx System yazılımı, verileri analiz eder ve nihai sonucu (POSITIVE (POZİTİF)/NEGATIVE (NEGATİF)/INDETERMINATE (ŞÜPHELİ)/UNRESOLVED (ÇÖZÜMLENMEMİŞ)/NO RESULT (SONUÇ YOK)) raporlar. Bir sonuç pozitifse ve hesaplanan konsantrasyon kantitasyon sınırları dahilindeyse NeuMoDx System yazılımı aynı zamanda örnekle ilişkili bir kantitatif değer sunar.

REAKTİFLER/SARF MALZEMELERİ

Sağlanan Materyal

REF	İçindekiler	Paket başına birim	Birim başına test	Paket başına test
300300	NeuMoDx HCV Quant Test Strip HCV ve SPC2'ye özgü TaqMan problemleri ve primerlerini içeren kurutulmuş RT-PCR reaktifleri	6	16	96

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

REF	İçindekiler
100200	NeuMoDx Extraction Plate Kurutulmuş paramanyetik partiküller, litik enzim ve örnek işleme kontrolleri
800200 veya 800202	NeuMoDx HCV Calibrator'lar Kalibrasyon eğrisinin geçerliliğini belirlemek için tek kullanımlık HCV Yüksek ve Düşük Kalibratör setleri
900201 veya 900202	NeuMoDx HCV External Control'lar Tek kullanımlık HCV Pozitif ve Negatif Kontrol setleri
400600	NeuMoDx Lysis Buffer 3
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Filtreler ile Hamilton CO-RE/CO-RE II Uçlar (300 µL)
235905	Filtreler ile Hamilton CO-RE/CO-RE II Uçlar (1000 µL)

Gerekli Cihazlar

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

UYARILAR VE ÖNLEMLER

- NeuMoDx HCV Quant Test Strip, yalnızca NeuMoDx System'lar ile *in vitro* tanı amaçlı kullanım içindir.
- Listelenen son kullanma tarihi geçmiş reaktifleri veya sarf malzemelerini kullanmayın.
- Ürün geldiğinde güvenlik mührü kırılmışsa veya ambalaj hasar görmüşse reaktifleri kullanmayın.

- Ürün geldiğinde koruyucu kese açık veya kırıkta sarf malzemelerini veya reaktifleri kullanmayın.
- Klinik örnekleri için test sonuçlarının oluşturulabilmesi için geçerli bir test kalibrasyonu (NeuMoDx HCV Calibrator'lardan yüksek ve düşük kalibratörler işlenerek oluşturulur) bulunmalıdır.
- NeuMoDx HCV Quant Assay ile test boyunca 24 saatte bir olmak üzere NeuMoDx HCV External Control'ların işlenmesi gerekir.
- İkincil alikotların minimum numune hacmi, aşağıda tanımlandığı şekilde tüp boyutu, numune tüpü taşıyıcısı ve numune hacmi işlemeye bağlıdır. Belirtilen minimum değer altındaki hacim "Quantity Not Sufficient" (Miktar Yeterli Değil) hatasına neden olur.
- Uygun olmayan sıcaklıklarda veya belirtilen saklama sürelerinden daha uzun süreliğine saklanan numunelerin kullanımı geçersiz veya hatalı sonuçlar verebilir.
- Her zaman tüm reaktiflerin ve sarf malzemelerinin mikrobiyal ve ribonükleaz (RNaz) kontaminasyonundan kaçının. İkincil numune tüpleri kullanılıyorsa steril, RNaz içermeyen tek kullanımlık transfer pipetleri kullanmanız tavsiye edilir. Her numune için yeni bir pipet kullanın.
- Kontaminasyonu önlemek için NeuMoDx Cartridge'i amplifikasyondan sonra kullanmayın veya parçalarına ayırmayın. NeuMoDx Cartridge'leri hiçbir durumda Biyolojik Tehlikeli Atık Kabından (NeuMoDx 288 Molecular System) veya Biyolojik Tehlikeli Atık Kutusundan (NeuMoDx 96 Molecular System) almayın. NeuMoDx Cartridge, kontaminasyonu engellemek üzere tasarlanmıştır.
- Açık tüp PCR testlerinin de laboratuvar tarafından yürütüldüğü durumlarda, NeuMoDx HCV 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 HCV Quant Test Strip'in ve NeuMoDx Extraction Plate'in folyo mührüne veya NeuMoDx Lysis Buffer 3'in üst yüzeyine dokunmamaya dikkat edilmelidir. Sarf malzemeleri ve reaktifler yalnızca yan yüzeylere dokunarak kullanılmalıdır.
- Her reaktif için (uygun olduğu durumlarda) www.qiagen.com/neumodx-ifu adresinde Güvenlik Veri Sayfaları (Safety Data Sheets, SDS) sağlanmıştır.
- Testi yaptıktan sonra ellerinizi iyice yıkayın.
- Ağızla pipetlemeyin. Numunelerin veya reaktiflerin kullanıldığı yerlerde sigara içmeyin ve bir şey yiyip içmeyin.
- Numuneleri her zaman enfeksiyöz gibi düşünerek ve *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁸ ile CLSI Belgesi M29-A4 içinde açıklananlar gibi güvenli laboratuvar prosedürleri doğrultusunda kullanın.⁹
- Kullanılmayan reaktifleri ve atığı, ülkeye özel, federal, bölgesel, eyalete özel ve yerel yönetmelikler doğrultusunda bertaraf edin.
- Tekrar kullanmayın.



ÜRÜNÜ SAKLAMA, KULLANMA VE STABİLİTE

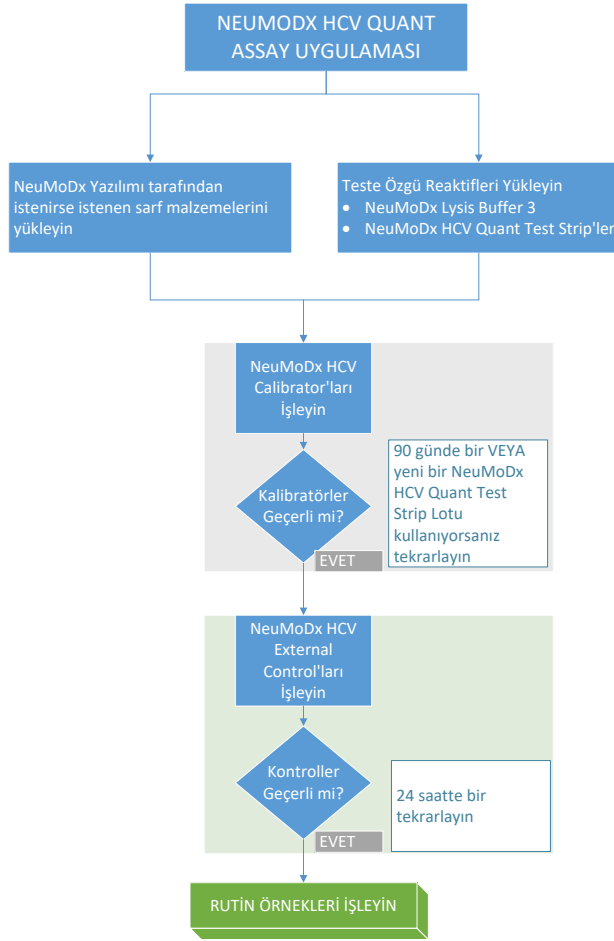
- NeuMoDx HCV Quant Test Strip'ler, 4 ila 28 °C sıcaklıkta saklandığında, birincil ambalajı içinde, ürünün üzerindeki etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir.
- Belirtilen son kullanma tarihi geçmiş sarf malzemelerini ve reaktifleri kullanmayın.
- Birincil veya ikincil ambalajının hasar gördüğü görsel olarak tespit edilen hiçbir test ürününü kullanmayın.
- Başka bir NeuMoDx System'a önceden yüklenmiş hiçbir test ürününü yeniden yüklemeyin.
- NeuMoDx HCV Quant Test Strip, yüklendikten sonra, NeuMoDx System üzerinde 14 güne kadar kalabilir. Yüklü test şeritlerinin kalan raf ömrü yazılım tarafından takip edilir ve kullanıcıya gerçek zamanlı olarak bildirilir. Sistem, izin verildenden daha uzun süreliğine kullanılmış test şeritlerinin çıkarılmasını ister.

NUMUNE TOPLAMA, TAŞIMA VE SAKLAMA

1. Tüm numuneleri, kalibratörleri ve kontrolleri, enfeksiyöz ajan bulaştırma olasılığı varmış gibi kullanın.
2. Tam kanı veya birincil tüplerde saklanan hiçbir numuneyi dondurmayın.
3. Plazma numunelerini hazırlamak için tam kan, antikoagulan olarak EDTA veya ACD kullanılan steril tüplerde veya plazma hazırlık tüplerinde (plasma preparation tubes, PPT) toplanmalıdır. Hazırlık ve depolama için numune toplama tüpü üreticisinin talimatlarına uyun.
4. Serum numunelerini hazırlamak için tam kan serum tüplerinde veya SST tüplerinde toplanmalıdır. Hazırlık ve depolama için numune toplama tüpü üreticisinin talimatlarına uyun.
5. Numuneler birincil toplama tüplerinde veya ikincil numune tüplerinde test edilebilir. Birincil tüp testi için tavsiye edilenler:
 - a. Plazma numuneleri: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD #368589) veya BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
 - b. Serum numuneleri: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD #367820) veya BD Vacutainer SST™ Tube (BD #367988).
6. Hazırlanan numuneler, işlenmeden önce NeuMoDx System'da 8 saate kadar saklanabilir. İlave saklama süresi gerekiyorsa numunelerin soğutulması veya ikincil alikotlar olarak dondurulması önerilir.
7. Hazırlanan numuneler testten önce, 7 günü aşmamak kaydıyla 2-8 °C sıcaklıkta ve oda sıcaklığında maksimum 8 saat saklanmalıdır.
8. İkincil tüplerdeki hazırlanan numuneler, işlenmeden önce 24 haftaya kadar ≤-20 °C'de saklanabilir. Dondurulmuş numuneler, kullanılmadan önce ikiden (2) fazla dondurma/çözdürme döngüsüne tabi tutulmamalıdır.

- Dondurulmuş ve bir (1) dondurma-çözdürme döngüsüne tabi tutulan plazma numuneleri sistemde yerleşik olarak 8 saat daha saklanabilir.
 - Dondurulmuş ve iki (2) dondurma-çözdürme döngüsüne tabi tutulan plazma numuneleri 4 saatten uzun süre sistemde yerleşik olarak saklanmamalıdır.
 - Dondurulmuş ve bir (1) veya iki (2) dondurma-çözdürme döngüsüne tabi tutulmuş serum numuneleri çözündürüldükten hemen sonra test edilmelidir.
 - Örnekler dondurulmuşsa örneklerin oda sıcaklığında (15-30 °C) tamamen çözülmesini bekleyin; eşit dağılımlı bir örnek elde etmek için vorteksleyin.
 - Plazma/serumun birincil toplama tüplerinde dondurulması önerilmez.
- Gönderilen numuneler ambalajlanmalı ve uygun ülke düzenlemeleri ve/veya uluslararası düzenlemeler ile uyumlu bir şekilde etiketlenmelidir.
 - Numuneleri anlaşılır bir şekilde etiketleyin ve numunelerin HCV testi için olduğunu belirtin.
 11. *Test Hazırlığı* bölümüne ilerleyin.

NeuMoDx HCV Quant Assay'ın genel uygulama süreci aşağıda Şekil 1'de özetlenmektedir.



Şekil 1: NeuMoDx HCV Quant Assay Uygulaması İş Akışı

KULLANMA TALİMATI

Test Hazırlığı

NeuMoDx HCV Quant Assay doğrudan birincil kan toplama tüplerinden veya ikincil tüplerdeki numune alikotlarından çalışılabilir. İşleme, iki numune hacmi işleme iş akışından biri kullanılarak gerçekleştirilebilir: 550 µL numune hacmi iş akışı veya 200 µL numune hacmi iş akışı.

- Numune barkod etiketini, NeuMoDx System ile uyumlu numune tüpüne uygulayın. Birincil kan toplama tüpü etiketlenebilir ve üreticinin talimatları doğrultusunda santrifügasyon sonrası doğrudan 32 tüplü bir Numune Tüpü Taşıyıcıya yerleştirilebilir. Alternatif olarak, plazmanın bir alikotu, NeuMoDx System üzerinde işlenmek üzere ikincil bir tüpe aktarılabilir.

2. Birincil toplama tüpündeki numuneyi test ediyorsanız barkodlu tüpü bir Numune Tüpü Taşıyıcısına yerleştirin ve NeuMoDx System'a yüklemeye önce kapağının çıkarıldığından emin olun. Beyaz kan hücresi katmanının **üzerindeki** minimum hacimler aşağıda tanımlanmıştır ve numuneler, tüp üreticisinin talimatları doğrultusunda toplandı ve işlendiği sürece elde edilecektir. Uygun şekilde toplanmayan numuneler için performans garantisi edilemez.

Tüp Tipi	Minimum Gerekli Numune Hacmi	
	550 µL İş Akışı	200 µL İş Akışı
SST – 3,5 mL	1550 µL	1200 µL
PPT/SST – 5,0 mL	1800 µL	1450 µL
PPT/SST – 8,5 mL	2500 µL	2200 µL
K ₂ EDTA/Serum – 4,0 mL	1050 µL	700 µL
K ₂ EDTA/Serum – 6,0 mL	1250 µL	900 µL
K ₂ EDTA/Serum – 10,0 mL	1600 µL	1250 µL

3. İkincil tüp kullanıyorsanız:
- Eşit dağılım sağlamak için numuneyi nazikçe vorteksleyin
 - Her numune için yeni bir transfer pipeti kullanarak, aşağıda tanımlanan hacimlere göre, NeuMoDx System ile uyumlu olan barkodlu numune tüpüne, plazmanın veya serumun bir alikotunu aktarın:

Numune Tüpü Taşıyıcısı	Tüp Boyutu	Minimum Gerekli Numune Hacmi	
		550 µL İş Akışı	200 µL İş Akışı
32-Tube Specimen Tube Carrier (32 Tüplü Numune Tüpü Taşıyıcısı)	11-14 mm çap x 60-120 mm yükseklik	700 µL	400 µL
24-Tube Specimen Tube Carrier (24 Tüplü Numune Tüpü Taşıyıcısı)	14,5-18 mm çap x 60-120 mm yükseklik	1100 µL	800 µL
Low Volume Specimen Tube Carrier (Düşük Hacimli Numune Tüpü Taşıyıcısı)	1,5 mL'lik konik tabanlı mikrosantrifüj tüpü	650 µL	300 µL

- Örnekten numune tüpüne pıhtı aktarmamaya dikkat edilmelidir.

NeuMoDx System Çalışması

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

- Test isteğini, istenen numune hacmi iş akışı ve numune tüpü tipine göre NeuMoDx System'a yükleyin.
 - 550 µL numune hacmi, numune tipi "**Plasma**" (Plazma) veya "**Serum**" olarak tanımlanarak test edilir
 - 200 µL numune hacmi, numune tipi "**Plasma2**" (Plazma2) veya "**Serum2**" (Serum2) olarak tanımlanarak test edilir
 - Test isteğinde tanımlanmamışsa varsayılan olarak, bir **Secondary Tube** (ikincil Tüp) içinde **Plasma** (Plazma) numune tipi kullanılacaktır.
- Bir veya daha fazla NeuMoDx System Test Strip taşıyıcısını, NeuMoDx HCV Quant Test Strip'leri ile doldurun ve Test Strip Carrier'ları NeuMoDx System'a yüklemek için dokunmatik ekranı kullanın.
- 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.
- NeuMoDx System yazılımı tarafından istenmesi halinde NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent'ı değiştirin, Sıvı Geçirme Atığı, Biyolojik Tehlikeli Atık Kabı (yalnızca NeuMoDx 288 Molecular System), Uç Atık Kutusu (yalnızca NeuMoDx 96 Molecular System) veya Biyolojik Tehlikeli Atık Kutusunu (yalnızca NeuMoDx 96 Molecular System) uygun şekilde boşaltın.
- NeuMoDx System yazılımı tarafından istenirse NeuMoDx HCV Calibrator'ları ve/veya NeuMoDx HCV External Control'ları işleyin. Kalibratörler ve kontrollere ilişkin daha fazla bilgi *Sonuçları İşleme* bölümünde bulunabilir.
- Numune/kalibratör/kontrol tüplerini Numune Tüpü Taşıyıcısına yükleyin ve tüm tüplerin kapaklarının çıkarılmış olduğundan emin olun.
- Numune Tüpü Taşıyıcılarını otomatik yükleyici rafına yerleştirin ve taşıyıcıyı NeuMoDx System'a yüklemek için dokunmatik ekranı kullanın. Böylece, sistemde geçerli bir test isteği bulunduğu sürece, tanımlanan testler için yüklenen numuneler işlenmeye başlar.

SINIRLAMALAR

1. NeuMoDx HCV Quant Test Strip yalnızca NeuMoDx System'lar üzerinde kullanılabilir.
2. NeuMoDx HCV Quant Test Strip'in performansı, antikoagülan olarak EDTA/ACD ile hazırlanan plazma numuneleri veya serum ayırma tüplerinde hazırlanan serum numuneleri için belirlenmiştir. NeuMoDx HCV Quant Test Strip'in başka kaynaklar ile kullanımı değerlendirilmemiştir ve diğer numune türleri için performans özellikleri bilinmemektedir.
3. NeuMoDx HCV Quant Test Strip'in performansı birincil tüp testi için BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tube'lar, BD Vacucontainer PPT Plasma Preparation Tube'lar, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube'lar ve BD Vacutainer SST Tube'lar kullanılarak belirlenmiştir.
4. Saklama koşulları dışında numune kullanımı, NeuMoDx HCV Quant Assay'in kantitatif doğruluğunu olumsuz yönde etkileyebilir ancak kalitatif (Pozitif/Negatif) doğru sonuç oranını etkileme olasılığı daha düşüktür.
5. Uzun süreli dondurulmuş halde saklamadan ve iki dondurma-çözdürme döngüsüne tabi tutulduktan sonra serum numunelerini, hemen test etmeden sistemde yerleşik olarak saklamak, NeuMoDx HCV Quant Assay'in kantitatif doğruluğunu olumsuz yönde etkileyebilir.
6. 200 µL numune hacmi iş akışı kullanıldığında, NeuMoDx HCV Quant Assay'in saptama limitinde ve alt kantitasyon limitinde ufak bir artış gözlemlenmiştir.
7. NeuMoDx HCV Quant Assay, heparinize insanlardan alınan örneklerle kullanılmamalıdır.
8. HCV saptaması örnekte bulunan hedef RNA viral partiküllerinin sayısına bağlı olduğundan güvenilir sonuçlar alınması, doğru numune toplama, kullanımı ve saklamaya bağlıdır.
9. NeuMoDx HCV Calibrator'lar ve NeuMoDx HCV External Control'lar, rutin klinik örnekler işlenmeden önce NeuMoDx System yazılımı tarafından istendiğinde prospektüste önerildiği şekilde işlenmelidir.
10. Uygun olmayan numune toplama, kullanma, saklama, teknik hata veya numune tüplerinin karıştırılması sonucu hatalı sonuçlar elde edilebilir. Bunlara ek olarak, örnekteki viral partiküllerin sayısı NeuMoDx HCV Quant Assay'in saptama limitinin altında olduğu için yanlış negatif sonuçlar elde edilebilir.
11. NeuMoDx System'in kullanımı, NeuMoDx System kullanımı konusunda eğitim almış personelle sınırlandırılmıştır.
12. Hem HCV hedefinin hem de SPC2 hedefinin amplifiye olmaması durumunda geçersiz bir sonuç (Indeterminate (Şüpheli), No Result (Sonuç Yok) veya Unresolved (Çözümlememiş)) raporlanır ve testin tekrarlanması gerekir.
13. NeuMoDx HCV Quant Assay sonucu Positive (Pozitif) ancak kantitasyon değeri kantitasyon limitlerinin ötesindeyse NeuMoDx System, saptanan HCV'nin Alt Kantitasyon Limitinin (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) *altında* mı yoksa Üst Kantitasyon Limitinin (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) *üstünde* mi olduğunu raporlar.
14. Saptanan HCV'nin LLoQ'nun *altında* olması durumunda NeuMoDx HCV Quant Assay, numunenin başka bir alikotu ile (istenirse) tekrarlanabilir.
15. Saptanan HCV'nin, ULoQ değerinin üstünde olması durumunda NeuMoDx HCV Quant Assay, orijinal numunenin seyreltilmiş bir alikotu ile tekrarlanabilir. HCV negatif plazmanın veya Basematrix 53 Diluent'in (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA) 1:100 veya 1:1000 oranında bir dilüsyonu önerilir. Orijinal numunenin konsantrasyonu aşağıda belirtildiği gibi hesaplanır:
$$\text{orijinal numune konsantrasyonu} = \log_{10}(\text{seyreltme faktörü}) + \text{seyreltilmiş örneğin raporlanan konsantrasyonu}$$
16. Zaman zaman plazma ve serumdaki PCR inhibitörlerinin varlığı bir sistem kantitasyon hatasıyla sonuçlanabilir. Bunun olması durumunda testin Basematrix içinde 1:10 veya 1:100 oranında seyreltilmiş aynı numune ile tekrarlanması tavsiye edilir.
17. Pozitif bir sonuç, her zaman canlı organizmaların varlığına işaret etmez. Bununla birlikte pozitif bir sonuç, hepatit C virüsü RNA'sı varlığının olası olduğu anlamına gelir.
18. NeuMoDx HCV Quant Assay tarafından hedeflenen korunmuş bölgelerdeki silinme veya mutasyonlar, saptamayı etkileyebilir veya NeuMoDx HCV Quant Test Strip kullanılırken hatalı bir sonuca yol açabilir.
19. NeuMoDx HCV Quant Assay'den elde edilen sonuçlar, klinik gözlemler ve doktorun ulaşabildiği diğer bilgilere ek olarak kullanılmalıdır. Test, enfeksiyon tanısı koyma amacı taşımamaktadır.
20. 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 HCV Quant Assay sonuçları NeuMoDx System yazılımı tarafından, NeuMoDx HCV Tahlil Tanımlama Dosyasında (HCV Assay Definition File, HCV ADF) belirtilen karar algoritması ve sonuç işleme parametreleri kullanılarak otomatik olarak oluşturulur. Sonuç, hedefin ve örnek işleme kontrolünün amplifikasyon durumuna dayalı olarak Negative (Negatif), Raporlanan HCV konsantrasyonu ile Positive (Pozitif), ULOQ'nun üzerinde Positive (Pozitif), LLOQ'nun altında Positive (Pozitif), Indeterminate (Şüpheli) (IND), Unresolved (Çözümlememiş) (UNR) veya No Result (Sonuç Yok) (NR) olarak raporlanabilir. Sonuçlar, aşağıda *Tablo 1*'de özetlenen ADF karar algoritmasına dayalı olarak raporlanır.

Tablo 1. NeuMoDx HCV Quant Assay Karar Algoritmasının Özeti

SONUÇ	HCV Hedefi	Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC2)	Sonucun Yorumlanması
Raporlanan Konsantrasyonla Birlikte Positive (Pozitif)	Amplified (Amplifiye) $0,9 \leq [HCV] \leq 8,2 \log_{10} \text{ IU/mL}$ (550 μL İş Akışı) $1,5 \leq [HCV] \leq 8,2 \log_{10} \text{ IU/mL}$ (200 μL İş Akışı)	Amplified (Amplifiye) veya Not Amplified (Amplifiye Değil)	Kantitatif aralık içinde HCV RNA'sı saptandı
Positive (Pozitif), ULOQ üzerinde	Amplified (Amplifiye) $[HCV] > 8,2 \log_{10} \text{ IU/mL}$	Amplified (Amplifiye) veya Not Amplified (Amplifiye Değil)	Kantitatif aralık üzerinde HCV RNA'sı saptandı
Positive (Pozitif), LLOQ altında	Amplified (Amplifiye) $[HCV] < 0,9 \log_{10} \text{ IU/mL}$ (550 μL İş Akışı) $[HCV] < 1,5 \log_{10} \text{ IU/mL}$ (200 μL İş Akışı)	Amplified (Amplifiye) veya Not Amplified (Amplifiye Değil)	Kantitatif aralığın altında HCV RNA'sı saptandı
Negative (Negatif)	Not Amplified (Amplifiye Değil)	Amplified (Amplifiye)	HCV RNA'sı saptanmadı
Indeterminate (Şüpheli)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Amplifiye Değil, Sistem Hatası Saptandı, Örnek İşleme Tamamlandı)		Tüm hedef sonuçları geçersiz; örneği yeniden test edin†
No Result* (Sonuç Yok)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Amplifiye Değil, Sistem Hatası Saptandı, Örnek İşleme İptal Edildi)		Örnek işleme iptal edildi; örneği yeniden test edin†
Unresolved (Çözümlememiş)	Not Amplified, No System Error Detected (Amplifiye Değil, Sistem Hatası Saptanmadı)		Tüm hedef sonuçları geçersiz; örneği yeniden test edin†

*No Result (Sonuç Yok) işareti yalnızca NeuMoDx System yazılım sürümleri 1.8 ve üzerinde raporlanır.

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

Test Hesaplaması

- NeuMoDx HCV Quant Assay'in Kantitasyon aralığında olan örnekler söz konusu olduğunda, örneklerdeki HCV RNA'sı konsantrasyonu, saklanan standart eğri kalibrasyon katsayısıyla ve numune hacmiyle birlikte kullanılarak hesaplanır.
 - Belirli bir NeuMoDx System'da, belirli bir NeuMoDx HCV Quant Test Strip lotu için standart eğri geçerliliğini belirlemek üzere işlenen NeuMoDx HCV Calibrator'ların sonuçlarına dayalı olarak bir kalibrasyon katsayısı hesaplanır.
 - Kalibrasyon katsayısı, HCV RNA'sı konsantrasyonunun nihai tayini için kullanılır.
 - NeuMoDx Yazılımı, numune mL'si başına HCV RNA'sı konsantrasyonunu belirlerken numune giriş hacmini hesaba katar.
- NeuMoDx HCV Quant Assay sonuçları \log_{10} IU/mL cinsinden raporlanır.
- Bilinmeyen örneklerin elde edilen kantitasyonu, WHO 5. HCV Uluslararası Standardına göre izlenebilir.

Test Kalibrasyonu

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

Kalibratörler

- Her yeni NeuMoDx HCV Quant Test Strip lotu ile, NeuMoDx System'a yeni bir HCV Tahlil Tanımlama Dosyası yüklenmişse, mevcut kalibratör setinin geçerlilik süresi (mevcut durumda 90 güne ayarlıdır) dolmuşsa veya NeuMoDx System yazılımı üzerinde değişiklik yapılmışsa bir NeuMoDx HCV Calibrator setinin işlenmesi gerekir.
- NeuMoDx System yazılımı, kalibratörlerin işlenmesi gerektiğinde kullanıcıyı bilgilendirir. Kalibratörler başarıyla işlenene kadar test için yeni bir test şeridi lotu kullanılamaz.
- Kalibrasyon geçerliliği aşağıdaki şekilde belirlenir:
 - Geçerliliği belirlemek için bir (1) yüksek ve bir (1) düşük olmak üzere iki kalibratörden oluşan bir set işlenmelidir.
 - Üç (3) tekrarın en az ikisinden (2) ön tanımlı parametreler dahilinde sonuçlar elde edilmelidir. Düşük kalibratör nominal hedefi $3 \log_{10} \text{ IU/mL}$, yüksek kalibratör nominal hedefi ise $5 \log_{10} \text{ IU/mL}$ 'dir.

- c) Test şeridi lotları arasında beklenen varyasyonu hesaba katmak için bir kalibrasyon katsayısı hesaplanır. Bu kalibrasyon katsayısı, nihai HCV konsantrasyonunun tayininde kullanılır.
4. Bir veya her iki kalibratörün geçerlilik kontrolünde başarısız olması durumunda başarısız kalibratörlerin işlemlerini, yeni bir şişe kullanarak tekrarlayın. Kalibratörlerden birisinin geçerlilik kontrolünde başarısız olması halinde sistem kullanıcının her iki kalibratörü de tekrar çalıştırmasını gerektirmediği için yalnızca başarısız olan kalibratörün tekrarlanması mümkündür.
5. Kalibratörlerin geçerlilik kontrolünde art arda 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. NeuMoDx HCV Quant Assay ile test süresince 24 saatte bir olmak üzere pozitif ve negatif harici kontrollerin işlenmesi gerekir. Geçerli bir harici kontrol sonuç seti mevcut değilse NeuMoDx System yazılımı, kullanıcıdan, örnek sonuçlarının raporlanabilmesi için kontrollerin işlenmesini ister.
2. Harici kontrollerin geçerliliği, beklenen sonuca dayalı olarak NeuMoDx System tarafından değerlendirilir. Pozitif kontrol, HCV Positive (HCV Pozitif) bir sonuç, negatif kontrol ise EBV Negative (EBV Negatif) bir sonuç vermelidir.
3. Harici kontroller için tutarsız sonuçlar aşağıdaki şekilde ele alınmalıdır:
 - a) Negatif kontrol örneği için Positive (Pozitif) test sonucu raporlanması, numune kontaminasyon sorununa işaret eder.
 - b) Pozitif kontrol örneği için Negative (Negatif) test sonucu raporlanması, reaktif veya cihaz ile ilgili bir sorun olduğuna işaret eder.
 - c) Yukarıdaki durumların her birinde veya Indeterminate (Şüpheli) (IND) bir sonuç ya da No Result (Sonuç Yok) (NR) durumunda, NeuMoDx HCV External Control'ları geçerlilik testinde başarısız olan kontrollerin bulunduğu taze şişelerle tekrarlayın.
 - d) Pozitif NeuMoDx HCV External Control Negative (Negatif) sonuç raporlamaya devam ederse NeuMoDx teknik servisi ile iletişime geçin.
 - e) Negatif NeuMoDx HCV External Control Positive (Pozitif) sonuç raporlamaya devam ederse NeuMoDx teknik servisi ile iletişime geçmeden önce, tüm reaktifleri değiştirmek de dahil olmak üzere, tüm olası kontaminasyon kaynaklarını ortadan kaldırmayı deneyin.

Örnek İşleme (Dahili) Kontrolleri

Eksojen bir Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC2), NeuMoDx Extraction Plate'e dahil edilir ve her bir örnekle, tüm nükleik asit ekstraksiyonu ve gerçek zamanlı RT-PCR amplifikasyonu işleminden geçer. SPC2'ye özgü primerler ve probalar da her bir NeuMoDx HCV Quant Test Strip'e eklenerek, multiplex gerçek zamanlı RT-PCR aracılığıyla, hedef HCV RNA'sı (varsa) ile SPC2'nin varlığının saptanmasını sağlar. SPC2 amplifikasyonunun saptanması, NeuMoDx System yazılımının, RNA ekstraksiyonu ve RT-PCR amplifikasyonu işlemlerinin etkililiğini izlemesini sağlar.

Geçersiz Sonuçlar

NeuMoDx System üzerinde gerçekleştirilen bir NeuMoDx HCV Quant Assay'in örnek işleme tamamlandıktan sonra geçerli bir sonuç üretememesi durumunda, meydana gelen hatanın türüne dayalı olarak Indeterminate (IND) (Şüpheli), No Result (NR) (Sonuç Yok) veya Unresolved (UNR) (Çözümlememiş) sonucu 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, sistem hatası yokken HCV RNA'sı veya SPC2'nin 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 yapılması önerilir. Yeniden yapılan test başarısız olursa örnek inhibisyonunun etkilerini hafifletmek için seyreltilmiş bir numune kullanılabilir.

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

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Analitik Duyarlılık – WHO Standardı Kullanılarak Saptama Limiti

NeuMoDx HCV Quant Assay'in Analitik Duyarlılığı, NeuMoDx System'lar üzerinde Saptama Limitinin (Limit of Detection, LoD) belirlenmesi için negatif numuneler ve WHO 5. Uluslararası Standardının (genotip 1) bir dilüsyon serisi, taranmış negatif insan plazma ve serumunda test edilerek karakterize edilir. LoD, Probit tarzı analiz tarafından belirlendiği şekilde, %95 oranında saptanan en düşük hedef seviyesi olarak tanımlanmıştır. Çalışma, 3 gün boyunca, birçok sistem arasında, birçok NeuMoDx reaktif lotu ile gerçekleştirilmiştir. Her sistem (N288 ve N96), her bir dilüsyon seviyesinde günde 18 tekrar işlemiştir. Saptama oranları *Tablo 2'*de gösterilmektedir. NeuMoDx HCV Quant Assay'in 200 µL numune hacmi iş akışı kullanıldığında LoD'sini belirlemek için ek bir çalışma yürütülmüş olup sonuçları *Tablo 3'*te gösterilmektedir.

Tablo 2. NeuMoDx HCV Quant Assay'in LoD'sini Belirlemek için Pozitif Saptama Oranları – 550 µL İş Akışı

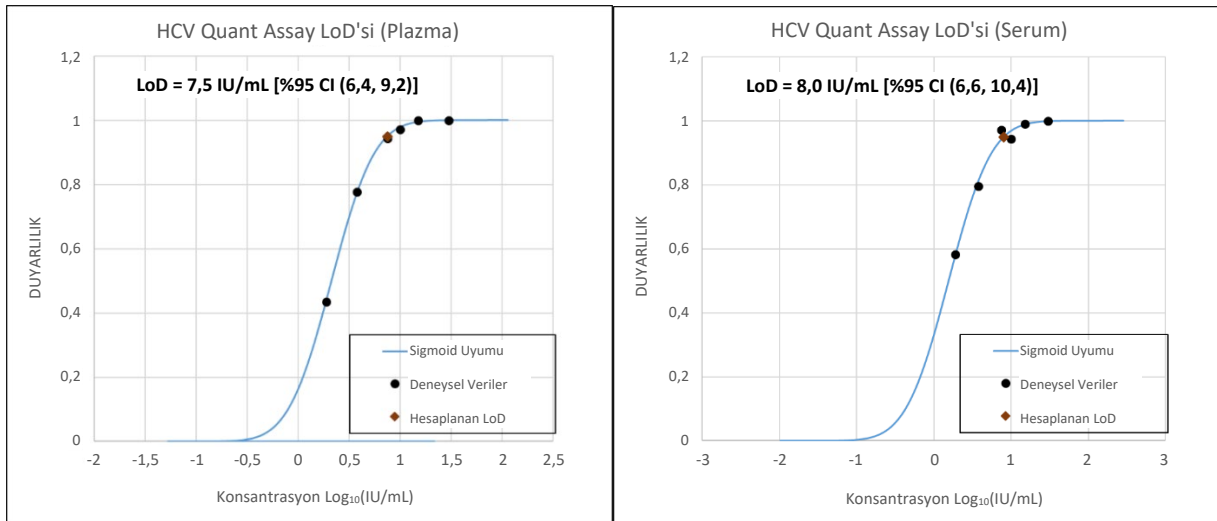
Hedef Konsantrasyon [IU/mL]	Hedef Konsantrasyon [\log_{10} IU/mL]	PLAZMA			SERUM		
		Geçerli Testlerin Sayısı	Pozitiflerin Sayısı	Saptama Oranı	Geçerli Testlerin Sayısı	Pozitiflerin Sayısı	Saptama Oranı
30	1,48	108	108	%100	108	108	%100
15	1,18	108	108	%100	108	107	%99
10	1,00	108	105	%97	108	102	%94
7,5	0,88	108	102	%94	108	105	%97
3,75	0,57	108	84	%78	108	86	%80
1,875	0,27	108	47	%44	108	63	%58
NEG	0	108	0	%0	107	1	%0,93

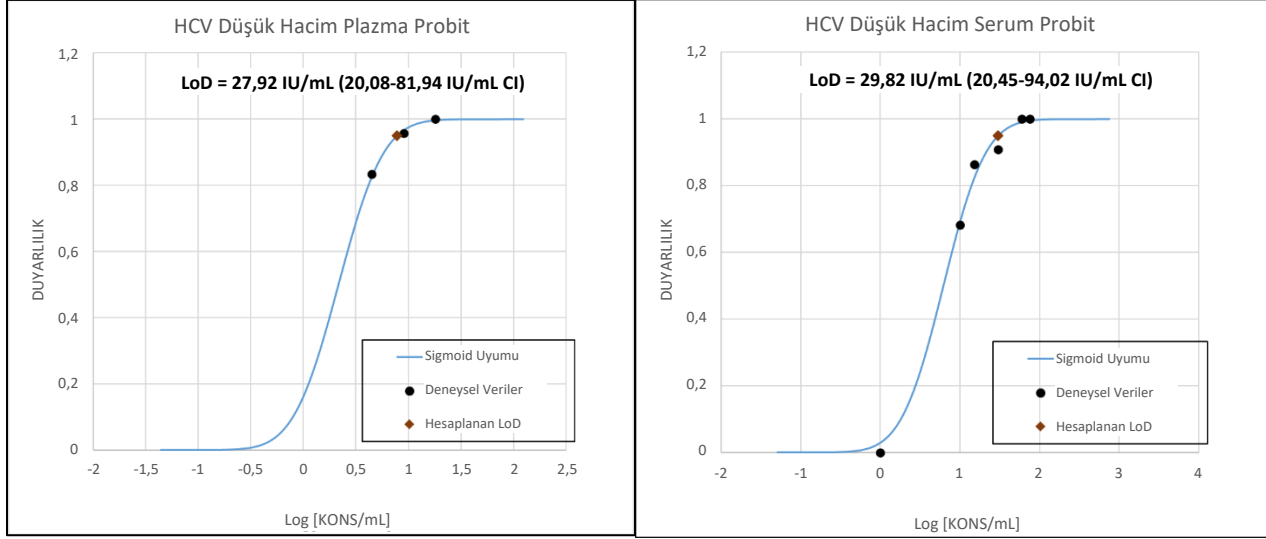
Tablo 3. NeuMoDx HCV Quant Assay'in LoD'sini Belirlemek için Pozitif Saptama Oranları – 200 µL İş Akışı

Hedef Konsantrasyon [IU/mL]	Hedef Konsantrasyon [\log_{10} IU/mL]	PLAZMA			SERUM		
		Geçerli Testlerin Sayısı	Pozitiflerin Sayısı	Saptama Oranı	Geçerli Testlerin Sayısı	Pozitiflerin Sayısı	Saptama Oranı
75	1,88	Uygulanamaz	Uygulanamaz	Uygulanamaz	22	22	%100
60	1,78	22	22	%100	22	22	%100
30	1,48	22	21	%95,5	22	20	%90,9
15	1,18	22	17	%77,3	22	19	%86,4
10	1,00	22	13	%59,1	22	15	%68,2
NEG	0	22	0	%0	22	0	%0

Plazmada NeuMoDx HCV Quant Assay'in LoD'si, NeuMoDx 288 Molecular System'da 550 µL numune hacmi iş akışı kullanılarak test edildiği şekilde, tüm genotipler genelinde 7,5 IU/mL (%95 CI 6,4 ila 9,2 IU/mL) [(0,9 \log_{10} IU/mL) (%95 CI 0,8 ila 1,0 \log_{10} IU/mL)] olarak belirlenmiştir (Şekil 2). Serum numuneleri için NeuMoDx HCV Quant Assay'in LoD'si, 550 µL numune hacmi iş akışı kullanıldığında 8,0 IU/mL (%95 CI 6,6 ila 10,4 IU/mL) [(0,9 \log_{10} IU/mL) (%95 CI 0,8-1,0 \log_{10} IU/mL)] olarak belirlenmiştir (Şekil 2); her iki numune tipi için LoD değeri, 550 µL numune hacmi iş akışı kullanıldığında **8,0 IU/mL (0,9 \log_{10} IU/mL)** olmuştur.

NeuMoDx HCV Quant Assay'in LoD'si, 200 µL numune hacmi iş akışı kullanıldığında plazma numunelerinde 27,9 IU/mL (%95 CI 20,1-81,9) ve serum numunelerinde 29,8 IU/mL (%95 CI 20,5-94,0) olarak belirlenmiştir (Şekil 3); her iki numune tipi için LoD değeri, 200 µL numune hacmi iş akışı kullanıldığında **30,0 IU/mL (1,5 \log_{10} IU/mL)** olmuştur.


Şekil 2: NeuMoDx HCV Quant Assay'in LoD'sini Belirlemek için Kullanılan Probit Tarzı Analiz; Plazma (sol) ve Serum (sağ) – 550 µL İş Akışı



Şekil 3: NeuMoDx HCV Quant Assay'in LoD'sini Belirlemek İçin Kullanılan Probit Tarzı Analiz; Plazma (sol) ve Serum (sağ) – 200 µL İş Akışı

Analitik Duyarlılık – Kantitasyon Limiti – WHO Standardı kullanılarak Alt Kantitasyon Limiti (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

Alt Kantitasyon Limiti (Lower Limit of Quantitation, LLoQ), >%95 saptama oranına ulaşılan VE TAE'nin $\leq 1,0$ olduğu en düşük hedef seviyesi olarak tanımlanır. LLoQ'yu belirlemek üzere, LoD hesaplamasının bir parçası olarak >%95 saptama raporladığı gösterilen her bir HCV hedef seviyesi için toplam analitik hata (total analytical error, TAE) hesaplanmıştır. TAE aşağıdaki şekilde tanımlanır:

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

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

LLoQ çalışmasında, 550 µL numune hacmi iş akışı ile genotip 1 kullanılarak test edilen HCV plazma ve serum numunelerinin 6 seviyesi için derlenen sonuçlar *Tablo 4*'te gösterilmektedir. 200 µL numune hacmi iş akışının kullanıldığı ilave testlerden elde edilen sonuçlar *Tablo 5*'te gösterilmektedir.

Tablo 4. NeuMoDx HCV Quant Assay LLoQ'su, Yanlılık ve TAE ile – 550 µL İş Akışı

Hedef Kons. [IU/mL]	Hedef Kons. [\log_{10} IU/mL]	Plazma					Serum				
		Ortalama Kons. [\log_{10} IU/mL]	Saptama (%)	SD	Yanlılık	TAE	Ortalama Kons. [\log_{10} IU/mL]	Saptama (%)	SD	Yanlılık	TAE
30,00	1,48	1,41	100	0,32	0,07	0,71	1,39	100	0,30	0,08	0,69
15,00	1,18	1,24	100	0,36	0,06	0,79	1,23	99	0,32	0,06	0,70
10,00	1,00	1,07	97	0,35	0,07	0,77	1,14	94	0,36	0,14	0,85
7,50	0,88	1,01	94	0,44	0,13	1,02	1,12	97	0,25	0,25	1,09
3,75	0,57	1,08	78	0,43	0,51	1,38	1,17	80	0,58	0,59	1,76
1,88	0,27	1,11	44	0,36	0,83	1,55	1,11	58	0,69	0,84	2,22

Tablo 5. NeuMoDx HCV Quant Assay LLoQ'su, Yanlılık ve TAE ile – 200 µL İş Akışı

Hedef Kons. [IU/mL]	Hedef Kons. [\log_{10} IU/mL]	Plazma					Serum				
		Ortalama Kons. [\log_{10} IU/mL]	Saptama (%)	SD	Yanlılık	TAE	Ortalama Kons. [\log_{10} IU/mL]	Saptama (%)	SD	Yanlılık	TAE
75	1,88	Uygulanamaz	Uygulanamaz	Uygulanamaz	Uygulanamaz	Uygulanamaz	1,56	100	0,23	0,32	0,78
60	1,78	1,93	100	0,39	0,15	0,93	1,56	100	0,27	0,22	0,76
30	1,48	1,35	96	0,44	0,11	0,99	1,45	91	0,41	0,03	0,85
15	1,18	1,37	77	0,42	0,18	1,03	1,36	86	0,53	0,18	1,25
10	1,00	1,26	59	0,56	0,25	1,36	1,15	68	0,53	0,15	1,21

NeuMoDx HCV Quant Assay'in LLoQ değeri, 550 µL numune hacmi iş akışı kullanıldığında, plazma için 7,7 IU/mL (0,9 log₁₀ IU/mL) ve serum için 8,4 IU/mL (0,9 log₁₀ IU/mL) olarak belirlenmiştir; hem plazma hem de serum için LLoQ değeri, 550 µL numune hacmi iş akışı kullanıldığında, **8,4 IU/mL (0,9 log₁₀ IU/mL)** olarak belirlenmiştir.

NeuMoDx HCV Quant Assay'in LLoQ değeri, WHO Standardı ve 200 µL numune hacmi iş akışı kullanıldığında, plazma için 30,0 IU/mL (1,5 log₁₀ IU/mL) ve serum için 29,8 IU/mL (1,37 log₁₀ IU/mL) olarak belirlenmiştir; hem plazma hem de serum için LLoQ değeri, 200 µL numune hacmi iş akışı kullanıldığında **30,0 IU/mL (0,9 log₁₀ IU/mL)** olarak belirlenmiştir.

Analitik Duyarlılık - HCV Genotiplerinde LoD ve LLoQ

LoD öncelikle Genotip 1 (5. WHO Uluslararası Standardı) için belirlenmiş ve ardından, diğer 5 genotipten her biri kullanılarak belirlenen LoD etrafında ilave testler gerçekleştirilmiştir. %95 CI ile LoD üst limitinin 2, 1 ve 0,5 katına karşılık gelen seviyelerden otuz altı (36) tekrar, 550 µL numune hacmi iş akışlı plazmanın kullanıldığı NeuMoDx HCV Quant Assay kullanılarak test edilmiştir. Test edilen bu seviyelerin her birinde bulunan her bir genotip için pozitif yüzde oranı tablo haline getirilmiş ve Probit tarzı bir analiz kullanılarak LoD'yi hesaplamak için kullanılmıştır.

Test edilen bu seviyelerdeki Toplam Analitik Hata da hesaplanmıştır. Pozitif saptamanın %95 olduğu ve hesaplanan TAE'nin ≤1,0 olduğu en düşük seviyenin tekrar, genotipin LLoQ'su olduğu kabul edilmiştir. Bu sonuçlar, NeuMoDx HCV Quant Assay'in, 5. WHO Uluslararası Standardı ile (Genotip 1) elde edilen sonuçlar dahil olmak üzere, 4,5 – 7,5 IU/mL aralığında altı genotipte mükemmel ve eşdeğer saptama performansına sahip olduğunu doğrulamaktadır. Genel olarak, 5. WHO Uluslararası Standardı (yukarıda Genotip 1) için raporlandığı şekilde, NeuMoDx HCV Quant Assay'in genotipler genelindeki LoD'si 7,5 IU/mL (0,88 Log₁₀ IU/mL) ve LLoQ'su en yüksek değer olan 7,7 IU/mL (0,9 Log₁₀ IU/mL) olarak belirlenmiştir. *Tablo 6*, plazmada belirlendiği şekilde, HCV genotipleri genelinde testlerin LoD ve LLoQ sonuçlarını göstermektedir.

Tablo 6. 550 µL Numune Hacmi İş Akışı kullanılarak Plazmada Test Edilen HCV Genotipleri

GENOTİP	LoD [IU/mL]	LLoQ [IU/mL]
1	7,5	7,7
2	4,5	5,2
3	7,5	7,5
4	6,0	6,0
5	4,8	5,5
6	4,5	6,7

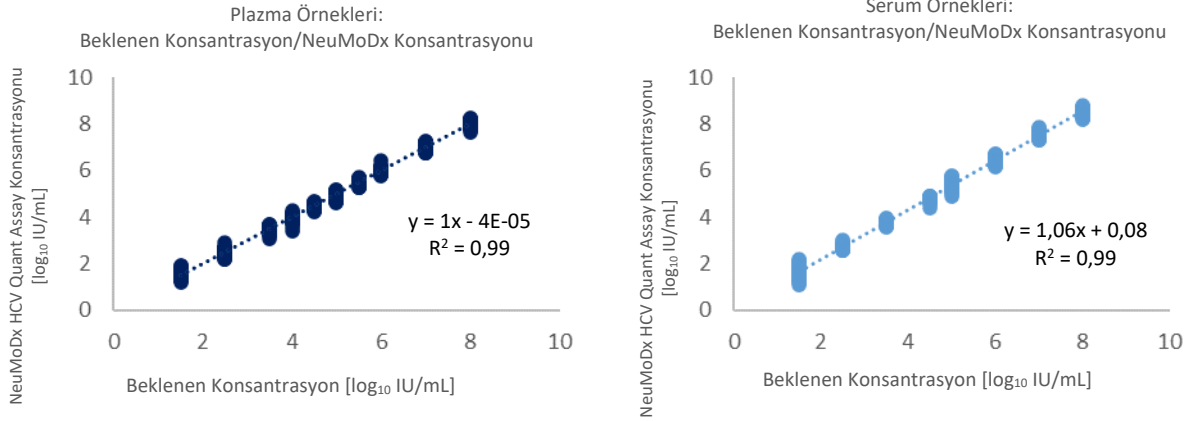
Yukarıda referans alınan çalışmaların sonucuna dayalı olarak NeuMoDx, NeuMoDx HCV Quant Assay için **plazma ve serumda, 550 µL numune hacmi iş akışı** kullanıldığında **8,0 IU/mL'lik (0,9 log₁₀ IU/mL)** bir LoD ve **8,4 IU/mL'lik (0,9 log₁₀ IU/mL)** bir LLoQ öne sürmektedir.

Her iki numune tipinde (plazma ve serum) NeuMoDx HCV Quant Assay için öne sürülen **LoD ve LLoQ 200 µL numune hacmi iş akışı kullanıldığında 30,0 IU/mL (1,5 log₁₀ IU/mL) olmuştur.**

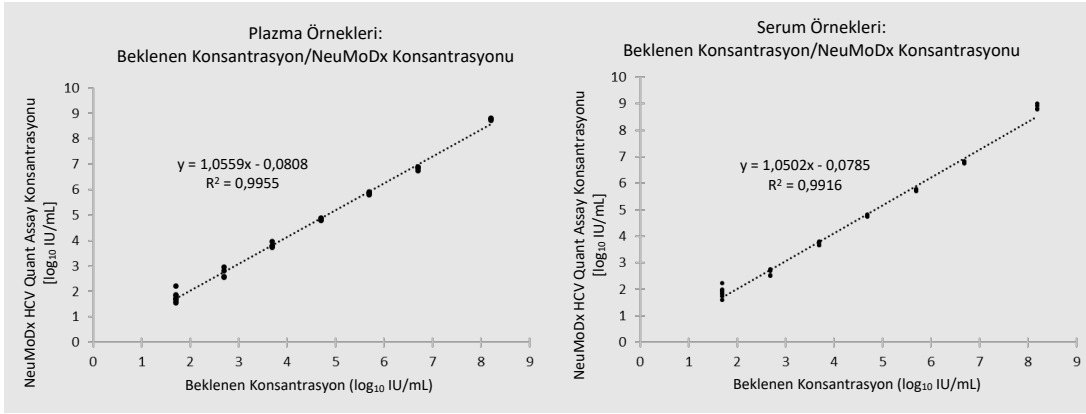
Analitik Duyarlılık – Doğrusallık ve Üst Kantitasyon Limitinin (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) Belirlenmesi

NeuMoDx HCV Quant Assay'in doğrusalılığı ve Üst Kantitasyon Limiti (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) plazma içinde 5. WHO Uluslararası Standardına göre belirlenmiş izlenebilirlik ile HCV Armored RNA® (Asuragen Inc., Austin, TX) ve AcroMetrix™ High Control HCV (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) kullanılarak tespit edilmiştir. 8,2-1,5 log₁₀ IU/mL konsantrasyon aralığını kapsayacak bir panel oluşturmak üzere, havuzda birleştirilmiş HCV negatif plazma içinde 11 üyeli bir panel hazırlanmıştır. NeuMoDx HCV Quant Assay, HCV miktarını, %95 güven aralığı ile hesaplanan Standart Hataya dayalı olarak 8 log₁₀ doğrusal aralığı boyunca, ±0,3 log₁₀ IU/mL doğruluk ile belirleme kabiliyetini ortaya koymuştur. 2. ve 3. derece regresyon uyumları kullanılarak belirli bir avantaj sağlanmamıştır. Plazmadaki ULoQ değeri 8,2 log₁₀ IU/mL olarak belirlenmiştir. Daha sonra, matris eşdeğerliğini göstermek için bir çalışma gerçekleştirilmiş ve analiz, MS Excel regresyon aracı ve Passing-Bablok dahil olmak üzere iki farklı regresyon uyumu modeli kullanılarak plazma ve serumda hazırlanan örneklerle ilişkin NeuMoDx HCV kantitatif sonuçlarını karşılaştırmıştır. Sonuçlar, sırasıyla 1,00 ve 0,00'a çok yakın olan eğim ve kesişim değerleriyle ve 0,99'lük R2 değeri (MS Excel Regresyon Aracı) veya 0,600 p değeri (Passing-Bablok) ile temsil edilen güçlü bir korelasyon göstermiştir. NeuMoDx System tarafından raporlanan HCV tayini konsantrasyonları, beklenen değerler ile karşılaştırmalı olarak *Şekil 4'te sunulmaktadır.*

Doğrusallık ve ULoQ, daha sonra 200 µL numune hacmi iş akışıyla değerlendirilmiştir. Eşdeğerlik karşılaştırmaları, NeuMoDx Yazılımı tarafından 200 µL ve 550 µL iş akışları tarafından raporlanan konsantrasyonlar arasında gerçekleştirilmiştir. Deming ve Passing-Bablok regresyon analizi, doğrusal aralık boyunca hem plazma hem de serum örnekleri için raporlanan konsantrasyonlarda mükemmel korelasyon, 1'e yakın bir eğim ve minimum kesişim (yanlılık) göstermiştir. 200 µL numune hacmi iş akışı için raporlanan konsantrasyonun hem 200 µL hem de 550 µL numune hacmi iş akışı için raporlanan ortalama konsantrasyonu ile Bland ve Altman karşılaştırması, doğruluğu 200 µL iş akışından elde edilen sonuçları oluşturmak için kullanılan algoritmaya dayandırarak minimum yanlılık göstermiştir. Ayrıca, 200 µL iş akışı için beklenen konsantrasyonu raporlanan konsantrasyon ile karşılaştıran basit bir doğrusal regresyon, 1'e yakın bir eğime sahip olmuş ve böylece mükemmel bir korelasyon sergilemiştir (*Şekil 5*). Birlikte ele alındığında bu karşılaştırmalar, 200 µL numune hacmi iş akışı kullanıldığında, NeuMoDx HCV Quant Assay'in doğrusal aralığı boyunca doğru HCV kantitasyonu yapıldığını ortaya koymaktadır.



Şekil 4: NeuMoDx HCV Quant Assay Plazması (sol) ve Serumunun (sağ) doğrusal aralığı – 550 µL İş Akışı



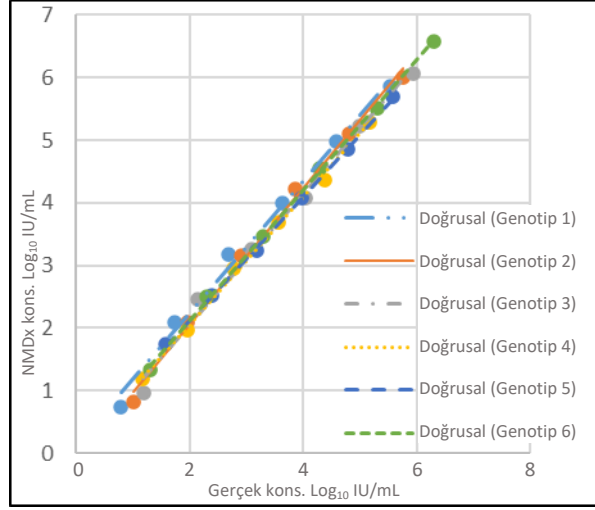
Şekil 5: NeuMoDx HCV Quant Assay Plazması (sol) ve Serumunun (sağ) doğrusal aralığı – 200 µL İş Akışı

Analitik Duyarlılık – Genotiplerde Doğrusallık

NeuMoDx HCV Quant Assay'in altı HCV genotipinde doğrusallığı, havuzda birleştirilmiş HCV negatif plazmada hazırlanan her bir HCV genotipi için en az dört (4) farklı konsantrasyonda test yapılarak karakterize edilmiştir. Bu çalışmada test edilen HCV hedeflerinin seviyeleri, kaynak numunenin konsantrasyonuna bağlı olmuş ve dolayısıyla genotipler arasında farklılık göstermiştir. Çalışma, her bir seviyede 6 tekrar kullanılarak her bir genotip ile gerçekleştirilmiştir. Altı HCV genotipi arasında doğrusallık *Tablo 7* ve *Şekil 6*'da sunulmaktadır.

Tablo 7. NeuMoDx HCV Quant Assay'in Genotipler Arası Doğrusallığı

Genotip	Doğrusallık Denklemi y = NeuMoDx HCV Assay Kantitasyonu x = Beklenen Kantitasyon	R ²
1	y = 1,054x + 0,1325	0,979
2	y = 1,0792x - 0,0748	0,985
3	y = 1,0423x - 0,0439	0,981
4	y = 1,0158x + 0,0292	0,973
5	y = 0,9873x + 0,1524	0,994
6	y = 1,0393x + 0,0396	0,997



Şekil 6: NeuMoDx HCV Quant Assay'in Genotipler Arası Doğrusallığı

Analitik Özgüllük – Çapraz Reaktivite

Analitik özgüllük, kan/plazma numunelerinde sıklıkla bulunan 33 organizmanın yanı sıra HCV'ye filogenetik olarak benzeyen türler çapraz reaktivite bakımından taranarak ortaya konmuştur. Organizmalar, 4 ila 6 organizmalı havuzlarda hazırlanmış ve yüksek konsantrasyonda test edilmiştir. Test edilen organizmalar, *Tablo 8*'de gösterilmektedir. Test edilen hiçbir organizmada, NeuMoDx HCV Quant Assay'in %100 analitik özgüllüğünü doğrulayan hiçbir çapraz reaktivite gözlemlenmemiştir.

Tablo 8. Analitik Özgüllüğü Göstermek İçin Kullanılan Patojenler

Hedef Dışı Organizmalar						
Adenovirüs 2	Dang V1	Hepatit A	İnsan İmmünyetmezlik Virüsü-2	İnsan T hücreli lösemi virüsü 1	Propionibacterium acnes	Batı Nil virüsü
Adenovirüs 5	Dang V2	Hepatit B	İnsan papillom virüsü 16	İnsan T hücreli lösemi virüsü 2	Rubella	Sarı Humma
Candida albicans	Dang V3	Herpes simplex virüsü (HPV) 1	İnsan papillom virüsü 18	İnfluenza A	St. Louis ensefaliti	Zika virüsü
Chlamydia trachomatis	Dang V4	Herpes simplex virüsü (HPV) 2	İnsan Herpes virüsü 6b	Neisseria gonorrhoeae	Staphylococcus aureus	
Sitomegalovirüs	Epstein Barr virüsü	İnsan İmmünyetmezlik Virüsü-1	İnsan Herpes virüsü 8	Parvovirüs B19	Staphylococcus epidermidis	

Analitik Özgüllük – Olumsuz Etkileyen Maddeler, Kommensal Organizmalar

NeuMoDx HCV Quant Assay, *Tablo 8*'de listelenen, çapraz reaktivite testi için hazırlanan organizma havuzlarının aynısı kullanılarak, hedef dışı organizmaların varlığında olumsuz etkileşim bakımından değerlendirilmiştir. Negatif HCV plazmasına, 4-6'lı gruplar halinde havuzda birleştirilen organizmalar ve ayrıca, 1,4 log₁₀ IU/mL konsantrasyonda HCV pozitif kontrolü eklenmiştir. Olumsuz etkileyen ajan içermeyen kontrol numunelerinden minimum kantitasyon sapması ile de gösterildiği şekilde, bu kommensal organizmaların varlığında önemli ölçüde bir olumsuz etkileşim gözlemlenmemiştir.

Analitik Özgüllük – Olumsuz Etkileyen Maddeler, Endojen ve Eksojen Maddeler

NeuMoDx HCV Quant Assay, HCV klinik plazma numunelerinde karşılaşılan tipik eksojen ve endojen olumsuz etkileyen maddelerin varlığında değerlendirilmiştir. Bunlara, anormal ölçüde yüksek seviyede kan bileşenlerinin yanı sıra *Tablo 9*'da sınıflandırılan yaygın antiviral ilaçlar da dahildir. Her madde, 1,7 log₁₀ IU/mL HCV eklenmiş, taranmış HCV negatif insan plazmasına eklenmiştir ve örnekler olumsuz etkileşim bakımından analiz edilmiştir. Bunlara ek olarak, hepatit C enfeksiyonu ile ilişkilendirilen yaygın hastalık durumu plazması da potansiyel olumsuz etkileşim bakımından test edilmiştir. Test edilen tüm maddelerin ortalama konsantrasyonu ve yanlılığı *Tablo 10* içinde raporlanmıştır. Eksojen ve endojen maddelerden hiçbirisi, NeuMoDx HCV Quant Assay'in özgüllüğünü etkilememiştir.

Tablo 9. Etkileşim Testi – Eksojen Ajanlar (İlaç Sınıflandırmaları)

	Ürün	Sınıflandırma		Ürün	Sınıflandırma
Havuz 1	Sofosbuvir	Doğrudan Etkili HCV Antiviral	Havuz 2	Paritaprevir	HCV NS3/4A Proteaz İnhibitörü
	Ledipasvir	HCV inhibitörü		Ombitasvir	HCV Antiviral
	Velpatasvir	HCV NS5A İnhibitörü		Ritonavir	HIV Proteaz İnhibitörü
	Klaritromisin	Antibiyotik		Abakavir sülfat	Ters Transkriptaz İnhibitörü
	İnterferon alfa-2a	Bağışıklık Düzenleyici		Ribavirin	Bağışıklık Düzenleyici
Havuz 3	Grazoprevir	HCV NS3/4A Proteaz İnhibitörü	Havuz 4	Efavirenz	Ters Transkriptaz İnhibitörü
	Elbasvir	HCV NS5A İnhibitörü		Lopinavir	Proteaz İnhibitörü
	Tenofovir disoprosil	HBV/HIV Antiviral		Azitromisin	Antibiyotik
	Lamivudin	HBV/HIV Antiviral		Dolutegravir	HIV Antiviral
	Valgansiklovir	CMV Antiviral		Simeprevir	HCV NS3/4A Proteaz İnhibitörü
Havuz 5	Emtrisitabin	HIV Antiviral			
	Raltegravir	HIV Antiviral			
	Amoksisilin	Antibiyotik			
	Rilpivirin	HIV Antiviral			
	Dasabuvir	HCV Doğrudan Etkili Antiviral			
	Glekaprevir	HCV NS3/4A Proteaz İnhibitörü			

Tablo 10. Etkileşim Testi – Eksojen ve Endojen Ajanlar

Endojen	Ortalama Kons. log ₁₀ IU/mL	Yanılık log ₁₀ IU/mL
Hemoglobin	1,61	0,28
Trigliseritler	1,31	-0,02
Bilirubin	1,47	0,14
Albümin	1,47	0,14
Eksojen (İlaçlar)	Ortalama Kons. log ₁₀ IU/mL	Yanılık log ₁₀ IU/mL
Havuz 1: Zidovudin (ZDV), Sakinavir, Ritonavir, Klaritromisin, İnterferon alfa-2a, İnterferon alfa-2b	1,48	0,15
Havuz 2: Abakavir sülfat, Amprenavir, Ribavirin, Entekavir, Fluoksetin, Valasiklovir Hidroklorür	1,40	0,07
Havuz 3: Tenofovir disoprosil, Lamivudin, Gansiklovir, Valgansiklovir, Nevirapin	1,40	0,07
Havuz 4: Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtid, Siprofloksasin, Paroksetin,	1,51	0,18
Havuz 5: Adefovir (dipivoksil), Azitromisin, İndinavir sülfat, Sertralin	1,40	0,07
Hastalık Durumu	Ortalama Kons. log ₁₀ IU/mL	Yanılık log ₁₀ IU/mL
Antinükleer Antikor (ANA)	1,53	0,18
Sistemik Lupus Eritematozus (SLE)	1,29	-0,06
Romatoid Artrit	1,39	0,04
HBV Antikorları	1,45	0,10
Alkolik siroz	1,43	0,08
Romatoid Faktör	1,43	0,08
Alkole Bağlı Olmayan Karaciğer Yağlanması (NASH)	1,32	-0,03

Laboratuvar İçi Hassasiyet

NeuMoDx HCV Quant Assay'in hassasiyeti, 12 gün boyunca üç NeuMoDx System kullanılarak, HCV numunelerinden oluşan 7 üyeli bir panel (hem HCV Armored RNA hem de AcroMetrix HCV Control'un dahil olduğu) test edilerek belirlenmiştir. Çalışma içi, gün içi ve Sistem içi hassasiyetler karakterize edilmiş ve genel standart sapmanın $\leq 0,26 \log_{10}$ IU/mL olduğu belirlenmiştir. Sistemler, günler veya çalışmalar arasında, *Tablo 11*'de de gösterildiği gibi kayda değer hiçbir farklılık bulunmamıştır. Operatör, NeuMoDx System kullanılarak örnek işlemede önemli bir role sahip olmadığı için operatörler arası hassasiyet karakterize edilmemiştir.

Tablo 11. Laboratuvar İçi Hassasiyet – NeuMoDx System'larda NeuMoDx HCV Quant Assay

	Hedef Kons. [log ₁₀ IU/mL]	Ort. Kons. [log ₁₀ IU/mL]	Sistem İçi SD	Gün İçi SD	Çalışma İçi SD	Laboratuvar İçi (Genel) SD
ARMORED	6	5,95	0,17	0,13	0,10	0,17
	5	4,87	0,20	0,14	0,12	0,20
	3	2,89	0,19	0,17	0,17	0,19
ACROMETRIX	4,4	4,45	0,12	0,10	0,08	0,13
	3,4	3,45	0,12	0,12	0,11	0,13
	2,4	2,41	0,17	0,15	0,15	0,17
	1,4	1,40	0,26	0,25	0,25	0,24

Lotlar Arası Yeniden Üretilirlik

NeuMoDx HCV Quant Assay'in lotlar arası yeniden üretilebilirliği, temel reaktifler olan NeuMoDx Lysis Buffer 3, NeuMoDx Extraction Plate ve NeuMoDx HCV Quant Test Strip'in üç farklı lotu kullanılarak belirlenmiştir. Performansı değerlendirmek için 7 üyeli bir HCV paneli (hem HCV Armored RNA hem de AcroMetrix HCV Control'un dahil olduğu) kullanılmıştır. Test, 6 gün boyunca üç sistemde üç reaktif lotu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Lot içi ve lotlar arası farklılık analiz edilmiş ve sonuçlar *Tablo 12*'de sunulmuştur. Maksimum genel yanlışlık 0,24 \log_{10} IU/mL, maksimum genel standart sapma ise 0,33 \log_{10} IU/mL olmuştur. Tüm panel üyelerinin kantitasyonu tolerans spesifikasyonu dahilinde olduğu için lotlar arası performansta önemli bir farklılık bulunmamıştır.

Tablo 12. Lotlar Arası Yeniden Üretilirlik – NeuMoDx HCV Quant Assay

	Hedef Kons. [log ₁₀ IU/mL]	Ortalama Kons. GENEL [log ₁₀ IU/mL]	n (Lot Başına Geçerli Sonuçlar)	MUT YANILIK	Lotlar Arası SD	Lot İçi SD	Genel SD
ARMORED	6	5,76	36	0,24	0,35	0,13	0,37
	5	4,84	36	0,16	0,16	0,22	0,27
	3	2,81	36	0,19	0,31	0,16	0,35
ACROMETRIX	4,4	4,35	36	0,05	0,21	0,11	0,24
	3,4	3,31	36	0,09	0,17	0,11	0,20
	2,4	2,33	36	0,07	0,24	0,13	0,27
	1,4	1,38	36	0,02	0,23	0,13	0,33

Kontrolün Etkinliği

SPC2, NeuMoDx HCV Quant Assay'e, işleme adımı hatalarını veya tayinin performansını olumsuz etkileyen inhibisyonu raporlamak üzere eklenmiştir. Etkililik, örnek işleme sırasında potansiyel olarak gerçekleşebilecek ve NeuMoDx System'in performans izleme sensörleri tarafından saptanamayabilecek kritik işleme adımı hatalarını temsil eder nitelikte koşullar altında test edilmiştir. Pozitif (3 \log_{10} IU/mL) ve negatif numuneler, şu koşullar altında, bir kontrolün varlığında değerlendirmeye tabi tutulmuştur: inhibitör varlığı, yıkama reaktifi sağlanmadı ve yıkama üfleme yok. HCV saptaması/kantitasyonu üzerinde olumsuz etkisi olan işleme verimsizlikleri, SPC2 hedefinin performansı ile, *Tablo 13*'te gösterildiği şekilde yansıtılmıştır. Test edilen tüm durumlarda, örnek işleme kontrolünün işleme verimsizliklerini ve inhibitörlerin varlığını yeterli ölçüde izlediği veya beklenen işleme verimsizliğinin ne SPC2 saptaması ne de HCV saptaması ve kantitasyonu üzerinde önemli bir olumsuz etki oluşturmadığını ortaya konulmuştur. Dolayısıyla SPC2, NeuMoDx System'da tayin performansını etkili bir şekilde izleme konusunda başarı göstermiştir.

Tablo 13. Örnek İşleme Kontrolünün Etkinliği

Test Edilen İşleme Adımı Hatası	Örnek İşleme Kontrolü Amplifikasyon Durumu	HCV Hedefi Amplifikasyon Durumu	Tayin 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 ₁₀ IU/mL dahilinde Kantitasyon ile Positive (Pozitif)

Geçerli Sonuçlar Oranı

NeuMoDx System'larda NeuMoDx HCV Quant Assay'in performans değerlendirmesi sırasında elde edilen verilerin geriye dönük bir analizi, geçerli sonuçların yüzdesini belirlemede kullanılmıştır. Geçerli test sonuçları Positive (Pozitif) veya Negative (Negatif) olarak adlandırılacak; geçersiz test sonuçları ise hedefin ve örnek işleme kontrolünün amplifikasyon durumuna dayalı olarak Indeterminate (IND) (Şüpheli) veya Unresolved (UNR) (Çözümlememiş) olarak raporlanacaktır. IND (Şüpheli) sonucu tipik olarak, hedef ve/veya dahili işleme kontrolünün amplifiye olmasına neden olan bir arızaya yol açan cihaz hatasından kaynaklanır. UNR (Çözümlememiş) sonucu, saptanan bir cihaz arızası bulunmadığı halde hem hedef hem de dahili işleme kontrolünün amplifiye olamaması durumunda örnekler atanır. Geriye dönük analize, hem NeuMoDx 288 hem de NeuMoDx 96 System'lardaki serum ve plazma numunelerinden elde edilen verilerin dahil olduğu, 1.962 ayrı NeuMoDx HCV Quant Assay sonucu dahil edilmiştir. UNR (Çözümlememiş) oranının %0,61 (12/1962), IND (Şüpheli) oranının ise %0,41 (8/1962) olduğu belirlenmiştir; bu sonuçlar, analiz kabul kriterlerini karşılamaktadır. Bu nedenle, NeuMoDx HCV Assay'in klinik matrisler ve NeuMoDx System'lar arası geçerli sonuç oranının, %95 CI (98,4-99,3) ile %99,0 olduğu sonucuna varılmıştır.

Çapraz kontaminasyon

NeuMoDx HCV Quant Assay'in çapraz kontaminasyonu, dönüşümlü olarak yüksek pozitif ve negatif numuneler bulunduran üç set HCV numunesi test edilerek belirlenmiştir. Bu işlem toplamda, HCV negatif insan numunesinin 144 kopyası ve 8,2 Log₁₀ IU/mL'de yüksek titreli HCV numunesinin 144 kopyasını içermektedir. Negatif numunenin 144 kopyasının tümü negatif olarak raporlanmıştır; bu da, NeuMoDx System'da örnek işleme sırasında çapraz kontaminasyon gerçekleşmediğini göstermektedir.

Numune Matrisi Eşdeğerliği

Plazma hazırlığı için etilendiamintetraasetik asit (EDTA) ve asit sitrat dekstroz (ACD) toplama tüplerinde toplanan tam kan arasındaki numune matrisi eşdeğerliğini göstermek için test gerçekleştirilmiştir. Taze ve dondurulmuş plazma numunelerinin yanı sıra (iki tip tüpte toplanır) taze ve dondurulmuş serum numuneleri arasında eşdeğerliği belirlemek için ilave testler gerçekleştirilmiştir. Taze numuneler, dört seviyede HCV 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 serum ve plazmanın yanı sıra EDTA/ACD plazma numunelerinden elde edilen sonuçlar, regresyon analizi ile eşdeğerlik bakımından karşılaştırılmıştır. Verileri, EDTA ve ACD plazma numuneleri, taze ve dondurulmuş plazma numuneleri ve taze ve dondurulmuş serum numuneleri arasında mükemmel eşdeğerlik bulunduğunu göstermiştir.

NeuMoDx HCV Quant Assay performansının birincil numuneler ve ikincil numunelerde eşdeğerliğini göstermek için ek testler yapılmıştır. İlk olarak birincil numune tüplerinden HCV hedefi eklenmiş HCV negatif donör numuneleri (AccuPlex™ Recombinant HCV Control) ve HCV pozitif donör numuneleri içeren paneller işlenmiştir. Birincil tüp işlemesinden sonra her bir numuneden kalan plazma veya serum ikincil bir numune tüpüne alıktanmış ve yeniden işlenmiştir. Raporlanan sonuçlarda, birincil ve ikincil numune tüpü işlemesi arasında anlamlı hiçbir fark bulunmamıştır.

Klinik Yöntem Karşılaştırması

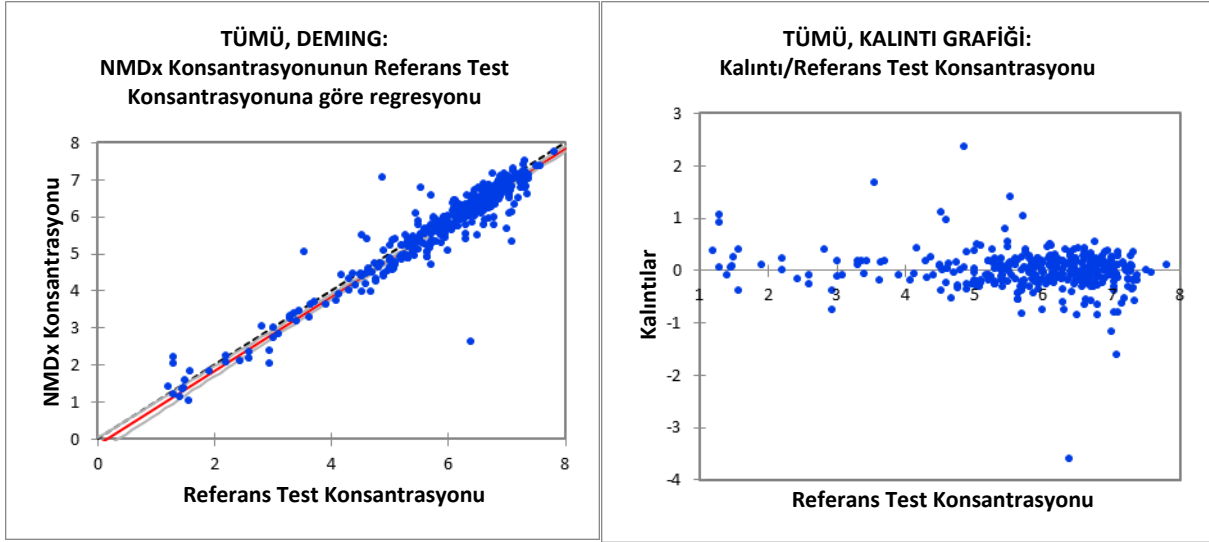
NeuMoDx HCV Quant Assay'in kalitatif ve kantitatif performansı, HCV ile enfekte olan hastalardan alınan seyreltilmemiş klinik numuneler test edilerek, FDA/CE karşılaştırma testlerine göre değerlendirilmiştir. Test, altı harici referans laboratuvarından elde edilen, tanıtıcı bilgileri gizlenmiş, kalıntı, klinik numuneler ile tek kör çalışma ile NeuMoDx'te kurum içi olarak gerçekleştirilmiştir. Birden fazla NeuMoDx Molecular System arasında, (tek) körlü çalışma yöntemiyle NeuMoDx HCV Quant Assay kullanılarak toplam 323 plazma numunesi ve 336 serum numunesi işlenmiştir. Bu örneklerden 35 plazma örneği ve 13 serum örneği, NeuMoDx 288 VE 96 Molecular System'larda işlenmiştir. INVALID (GEÇERSİZ) sonuç veren örneklerden bazıları, yeterli örnek bulunmaması nedeniyle tekrar işlenememiştir.

NeuMoDx Molecular System'larda görülen işleme ve sistem hataları minimum düzeyde olmuştur ve kriterleri karşılamıştır. Başlangıçta, plazma örnekleri için toplam 4 Indeterminate (IND) (Şüpheli) sonuç, serum örnekleri için ise 4 IND sonuç elde edilmiş; böylece genel ilk IND oranı plazma için %1 (%95 CI %0,5-%3), serum için ise %1 (%95 CI %0,4-%3) olmuştur. Başlangıçta, plazma örnekleri için toplam 3 UNRESOLVED (UNR) (Çözümlememiş) sonuç, serum örnekleri için ise 5 UNR sonuç elde edilmiş; böylece genel oran plazma için %1 (%95 CI %0,2-%3), serum için ise %1 (%95 CI %0,6-%4) olmuştur.

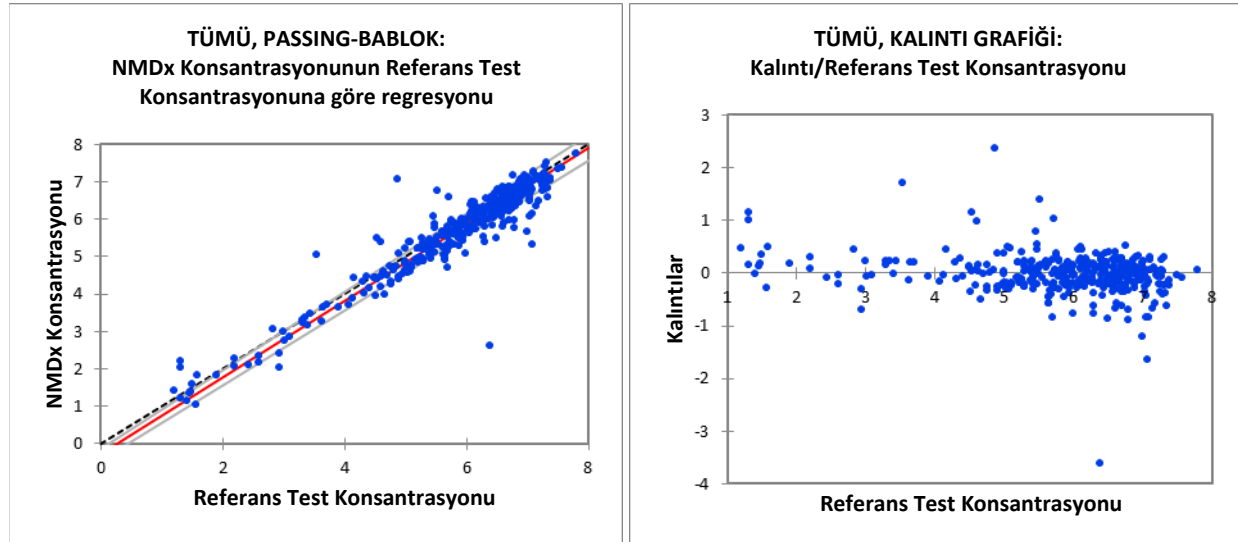
Geçersiz sonuçlar (IND/UNR (Şüpheli/Çözümlememiş) veya "Kantitasyon Hatası" veren numuneler, yeterli hacim kaldığında tekrar test edilmiş; geçerli sonuçlar elde etmek için bazı örnekler üzerinde bir dilüsyon adımı gerçekleştirilmiştir. Tekrar testi için yeterli hacme sahip 13 numuneden (seyreltilmiş VEYA seyreltilmemiş) geçerli bir sonuç elde edilmiştir.

Plazma numuneleri için elde edilen 321 geçerli sonuçtan ve serum örnekleri için elde edilen 334 geçerli sonuçtan, 206 plazma örneği ve 154 serum örneği, referans testler tarafından atanan ilgili konsantrasyon değerleri ile birlikte NeuMoDx HCV Quant Assay tarafından POSITIVE (POZİTİF) olarak raporlanmıştır. Deming Regresyon ve Passing-Bablok Regresyon analizleri, hem plazma hem de serum örnekleri için NeuMoDx HCV Quant Assay ile elde edilen konsantrasyon değerleri ile referans testler tarafından raporlanan değerleri korele etmek için kullanılmıştır.

Deming Regresyon uyumu ve Passing-Bablok uyumu kullanılarak test edilen tüm örnekler için NeuMoDx HCV Quant Assay konsantrasyonları ve referans test konsantrasyon değerleri arasındaki korelasyonu temsil etmek üzere eşdeğerlik grafikleri oluşturulmuştur ve Şekil 7 ve Şekil 8'de sunulmuştur. Deming Regresyon uyumunun kalitesi, %95 CI (0,97, 1,03) ile 1,00 değerinde eğim katsayısı ve %95 CI (-0,37, 0,06) ile -0,16 değerinde bir kesişim (yanlılık) ile gösterilmiştir. Bu da, NeuMoDx HCV Quant Assay ile Referans testlerde elde edilen konsantrasyon sonuçlarının, kabul edilebilir yanlılık değeriyle birbiriyle yüksek ölçüde korele olduğunu göstermiştir. Passing-Bablok doğrusal uyumunun kalitesi, %95 CI (0,99, 1,05) ile 1,02 değerinde eğim katsayısı ve %95 CI (-0,43, -0,14) ile -0,28 değerinde bir kesişim (yanlılık) ile gösterilmiştir. Bu da, NeuMoDx HCV Quant Assay ile Referans testlerde elde edilen konsantrasyon sonuçlarının, Tablo 14'te gösterildiği gibi, kabul edilebilir yanlılık değeriyle birbiriyle yüksek ölçüde korele olduğunu göstermiştir.



Şekil 7: Eşdeğerlik (sol) ve Kalıntı (sağ) Grafikleri – NeuMoDx HCV Quant Assay Sonuçlarının Deming Regresyon Analizine dayalı TÜM örnekler için Referans Test Sonuçlarıyla Kıyaslanmış Kümülatif Analizi (her iki NeuMoDx System'da da).



Şekil 8: Eşdeğerlik (sol) ve Kalıntı (sağ) Grafikleri – NeuMoDx HCV Quant Assay Sonuçlarının Passing-Bablok Regresyon Analizine dayalı TÜM örnekler için Referans Test Sonuçlarıyla Kıyaslanmış Kümülatif Analizi (her iki NeuMoDx System'da da).

Tablo 14. Deming ve Passing-Bablok Doğrusal Regresyon Analizinin Özeti

	Deming Analizi		Passing-Bablok Analizi	
	Kesişim	Eğim Katsayısı	Kesişim	Eğim Katsayısı
KÜMÜLATİF (Tüm Plazma + Serum)	-0,16 %95 CI (-0,37, 0,06)	1,00 %95 CI (0,97, 1,03)	-0,28 %95 CI (-0,43, -0,14)	1,02 %95 CI (0,99, 1,05)

NeuMoDx HCV Quant Assay kullanılarak plazma ve serum numuneleri için elde edilen 655 geçerli sonuçtan 361'i HCV'ye yönelik referans testler ile pozitif olarak, 294'ü ise negatif olarak raporlanmıştır. NeuMoDx HCV Quant Assay'in Duyarlılık ve Özgüllüğü, tüm geçerli klinik örneklerden elde edilen veriler kullanılarak, referans test ile karşılaştırmalı olarak hesaplanmış, derlenmiş ve *Tablo 15*'te sunulmuştur. Test edilen 361 pozitif örnekten, 360'ı NeuMoDx HCV Quant Assay tarafından pozitif olarak raporlanmış, %95 CI (%98,2-%100) ile %99,7 duyarlılık sergilemiştir. Test edilen 294 negatif örnekten, 271'i NeuMoDx HCV Quant Assay tarafından negatif olarak raporlanmış, %95 CI (%88,3-%94,9) ile %92,2 özgüllük sergilemiştir.

NeuMoDx HCV Quant Assay'in eşdeğerliği, hem plazma hem de serum numuneleri için NeuMoDx 288 Molecular System, NeuMoDx 96 Molecular System ve referans test arasında yüksek ölçüde korele tayin performansı sonuçları aracılığıyla ortaya konmuştur.

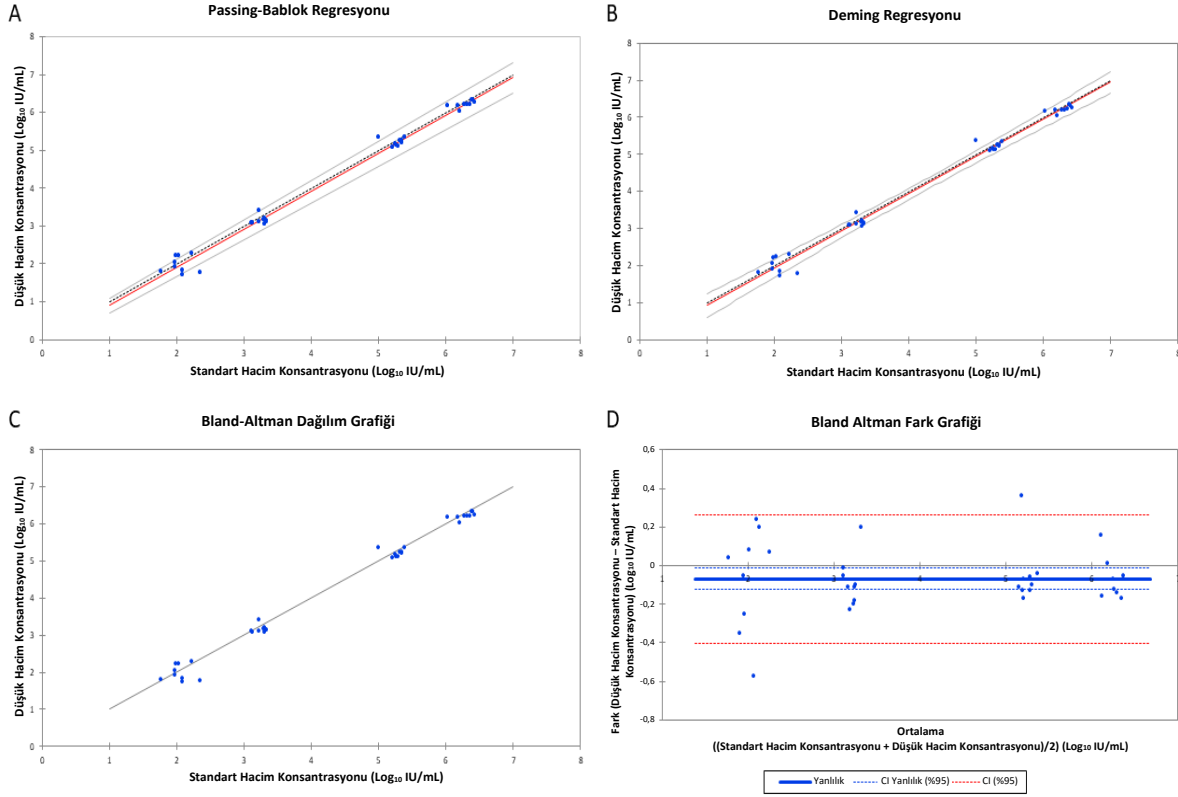
Tablo 15. Referans Testler ile Karşılaştırmalı Olarak NeuMoDx HCV Quant Assay Kalitatif Yöntem Karşılaştırma Sonuçları - Plazma ve Serum

	Referans Tayin (POS)	Referans Tayin (NEG)	TOPLAM
NeuMoDx HCV Quant Assay (POS)	360	23	383
NeuMoDx HCV Quant Assay (NEG)	1	271	272
TOPLAM	361	294	655
DUYARLILIK = %99,7 %95 CI (%98,2-%100) *ÖZGÜLLÜK = %92,2 %95 CI (%88,3-%94,9)			

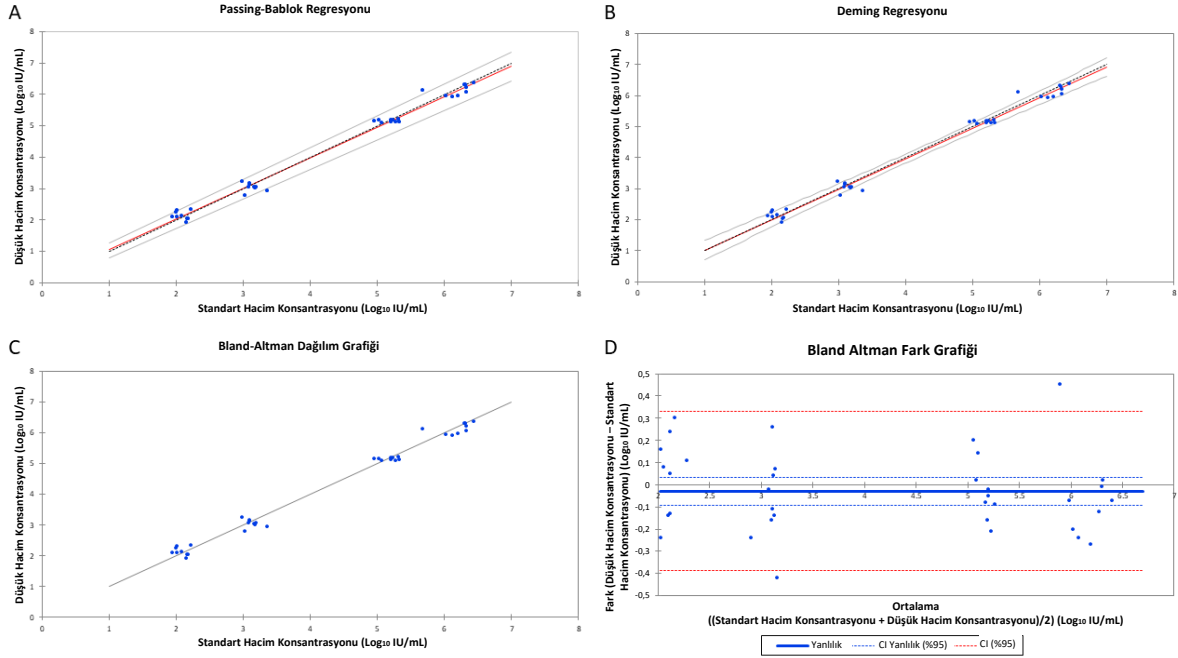
***NOT:** NeuMoDx HCV Quant Assay'in LLoQ'su 0,9 Log₁₀ IU/mL olup bu değer, referans test olarak kullanılan karşılaştırma tayininin değerinden düşüktür. Ardından NeuMoDx tarafından HCV saptanan, ancak karşılaştırma tayini tarafından negatif olarak raporlanan 9 örneğin hariç tutulduğu bir analiz gerçekleştirilmiştir. Söz konusu 9 örneğin hariç tutulmasıyla, NeuMoDx HCV Quant Assay'in özgüllüğü %95 CI (91,7-97,2) ile %95,1 olarak tekrar hesaplanmıştır.

Uydurma Numunelerin Test Edilmesi – 200 µL Numune Hacmi İş Akışı

200 µL ve 550 µL numune hacmi iş akışları arasındaki kantitatif korelasyon, nükleik asit testleri için HCV RNA'sına yönelik WHO 5. Uluslararası Standardına göre izlenebilir, dört bilinen seviyede Accuplex HCV Kontrol materyali eklenmiş ayrı, HCV negatif plazma ve serum örneklerinden oluşan bir panel kullanılarak doğrulanmıştır. Bu ayrı plazma ve serum numuneleri, 550 µL ve 200 µL numune hacmi iş akışları kullanılarak işlenmiş ve toplamda 324 test gerçekleştirilmiştir. Uydurma panel ile, NeuMoDx Yazılımı tarafından 200 µL ve 550 µL numune hacmi iş akışları için raporlanan konsantrasyonlar arasındaki eşdeğerlik karşılaştırmaları, ayrı örnek bazında gerçekleştirilmiştir. Deming ve Passing-Bablok regresyon analizinde, plazmada sırasıyla 1,003 ve 1,000 eğim değeri ve -0,082 ve -0,085 kesişim değeri, serumda ise sırasıyla 0,974 ve 0,984 eğim değeri ve 0,086 ve 0,037 kesişim değeri elde edilmiştir ve bu da, iki işleme hacmi iş akışı arasında HCV kantifikasyonları bakımından mükemmel uyum bulunduğunu ortaya koymaktadır. Bland ve Altman karşılaştırması, iki iş akışı arasında minimum yanlılık olduğunu göstermiştir. Ayrıca, 200 µL iş akışı için beklenen konsantrasyon ve raporlanan konsantrasyon ile yapılan basit doğrusal regresyon analizlerinde 1,0432 değerinde bir eğim ve 0,994 (plazma) ve 1,0007 ile 0,993 (serum) değerinde bir korelasyon katsayısı elde edilmiştir. Bu da, NeuMoDx HCV Quant Assay için 200 µL numune hacmi iş akışı kullanımında mükemmel performans sergilendiğine dair daha fazla kanıt oluşturmaktadır. Bu çalışmaların sonuçları, aşağıda *Şekil 9* ve *Şekil 10*'da özetlenmektedir.



Şekil 9: 200 µL Numune Hacmi İş Akışının Raporlanan Konsantrasyonları ile 550 µL Numune Hacmi İş Akışının Raporlanan Konsantrasyonlarının Eşdeğerlik Grafiği Karşılaştırmaları. A) Passing-Bablok Regresyonu. B) Deming Regresyonu. C) Bland-Altman Dağılım Grafiği D) Bland-Altman Fark Grafiği – Plazma Numuneleri



Şekil 10: 200 µL Numune Hacmi İş Akışının Raporlanan Konsantrasyonları ile 550 µL Numune Hacmi İş Akışının Raporlanan Konsantrasyonlarının Eşdeğerlik Grafiği Karşılaştırmaları. A) Passing-Bablok Regresyonu. B) Deming Regresyonu. C) Bland-Altman Dağılım Grafiği D) Bland-Altman Fark Grafiği – Serum Numuneleri

REFERANSLAR














1. Rachel H. Westbrook, Geoffrey Dusheiko. Natural history of hepatitis C. Journal of Hepatology Update: Hepatitis C, Volume 61, Issue 1, Supplement, November 2014, Pgs S58-S68.
2. Annual Epidemiological Report for 2016, Hepatitis C, European Centre for Disease Prevention and Control. Hepatitis C. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2016. Stockholm: ECDC; 2018. (<https://www.cdc.gov/hepatitis/statistics/2016surveillance/pdfs/2016HepSurveillanceRpt.pdf>)
3. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2017; 2: 161–76.
4. Surveillance for Viral Hepatitis – United States, 2016, CDC. <https://www.cdc.gov/hepatitis/statistics/2016surveillance/index.htm>
5. Diagnosis and management of hepatitis C virus-infected children. Javeri R. The Pediatric Infectious Disease Journal. 2011;30(11):983 – 985.
6. American Association for the Study of Liver Disease (AASLD) and Infectious Disease Society of America (IDSA), HCV Guidance: Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C, Sept 21, 2017. (www.hcvguidelines.org)
7. Centers for Disease Control (CDC), Testing for HCV Infection: An Update of Guidance for Clinicians and Laboratorians Recommendations and Reports MMWR / Vol. 62 / May 7, 2013.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009
9. 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™ ve NeuDry™, NeuMoDx Molecular, Inc. firmasının ticari markalarıdır.
AcroMatrix™, Thermo Fisher Scientific firmasının ticari markasıdır.
Armored RNA®, Asuragen, Inc. firmasının tescilli ticari markasıdır.
BD Vacutainer®, Becton, Dickinson and Company firmasının tescilli ticari markasıdır.
BD, PPT™ ve SST™, Becton, Dickinson and Company firmasının ticari markalarıdır.
TaqMan®, Roche Molecular Systems, Inc. firmasının tescilli ticari markasıdır.

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

SEMBOL ANAHTARI

R only	Yalnızca reçete ile kullanılır		Sıcaklık limiti
	Üretici		Tekrar kullanmayın
	<i>In vitro</i> tanı amaçlı tıbbi cihaz		<n> test için yeterli içerik
	Avrupa Topluluğu yetkili temsilcisi		Kullanma talimatına bakın
	Katalog numarası		Dikkat
	Parti kodu		Biyolojik riskler
	Son kullanma tarihi		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