

**REF****201501 NeuMoDx™ EBV Quant Test Strip 2.0****R only**

DİKKAT: Yalnızca ABD İhracatı için

**IVD****NeuMoDx 288 ve NeuMoDx 96 Molecular System'lar ile *in vitro* tanı amaçlı kullanım için**Prospektüs güncellemeleri için şu adresi ziyaret edin: [www.qiaqen.com/neumodx-ifu](http://www.qiaqen.com/neumodx-ifu)

Ayrıntılı talimatlar için NeuMoDx 288 Molecular System Operatör Kılavuzu; P/N 40600108 belgesine başvurun

Ayrıntılı talimatlar için NeuMoDx 96 Molecular System Operatör Kılavuzu; P/N 40600317 belgesine başvurun

## KULLANIM AMACI

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, bağışıklık yetmezliği olan transplant hastalarından alınan EDTA plazmada insan Epstein-Barr virüsü (EBV) DNA'sının kantifikasyonuna yönelik otomatik bir *in vitro* nükleik asit amplifikasyon testidir.

NeuMoDx 288 Molecular System ve NeuMoDx 96 Molecular System'da uygulandığı şekilde NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, hedef nükleik asitleri numuneden izole etme amaçlı otomatik DNA ekstraksiyonunu ve EBV genomundaki iki adet yüksek ölçüde korunmuş bölgeyi hedefleyen gerçek zamanlı PCR'yi içerir.

Tayin, tedaviye verilen viral yanıtı değerlendirmek için periferik kanda EBV DNA'sı seviyelerini izlemede yardımcı olarak kullanıma yöneliktir. Bu tayin, EBV enfeksiyonunun klinik yönetimi ve izlenmesi için hastalık ilerlemesinin klinik tablosu ve diğer laboratuvar belirteçleri ile birlikte kullanıma yöneliktir.

Tayin, kan veya kan ürünlerinde EBV DNA'sının varlığına yönelik bir tarama testi olarak kullanıma yönelik değildir. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, gerçek zamanlı PCR teknikleri ve *in vitro* tanı amaçlı prosedürler ve/veya NeuMoDx Molecular System'lar konusunda özel olarak bilgilendirilmiş ve eğitim almış eğitimli klinik laboratuvar personeli tarafından kullanıma yöneliktir. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, kendi kendine teste veya hasta başı bakım ortamında kullanıma yönelik değildir.

## ÖZET VE AÇIKLAMA

Plazmanın hazırlanması için, antikoagülasyon ajanı olarak EDTA içeren steril kan toplama tüplerinde toplanan insan tam kanı kullanılabilir. Testi başlatmak için NeuMoDx System ile uyumlu bir numune tüpünde bulunan plazma, bir numune tüpü taşıyıcısına yerleştirilir ve NeuMoDx System çalışma tablasına yüklenir. Her bir numune için plazma örneğinin 550 µL'lik bir alikotu NeuMoDx Lysis Buffer 1 ile karıştırılır ve NeuMoDx System, hedef nükleik asidi ekstrakte etmek, gerçek zamanlı PCR amplifikasyonu için izole DNA'yı hazırlamak ve mevcutsa amplifikasyon ürünlerini amplifiye etmek ve saptamak (EBV genomundaki iki adet yüksek ölçüde korunmuş bölge) için gerekli tüm adımları otomatik olarak gerçekleştirir. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, ekstraksiyon ve amplifikasyon işlemi sırasında karşılaşılabilecek NeuMoDx System veya reaktif hatalarının ve potansiyel olarak inhibe edici maddelerin varlığını izlemeye yardımcı olması amacıyla bir DNA Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC1) içerir.

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

EBV viral yükünün izlenmesi, EBV ile ilişkili PTLD'nin teşhisi ve yönetiminde yardımcı olarak kullanılabilir. Bununla birlikte, teşhisin biyopsi ile konması gerekir. EBV viral yükünün izlenmesi, genellikle Rituksimab ve immünoşüpresif tedavide bir azalma ile olmak üzere EBV ile ilişkili PTLD tedavisine verilen yanıtı izlemek için de kullanılabilir.<sup>3</sup>

## PROSEDÜR PRENSİPLERİ

NeuMoDx System'da NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, analizi gerçekleştirmek için NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, NeuMoDx EBV Calibrator'lar, NeuMoDx EBV External Control'lar, NeuMoDx Lysis Buffer 1 ve NeuMoDx genel kullanım reaktiflerinden yararlanır. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, gerçek zamanlı PCR ile otomatik DNA ekstraksiyonu, amplifikasyonu ve saptamasını bir araya getirir. Tam kan numuneleri, plazmanın hazırlanması amacıyla EDTA tüplerinde toplanır. NeuMoDx System ile uyumlu bir numune tüpündeki plazma numunesi, bir numune tüpü taşıyıcısına yerleştirilir ve işlenmek üzere NeuMoDx System çalışma tablasına yüklenir. Başka operatör müdahalesi gerekmez.

NeuMoDx System'lar; hücre lizisi, DNA ekstraksiyonu ve inhibitörlerin giderilmesi işlemlerini otomatik olarak gerçekleştirmek için ısı, litik enzim ve ekstraksiyon reaktiflerinin bir bileşimini kullanır. Serbest kalan nükleik asitler, manyetik afinite mikroküreleri tarafından yakalanır. Mikroküreler, bağlanan nükleik asitler ile birlikte, bağlanmayan, DNA dışı bileşenlerin NeuMoDx Wash Reagent ile yıkanarak daha fazla giderildiği ve bağlanan DNA'nın, NeuMoDx Release Reagent kullanılarak elüsyonunun yapıldığı NeuMoDx Cartridge'e yüklenir. NeuMoDx System'lar daha sonra, EBV'ye özgü hedefler ve SPC1'in PCR amplifikasyonu için gerekli olan tüm öğeleri içeren tescilli NeuDry™ amplifikasyon reaktiflerini rehidre etmek için elüsyonu yapılmış DNA'yı kullanır. NeuDry PCR reaktifleri sulandırıldıktan sonra NeuMoDx System, hazırlanan PCR'ye hazır karışımı, NeuMoDx Cartridge'in içine dağıtır. Kontrol ve hedef DNA sekanslarının (mevcutsa) amplifikasyonu ve saptanması, NeuMoDx Cartridge'in PCR bölmesi alanında gerçekleşir. NeuMoDx Cartridge ayrıca, gerçek zamanlı PCR'nin ardından amplikonu tutmak ve böylece temel olarak, amplifikasyon sonrası kontaminasyon riskini ortadan kaldırmak üzere tasarlanmıştır.

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, EBV genomundaki yüksek ölçüde korunmuş iki bölge olan BALF5 ve BXFL1'i hedefler. İkili hedef tasarımı, bir hedef bölgede mutasyon durumunda yanlış negatif sonuç alma riskini azaltır ve böylece tayinin sağlamlığını artırır. Amplifiye hedefler, amplikonların ilgili hedeflerine özgü florojenik oligonükleotid prob moleküllerinin kullanıldığı hidroliz probu kimyası (yaygın olarak TaqMan® kimyası olarak adlandırılır) kullanılarak gerçek zamanlı olarak saptanır.

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

TaqMan problemleri, belirli bir primer seti tarafından amplifiye edilen bir DNA bölgesi içinde bağlanacak şekilde tasarlanmıştır. Taq DNA polimerazı primeri uzattıkça ve yeni iplikçiği sentezledikçe Taq DNA polimerazının 5' ile 3' ekzonükleaz aktivitesi, şablona bağlanan probu degrade eder. Probu degradasyonu, floroforun salınmasına ve baskılayıcı ile yakınlığın kaybolmasına neden olarak FRET kaynaklı baskılama etkisinin aşılmasına yol açar ve floroforun floresans ile saptanmasını sağlar. Saptanan floresan sinyali, salınan florofor ile doğru orantılıdır ve mevcut olan hedef DNA miktarı ile korele edilebilir.

5' uçta florofor ile etiketlenmiş (eksitasyon: 490 nm ve emisyon: 521 nm), 3' uçta ise koyu baskılayıcı ile etiketlenmiş bir TaqMan probu, her iki EBV DNA'sı hedefinin saptanmasında kullanılır. SPC1'in saptanmasında TaqMan probu, 5' uçta alternatif bir floresan boya (eksitasyon: 535 nm ve emisyon: 556 nm), 3' uçta ise koyu baskılayıcı ile etiketlenir. NeuMoDx System yazılımı, her amplifikasyon döngüsünün sonunda TaqMan problemleri tarafından yayılan floresan sinyalini izler. Amplifikasyon tamamlandığında NeuMoDx System yazılımı, verileri analiz eder ve sonucu (POSITIVE (POZİTİF) / NEGATIVE (NEGATİF) / INDETERMINATE (ŞÜPHELİ) / NO RESULT (SONUÇ YOK) / UNRESOLVED (ÇÖZÜMLENMEMİ)) raporlar. Sonuç POSITIVE (POZİTİF) ise NeuMoDx System yazılımı ayrıca, hesaplanan konsantrasyonun doğrusal aralığın dışında olması durumunda örnek ile ilişkili kantitatif bir değer sağlar veya raporlar.



## REAKTİFLER / SARF MALZEMELERİ

### Sağlanan Materyal

REF	İçindekiler	Paket başına birim	Ünite başına test	Paket başına test
201501	NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 EBV ve SPC1'e özgü TaqMan prob ve primerlerini içeren kurutulmuş RT-PCR reaktifleri.	6	16	96

### Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Materyaller (QIAGEN'den Ayrı Olarak Temin Edilebilir)

REF	İçindekiler
800501	NeuMoDx EBV Calibrators Standart eğrinin geçerliliğini belirlemek için tek kullanımlık EBV Yüksek Kalibratör ve Düşük Kalibratör setleri (her bir kontrolden 1'er şişe = 1 set)
900502	NeuMoDx EBV External Controls NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'ın günlük geçerliliğini belirlemek için tek kullanımlık EBV Düşük Pozitif, Yüksek Pozitif ve Negatif Kontrol setleri (her bir kontrolden 1'er şişe = 1 set)
100200	NeuMoDx Extraction Plate Kurutulmuş paramanyetik partiküller, litik enzim ve örnek işleme kontrolleri
400500	NeuMoDx Lysis Buffer 1
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]

NeuMoDx System Software sürüm 1.9.2.6 veya üzeri



## UYARILAR VE ÖNLEMLER

- NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, 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 örneklerin test sonuçlarının oluşturulabilmesi için geçerli bir test kalibrasyonu (yüksek ve düşük NeuMoDx EBV Calibrator'lar [REF 800501] işlenerek oluşturulur) bulunmalıdır.
- NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ile test sırasında 24 saatte bir olmak üzere NeuMoDx EBV External Control'ların [REF 900502] işlenmesi gerekir.

- EDTA plazmanın ikincil alikotlarının minimum numune hacmi, aşağıda Test Hazırlığı bölümünde ayrıntılı olarak açıklanmıştır. Belirtilen minimum değer in altındaki hacim "Quantity Not Sufficient" (Miktar Yeterli Değil) hatasına neden olabilir.
- Uygun olmayan sıcaklıklarda veya belirtilen saklama sürelerinden daha uzun süreliğine saklanan numunelerin kullanımı geçersiz veya hatalı sonuçlar verebilir.
- Tüm reaktiflerin ve sarf malzemelerinin mikrobiyal ve deoksiribonükleaz (DNaz) kontaminasyonundan kaçının. İkincil tüpler kullanılırken, steril, DNaz içermeyen, tek kullanımlık transfer pipetlerinin kullanımı önerilir. Her numune için yeni bir pipet kullanın.
- Kontaminasyonu önlemek için NeuMoDx Cartridge'i amplifikasyondan sonra kullanmayın veya parçalarına ayırmayın. NeuMoDx Cartridge'leri hiçbir durumda Biyolojik Tehlikeli Atık Kabından (NeuMoDx 288 Molecular System) veya Biyolojik Tehlikeli Atık Kutusundan (NeuMoDx 96 Molecular System) almayın. NeuMoDx Cartridge, kontaminasyonu engellemek üzere tasarlanmıştır.
- Açık tüp PCR testlerinin de laboratuvar tarafından yürütüldüğü durumlarda, NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0'ın, test için gerekli olan ilave sarf malzemelerinin ve reaktiflerin; eldiven ve laboratuvar önlüğü gibi kişisel koruyucu donanımların ve NeuMoDx System'in kontamine olmamasına dikkat edilmelidir.
- NeuMoDx reaktifleri ve sarf malzemeleri kullanılırken temiz, pudrasız, nitril eldivenler kullanılmalıdır. NeuMoDx Cartridge'in üst yüzeyine, NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0'ın ve NeuMoDx Extraction Plate'in folyo mührüne veya NeuMoDx Lysis Buffer kabının 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](http://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*<sup>4</sup> ile CLSI Belgesi M29-A4<sup>5</sup> içinde açıklananlar gibi güvenli laboratuvar prosedürleri doğrultusunda kullanın.
- Kimyasallarla çalışırken, mutlaka uygun bir laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için lütfen uygun güvenlik veri sayfalarına (Safety Data Sheets, SDS) başvurun.
- Kullanılmayan reaktifleri ve atığı, ülkeye özel, federal, bölgesel, eyalete özel ve yerel yönetmelikler doğrultusunda bertaraf edin. Güvenlik Veri Sayfasında (Safety Data Sheet, SDS) yer alan önerileri izleyin.

## NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0



İçerik: borik asit. Tehlike! Ciddi göz tahrişine yol açar. Doğmamış çocukta hasara yol açabilir veya üremeye zarar verebilir. Kullanmadan önce özel talimatları okuyun. Bütün önlem ifadeleri okunup anlaşılmeden elleçlemeyin. Koruyucu eldiven/koruyucu kıyafet/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın. Maruz kalınma veya etkileşme halinde İSE: Tıbbi yardım/bakım alın. Kilit altında saklayın. İçeriği/kabı onaylanmış bir atık bertaraf tesisinde bertaraf edin.

### Acil durum bilgileri

CHEMTREC

ABD ve Kanada dışı +1 703-527-3887



### ÜRÜNÜ SAKLAMA, KULLANMA VE STABİLİTE

1. NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 ürünleri, 15 °C ila 28 °C sıcaklıkta saklandığında, birincil ambalajı içinde, ürünün üzerindeki etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir.
2. NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0, yüklendikten sonra, NeuMoDx System üzerinde 14 gün boyunca kalabilir. Yüklü test şeritlerinin kalan raf ömrü yazılım tarafından takip edilir ve kullanıcıya gerçek zamanlı olarak bildirilir. Sistem, izin verilenden daha uzun süreliğine kullanılmış test şeritlerinin çıkarılmasını ister.
3. NeuMoDx EBV Calibrator'lar ve NeuMoDx EBV External Control'lar enfeksiyöz olmasa da kullanım sonrasında kontaminasyon riskini azaltmak için laboratuvar biyolojik tehlikeli atığına atılmalıdır.

### NUMUNE TOPLAMA, TAŞIMA VE SAKLAMA

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

1. Tam kanı veya birincil tüplerde saklanan hiçbir numuneyi dondurmayın.
2. Plazma numunelerinin hazırlamak için tam kan, antikoagülan olarak EDTA kullanılarak steril tüplerde toplanmalıdır. Numune tüpü üreticisinin talimatlarını izleyin.
3. Yukarıda listelenen cihazlarda toplanan tam kan, plazma hazırlığı için 2 °C ila 25 °C sıcaklıkta, 24 saate kadar saklanabilir ve/veya taşınabilir. Plazma hazırlığı üreticinin talimatları doğrultusunda gerçekleştirilmelidir.
4. Hazırlanan plazma numuneleri, işlenmeden önce NeuMoDx System'da 8 saate kadar kalabilir. İlave saklama süresi gerekiyorsa numunelerin soğutulması veya dondurulması önerilir.
5. Hazırlanan plazma numuneleri testten önce, 7 günü aşmamak kaydıyla 2 ila 8 °C sıcaklıkta ve oda sıcaklığında maksimum 8 saat saklanmalıdır.
6. Hazırlanan plazma numuneleri, 8 haftaya kadar -20 °C'de saklanabilir. Plazma örnekleri, kullanılmadan önce 2'nin üzerinde dondurma/çözdürme döngüsüne tabi tutulmamalıdır.
  1. Numuneler dondurulmuşsa numunelerin oda sıcaklığında (15 °C ila 30 °C) tamamen çözünmesini bekleyin; eşit dağılımlı bir örnek elde etmek için vorteksleyin. Örnekler test öncesinde oda sıcaklığında olmalıdır.
  2. Dondurulmuş örnekler çözündürüldükten sonra 8 saat içinde test gerçekleştirilmelidir.
7. Gönderilen numuneler ambalajlanmalı ve uygun ülke düzenlemeleri ve/veya uluslararası düzenlemeler ile uyumlu bir şekilde etiketlenmelidir.

NeuMoDx Molecular, Inc.

40600562-TR\_B

2023-07

## KULLANMA TALİMATI

### Test Hazırlığı

1. Numune barkod etiketini, aşağıda açıklandığı şekilde NeuMoDx System ile uyumlu bir numune tüpüne uygulayın.
2. Aşağıda tanımlanan hacimlere göre, NeuMoDx System ile uyumlu olan barkodlu numune tüpüne, numunenin bir alikotunu aktarın:
3. *Plazma numuneleri için:*
  - Numune Tüpü Taşıyıcısı (32 tüplü): 11 - 14 mm çap ve 60 - 120 mm yükseklik; minimum dolum hacmi  $\geq 750 \mu\text{L}$
  - Numune Tüpü Taşıyıcısı (24 tüplü): 14,5 - 18 mm çap ve 60 - 120 mm yükseklik; minimum dolum hacmi  $\geq 1100 \mu\text{L}$
  - Düşük Hacimli Numune Tüpü Taşıyıcısı (32 tüplü): 1,5 mL konik tabanlı mikrosantrifüj tüpü; minimum dolum hacmi  $\geq 650 \mu\text{L}$

### NeuMoDx System Çalışması

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

1. Bir veya daha fazla NeuMoDx System Test Şeridi Taşıyıcısını, NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 şeritleri ile doldurun ve Test Şeridi Taşıyıcılarını NeuMoDx System'a yüklemek için dokunmatik ekranı kullanın.
2. NeuMoDx System yazılımı tarafından istenmesi durumunda gerekli sarf malzemelerini NeuMoDx System sarf malzemesi taşıyıcılarına ekleyin ve taşıyıcıları NeuMoDx System'a yüklemek için dokunmatik ekranı kullanın.
3. NeuMoDx System yazılımı tarafından istenmesi halinde NeuMoDx Wash Reagent ve NeuMoDx Release Reagent'ı değiştirin ve 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.
4. NeuMoDx System yazılımı tarafından istenirse Calibrator'ları [REF 800501] ve/veya External Control'ları [REF 900502] gerektiği şekilde işleyin. Kalibratörler ve kontrollere ilişkin daha fazla bilgi *Sonuçları İşleme* bölümünde bulunabilir.
5. Numune tüplerini bir Numune Tüpü Taşıyıcısına yükleyin ve tüm tüplerin kapaklarının ve varsa eküvyon çubuklarının çıkarılmış olduğundan emin olun.
6. 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 EBV Quant Test Strip 2.0 yalnızca NeuMoDx System'larda kullanılabilir.
2. NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 ürününün performansı, antikoagülan olarak EDTA ile toplanan tam kandan hazırlanan plazma numuneleri için belirlenmiştir. NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 ürününün başka kaynaklar ile kullanımı değerlendirilmemiştir ve diğer numune türleri için performans özellikleri bilinmemektedir.
3. EBV'nin saptanması genellikle örnekte bulunan viral partiküllerin sayısına bağlı olduğundan güvenilir sonuçlar alınması, doğru numune toplama, kullanımı ve saklamaya bağlıdır.
4. Uygun olmayan numune toplama, kullanımı, saklama, teknik hata veya numune tüplerinde karışıklık olması sonucu hatalı sonuçlar elde edilebilir. Bunlara ek olarak, örnekteki viral partiküllerin sayısı NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'in saptama limitinin altında olduğu için yanlış negatif sonuçlar elde edilebilir.
5. NeuMoDx System'ın kullanımı, NeuMoDx System kullanımı konusunda eğitim almış personelle sınırlandırılmıştır.
6. Hem EBV hedeflerinin hem de SPC1 hedefinin amplifiye olmaması durumunda geçersiz bir sonuç (Indeterminate (Şüpheli) veya Unresolved (Çözülenmemiş)) raporlanır ve testin tekrarlanması gerekir.
7. Örnek işlemenin tamamlanmasından önce bir sistem hatası meydana gelirse "No Result" (Sonuç Yok) raporlanır ve testin tekrarlanması gerekir.
8. EBV DNA'sının ULoQ üzerinde saptanması durumunda NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, orijinal numunenin seyreltilmiş bir alikotu ile tekrarlanabilir. EBV negatif plazma veya Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare®, Milford, MA) içinde 1:100 veya 1:1000 oranında bir dilüsyon önerilir. Sistem, orijinal numunenin konsantrasyonunu aşağıda belirtildiği şekilde otomatik olarak hesaplar: Tekrarlama öncesinde seyreltme faktörü yazılımda uygun şekilde seçildiği sürece orijinal numune konsantrasyonu =  $\log_{10}$  (seyreltme faktörü) + seyreltilmiş örneğin raporlanan konsantrasyonu olur.
9. PCR inhibitörlerinin plazmada bulunması, bir sistem Kantitasyon Hatasına yol açabilir. Böyle bir durumda, testin, Basematrix'te 1:10 veya 1:100 oranında seyreltilmiş aynı numune ile tekrarlanması önerilir.
10. Pozitif bir sonuç EBV DNA'sının varlığına işaret eder.
11. Düşük olasılıkla da olsa, NeuMoDx EBV Quant Assay tarafından hedeflenen korunmuş bölgelerdeki silinmeler veya mutasyonlar, saptama ve/veya kantifikasyonu etkileyebilir ve hatalı bir sonuca yol açabilir.
12. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'dan elde edilen sonuçlar, klinik gözlemler ve doktorun ulaşabildiği diğer bilgilere ek olarak kullanılmalıdır. Test, enfeksiyon tanısı koyma amacı taşımamaktadır.
13. Kontaminasyonu önlemek için hasta numuneleriyle yapılan çalışmalar arasında eldiven değiştirmek gibi İyi Laboratuvar Uygulamaları önerilir.

## SONUÇLARI İŞLEME

Mevcut sonuçlar, NeuMoDx System dokunmatik ekranında bulunan Results (Sonuçlar) penceresindeki "Results" (Sonuçlar) sekmesinden görüntülenebilir veya yazdırılabilir. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 sonuçları NeuMoDx System yazılımı tarafından, NeuMoDx EBV Quant Assay Tanımlama Dosyasında (EBV Quant ADF sürüm 4.0.0 veya üzeri) belirtilen karar algoritması ve sonuç işleme parametreleri kullanılarak otomatik olarak oluşturulur. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 sonucu, hedefin ve örnek işleme kontrolünün amplifikasyon durumuna dayalı olarak Negative (Negatif), raporlanan EBV DNA'sı konsantrasyonu ile Positive (Pozitif), Indeterminate (Şüpheli), No Result (Sonuç Yok) veya Unresolved (Çözümlememiş) olarak raporlanabilir. Sonuçlar, aşağıda *Tablo 1*'de özetlenen ADF sonuç işleme karar algoritmasına dayalı olarak raporlanır.

**Tablo 1:** NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 Sonuçlarının Yorumlanması

Sonuç	EBV Hedefleri	Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC1)
<b>Positive (Pozitif)</b>	<b>AMPLIFIED (AMPLİFİYE)</b> [2 ≤ Ct < 28 AND (VE) EPR > 1,3 AND (VE) EP > 1200] OR (VEYA) [28 < Ct < 38 AND (VE) EP > 1200]	Uygulanamaz
<b>Positive (Pozitif); Üst Kantitasyon Limitinin [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] üzerinde (Log10 IU/mL)</b>	[CONC] (KONS.) > 8,0 Log10 IU/mL, NO QUANT (MİKTAR YOK)	Uygulanamaz
<b>Positive (Pozitif), Alt Kantitasyon Limitinin [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] altında (Log10 IU/mL)</b>	[CONC] (KONS.) < 1,48 Log10 IU/mL, NO QUANT (MİKTAR YOK)	Uygulanamaz
<b>Negative (Negatif)</b>	<b>NOT AMPLIFIED (AMPLİFİYE DEĞİL)</b> Uygulanamaz OR (VEYA) [2 ≤ Ct < 28 AND (VE) EPR ≤ 1,3 AND (VE) EP > 1200] OR (VEYA) [28 ≤ Ct < 38 AND (VE) EP > 1200] OR (VEYA) Ct > 38	<b>AMPLIFIED (AMPLİFİYE)</b> [29 < Ct < 35 and (ve) EP ≥ 2000]
<b>No Result* (Sonuç Yok)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Amplifiye Değil, Sistem Hatası Saptandı, Örnek İşleme İptal Edildi)	
<b>Indeterminate* (Şüpheli)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Amplifiye Değil, Sistem Hatası Saptandı, Örnek İşleme Tamamlandı)	
<b>Unresolved* (Çözümlememiş)</b>	Not Amplified, No System Error Detected (Amplifiye Değil, Sistem Hatası Saptanmadı)	

EP = End Point Fluorescence (Son Nokta Floresansı); EPR = End Point Fluorescence Ratio (Son Nokta Floresans Oranı);

C<sub>t</sub> = Cycling Threshold (Döngü Eşiği);

Quant = Mevcut EBV'nin log<sub>10</sub> IU/mL cinsinden ifade edilen hesaplanmış miktarı. Aşağıdaki Test Hesaplaması bölümüne bakın.

\* Sistem, sonuç raporlamasındaki gecikmeleri en aza indirmek için, geçersiz sonuç alınması durumunda otomatik yeniden işlemeyi etkinleştirmek üzere isteğe bağlı Rerun (Tekrar Çalıştırma)/Repeat (Tekrarlama) özelliği sağlar.

### Test hesaplaması: Örnekler

- NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'nin doğrusal aralığında olan örnekler söz konusu olduğunda, örneklerdeki EBV DNA'sı konsantrasyonu, saklanan standart eğri kalibrasyon katsayısıyla birlikte kullanılarak hesaplanır.
  - Belirli bir NeuMoDx System'da, her bir NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 lotu için Standart Eğri geçerliliğini belirlemek üzere işlenen NeuMoDx EBV Calibrator'ların sonuçlarına dayalı olarak bir "kalibrasyon katsayısı" hesaplanır.
  - Kalibrasyon katsayısı, System tarafından otomatik olarak, EBV DNA'sı konsantrasyonunun nihai tayininde kullanılır.
- NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 sonuçları IU/mL ve Log<sub>10</sub> IU/mL cinsinden raporlanır.
- Bilinmeyen örneklerin nihai kantitasyonu, Nükleik Asit Amplifikasyon Teknikleri için Epstein-Barr virüsüne yönelik WHO 1. Uluslararası Standardına göre izlenebilir.

### Test Hesaplaması: Kalibratörler

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

- NeuMoDx EBV Calibrator'lar bir kit [REF 800501] içinde sağlanır ve Basematrix içinde hazırlanmış, enfeksiyöz olmayan kapsül içinde EBV hedefi içerir.
- NeuMoDx System'a yeni bir EBV Tahlil Tanımlama Dosyası yüklenmişse, mevcut kalibratör setinin geçerlilik süresi (90 güne ayarlıdır) dolmuşsa veya NeuMoDx System yazılımı üzerinde değişiklik yapılmışsa her yeni NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 lotu ile birlikte bir EBV Kalibratör setinin işlenmesi gerekir.
- NeuMoDx System yazılımı, kullanıcıyı, kalibratörlerin işlenmesi gerektiğinde bilgilendirir. Kalibratörler başarılı bir şekilde işlenene kadar yeni bir test şeridi lotu test için kullanılamaz.
- Kalibrasyon geçerliliği aşağıdaki şekilde belirlenir:
  - Geçerliliği belirlemek için yüksek ve düşük olmak üzere iki set kalibratör işlenmelidir.

2. Geçerli sonuçlar elde etmek için 3 tekrarı en az 2'sinden, ön tanımlı parametreler dahilinde sonuçlar elde edilmelidir. Düşük Kalibratör nominal hedefi 3 Log<sub>10</sub> IU/mL, Yüksek Kalibratör nominal hedefi ise 5 Log<sub>10</sub> IU/mL'dir.
3. Kalibrasyon katsayısı, test şeridi lotları arasında beklenen farklılığı dikkate alacak şekilde hesaplanır. Bu kalibrasyon katsayısı, nihai EBV DNA'sı konsantrasyonunun belirlenmesinde kullanılır.
5. Bir veya her iki kalibratörün geçerlilik kontrolünde başarısız olması durumunda başarısız kalibratörlerin işlemlerini, yeni bir şişe kullanarak tekrarlayın. Kalibratörlerden birinin geçerlilik kontrolünde başarısız olması halinde sistem kullanıcının her iki kalibratörü de tekrar çalıştırmasını gerektirmediği için yalnızca başarısız olan kalibratörün tekrarlanması mümkündür.
6. Kalibratörlerin geçerlilik kontrolünde art arda ikinci kez başarısız olması durumunda QIAGEN Teknik Destek birimiyle iletişime geçin.

## Geçersiz Sonuçlar

NeuMoDx System'da uygulanan NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'ın geçerli bir sonuç üretilmemesi durumunda sonuç, oluşan hatanın türüne dayalı olarak Indeterminate (Şüpheli), No Result (Sonuç Yok) veya Unresolved (Çözümlememiş) olarak raporlanır ve geçerli bir sonuç elde edilmesi için testin tekrarlanması gerekir.

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

Bir NeuMoDx System hatası saptanırsa ve örnek işlemi iptal edilirse bir No Result (Sonuç Yok) sonucu raporlanır. No Result (Sonuç Yok) sonucunun raporlanması durumunda tekrar test yapılması önerilir.

Hiçbir hedef saptanmazsa ve Örnek İşleme Kontrolünün amplifikasyonu mevcut değilse olası reaktif hatasına veya inhibitörlerin varlığına işaret eden Unresolved (Çözümlememiş) sonucu raporlanır. Unresolved (Çözümlememiş) sonucunun raporlanması durumunda ilk adım olarak tekrar test yapılması önerilir. Yeniden test başarısız olursa olası inhibisyonun etkilerini hafifletmek için seyreltilmiş bir numune kullanılabilir (daha fazla talimat için sınırlamalar bölümüne bakın).

Geçersiz Sonuçlar ile ilişkili olabilecek hata kodlarının listesi için NeuMoDx 288 Molecular System Operatör Kılavuzuna (PN: 40600108) veya NeuMoDx 96 Molecular System Operatör Kılavuzuna (PN: 40600317) bakın.

## Kalite Kontrol

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

## Harici Kontroller

1. Pozitif kontroller için Basematrix içinde enfeksiyöz olmayan kapsüle alınmış EBV hedefi içeren harici kontroller veya negatif kontroller için Basematrix, NeuMoDx EBV External Control'ların [REF 900502] bulunduğu bir kit içinde QIAGEN tarafından sağlanır.
2. Pozitif ve negatif harici kontrollerin, 24 saatte bir kez işlenmesi gerekir. Geçerli bir harici kontrol seti mevcut değilse NeuMoDx System yazılımı, kullanıcıdan, örnek sonuçlarının raporlanabilmesi için bu kontrollerin işlenmesini ister:

NeuMoDx EBV External Controls	Beklenen Konsantrasyon	Etiket Renk Düzeni
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	1,5E4 IU/mL (4,18 Log <sub>10</sub> IU/mL)	Kırmızı
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	150 IU/mL (2,18 Log <sub>10</sub> IU/mL)	Gri
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	Uygulanamaz	Siyah

3. Harici Kontrolleri işlerken, kontrolleri bir numune tüpü taşıyıcısına yerleştirin ve taşıyıcıyı otomatik yükleyici rafından NeuMoDx System'a yüklemek için dokunmatik ekranı kullanın. NeuMoDx System, barkodları tanıyıp ve test için gerekli olan reaktiflerin veya sarf malzemelerinin bulunmaması söz konusu değilse kontrolleri işlemeye başlar.
4. Bu harici kontrollerin geçerliliği, beklenen sonuçlara dayalı olarak NeuMoDx System tarafından değerlendirilir.

NeuMoDx EBV External Controls	EBV Quant Sonucu	SPC1 Sonucu
NeuMoDx EBV High Positive Control (C1EBV)	EBV POSITIVE (EBV POZİTİF) [Conc] (Kons.) 3,68 - 4,68 Log <sub>10</sub> IU/mL	SPC1 Pozitif
NeuMoDx EBV Low Positive Control (C2EBV)	EBV POSITIVE (EBV POZİTİF) [Conc] (Kons.) 1,58 - 2,78 Log <sub>10</sub> IU/mL	SPC1 Pozitif
NeuMoDx EBV Negative Control (NCEBV)	EBV NEGATIVE (EBV NEGATİF)	SPC1 Pozitif

5. Harici kontroller için tutarsız sonuçlar aşağıdaki şekilde ele alınmalıdır:

1. Bir negatif kontrol örneği için Positive (Pozitif) test sonucunun raporlanması kontaminasyona işaret edebilir ve temel nedeni bulmak için laboratuvarın kalite kontrol prosedürlerinin incelenmesi gerekir. Örnek hazırlığı, kontrol kullanımı ve RT-PCR kurulumu için farklı alanlar kullandığınızdan emin olun. Sorun gidermeye ilişkin ek ipuçları için lütfen *NeuMoDx 288 veya 96 Molecular System Operatör Kılavuzuna* başvurun.
2. Pozitif kontrol örneği için Negative (Negatif) sonuç raporlanması, reaktif veya cihaz ile ilgili bir sorun olduğuna işaret edebilir.
3. Yukarıdaki durumların her birinde veya No Result (Sonuç Yok) (NR), Unresolved (Çözümlememiş) (UNR) veya Indeterminate (Şüpheli) (IND) sonuç alınması durumunda, geçerlilik testinde başarısız olan kontrollerin bulunduğu yeni çözdürülmüş şişelerle başarısız kontrolü tekrarlayın.
4. Pozitif harici kontrol Negative (Negatif) sonuç raporlamaya devam ederse QIAGEN teknik destek birimiyle iletişime geçin.

5. Negatif harici kontrol, Positive (Pozitif) sonuç raporlamaya devam ederse, QIAGEN teknik destek birimiyle iletişime geçmeden önce, tüm reaktifleri değiştirmek ve çalışmayı tekrarlamak da dahil olmak üzere tüm olası kontaminasyon kaynaklarını ortadan kaldırmayı deneyin.
6. Harici Kontroller beklenen sonuçları vermezse bir pozitif ve negatif kontrol setinin tekrarlanması gerekir. Kontroller beklenen sonuçları vermezse örnek sonuçları raporlanmaz.
7. NeuMoDx System, kullanıcının, sonuç raporlamasındaki gecikmeleri en aza indirmek için INVALID (Geçersiz) bir sonucun otomatik olarak yeniden işleneceğinden emin olmak üzere seçebileceği, otomatik Rerun (Tekrar Çalıştırma)/Repeat (Tekrarlama) özelliğine sahiptir.

## Örnek İşleme (Dahili) Kontrolleri

Eksojen bir Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC1), NeuMoDx Extraction Plate'e dahil edilir ve her bir örnek/kontrol/kalibratör ile, tüm nükleik asit ekstraksiyonu ve gerçek zamanlı RT-PCR amplifikasyonu işleminden geçer. SPC1'e özgü primerler ve prob, her bir NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0'a dahil edilir. Bu SPC1, NeuMoDx System'in DNA ekstraksiyonunun ve RT-PCR amplifikasyon işlemlerinin etkililiğini izlemesini sağlar.

## PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

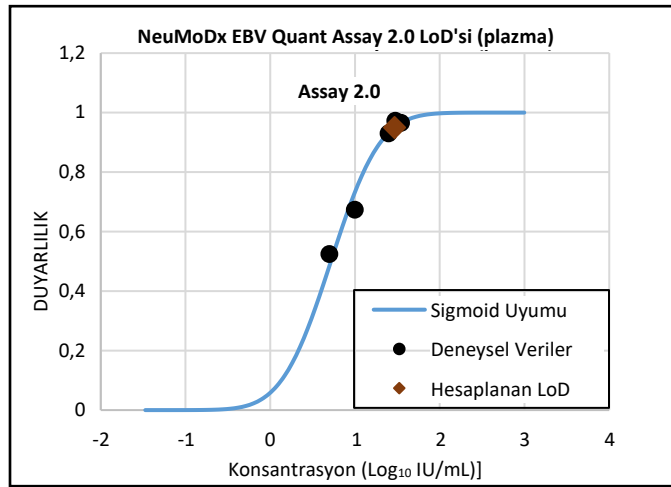
### ANALİTİK DUYARLILIK – Saptama Limiti

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'ın analitik duyarlılığı, ardışık iki aşamada karakterize edilmiştir: 1. Ön Saptama Limiti (Limit of Detection, LoD) Değerlendirmesi (Probit analizi) ve ardından 2. LoD Doğrulaması. 1. kısımda, NeuMoDx System'lerde ön LoD'yi belirlemek için, taranmış EBV negatif insan plazmasında WHO 1. Uluslararası Standardının negatif numuneleri ve bir dilüsyon serisi test edilmiştir. Ön LoD, Probit analizi tarafından belirlendiği şekilde, %95 oranında saptanan en düşük hedef seviyesi olarak tanımlanmıştır. 2. kısımda ön LoD değeri, LoD seviyesinde uydurma bir panel test edilerek doğrulanmıştır. Çalışmanın her iki aşaması 3 gün boyunca, birden fazla sistemde, birden fazla NeuMoDx reaktif lotu ile gerçekleştirilmiştir. 1. kısımda, her bir dilüsyon seviyesinde toplam 144 tekrar işlenmiştir. Saptama oranları Tablo 2'de gösterilmektedir.

Tablo 2: NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'ın Ön LoD Tayini

Hedef Konsantrasyon [IU/mL]	Hedef Konsantrasyon [ $\log_{10}$ IU/mL]	PLAZMA		
		Geçerli Testlerin Sayısı	Pozitiflerin Sayısı	Saptama Oranı
35	1,54	144	139	%96,5
30	1,48	144	140	%97,2
25	1,40	143	133	%93,0
10	1,00	144	97	%67,4
5	0,70	143	75	%52,4
NEG	---	144	0	%0,0

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'ın plazmada, EBV'ye yönelik WHO 1. Uluslararası Standardı kullanılarak LoD değeri, 29,3 IU/mL ( $1,47 \log_{10}$  IU/mL) olarak belirlenmiştir (%95 Güven Aralığı (CI) 24,4 - 37,1 IU/mL, ( $1,39 - 1,57 \log_{10}$  IU/mL) ile) [Şekil 1]. Bu LoD daha sonra, Tablo 3'te gösterilen doğruluk oranı analizi ile doğrulanmıştır.



Şekil 1: NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'ın Plazma Örneklerinde LoD'sini Belirlemek İçin Kullanılan Probit Tarzı Analiz

**Tablo 3:** NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'in LoD Doğrulaması

Sistem	Hedef Konsantrasyon [IU/mL]	Hedef Konsantrasyon [log <sub>10</sub> IU/mL]	Geçerli Testlerin Sayısı	Pozitiflerin Sayısı	Saptama Oranı
N96	29,3	1,47	96	94	%97,9
N288			96	92	%95,8
Tümü			192	186	%96,9

EBV genotipi 2 (GT2) için LoD, doğruluk oranı analizi tarafından belirlendiği şekilde 29,3 IU/mL [1,47 Log<sub>10</sub> IU/mL] olarak doğrulanmıştır.

Her iki çalışmanın sonucuna dayalı olarak, NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'in LoD değeri 29,3 IU/mL [1,47 Log<sub>10</sub> IU/mL] olarak belirlenmiştir.

#### ANALİTİK DUYARLILIK – Alt Kantitasyon Limiti (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

LLoQ, > %95 saptama oranına ulaşılan VE toplam analitik hatanın (Total Analytic Error, TAE) ≤ 1,0 olduğu en düşük hedef seviye olarak tanımlanır. LLoQ'yu belirlemek üzere, LoD hesaplamasının bir parçası olarak > %95 saptama raporladığı gösterilen her bir EBV hedef seviyesi için TAE hesaplanmıştır. TAE aşağıdaki şekilde tanımlanır:

$$TAE = \text{yanlılık} + 2 * SD \text{ (Westgard İstatistiği)}$$

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

LLoQ çalışmasında kullanılan, EBV plazma numunelerine yönelik WHO 1. Uluslararası Standardının 5 seviyesi için derlenmiş sonuçlar *Tablo 4*'te gösterilmektedir. Bu veri setine ve önceden belirlenen LoD değerine dayalı olarak, LLoQ'nun 30,0 IU/mL (1,48 Log<sub>10</sub> IU/mL) olduğu belirlenmiş ve daha sonra EBV genotipi 2 (GT2) için doğrulanmıştır.

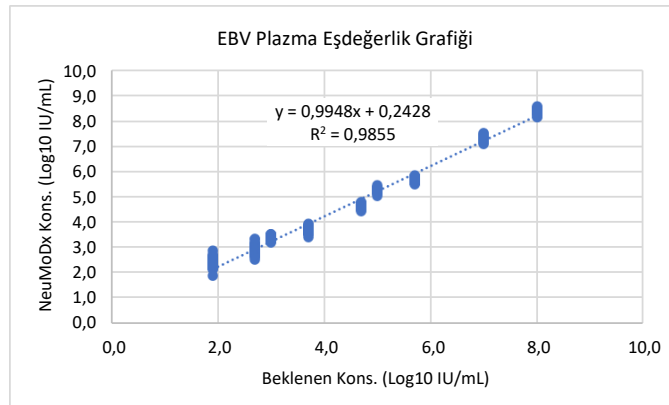
**Tablo 4:** NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 LLoQ'su, Yanlılık ve TAE ile

Hedef Kons. [IU/mL]	Hedef Kons. [log <sub>10</sub> IU/mL]	Plazma				
		Ortalama Kons. [log <sub>10</sub> IU/mL]	Saptama Oranı	SD	Yanlılık	TAE
35	1,54	2,05	%96,5	0,23	0,50	0,96
30	1,48	1,97	%97,2	0,24	0,49	0,98
25	1,40	1,93	%93,0	0,24	0,53	1,02
10	1,00	1,96	%67,4	0,31	0,96	1,59
5	0,70	1,83	%52,4	0,27	1,13	1,68

Bu çalışmaların sonucuna dayalı olarak, NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'in LoD değeri 29,3 IU/mL (1,47 log<sub>10</sub> IU/mL) olarak ve LLoQ değeri 30,0 IU/mL [1,48 log<sub>10</sub> IU/mL] olarak belirlenmiştir.

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

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'in doğrusalılığı ve Üst Kantitasyon Limiti (Upper Limit of Quantitation, ULoQ), iki ikincil standarta ek olarak EBV'ye yönelik WHO 1. Uluslararası Standardı kullanılarak bir dilüsyon serisinin hazırlanmasıyla plazma içinde belirlenmiştir: NeuMoDx kapsül içinde EBV hedefi ve ATCC EBV Culture (ATCC, Manassas, VA). EBV'ye yönelik WHO 1. Uluslararası Standardına göre izlenebilirlik, test öncesinde tüm ikincil standartlar için belirlenmiştir. 1,48 - 8,0 Log<sub>10</sub> IU/mL konsantrasyon aralığını kapsayacak bir panel oluşturmak üzere, havuzda birleştirilmiş EBV negatif plazma içinde 10 üyeli bir panel hazırlanmıştır. NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'in ULoQ değerinin 8,0 Log<sub>10</sub> IU/mL olduğu belirlenmiştir. Standart eğrinin doğrusallığını değerlendirmek için bir doğrulama paneli hazırlanmıştır ve NeuMoDx System tarafından raporlanan EBV tayin konsantrasyonları, beklenen değerler ile karşılaştırmalı olarak şurada verilmiştir: *Şekil 2*.


**Şekil 2:** NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'in Doğrusallığı

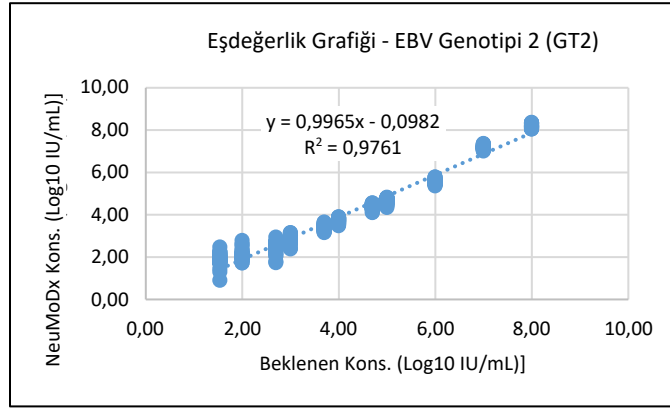


## EBV Genotipi 2'nin (GT2) Doğrusallığı

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'in EBV genotipi 2 (GT2) genelinde doğrusallığı, belirlenen izlenebilirliği EBV'ye yönelik WHO 1. Uluslararası Standardına uygun olan ve havuzda birleştirilmiş EBV negatif plazma içinde hazırlanan on bir farklı konsantrasyonda EBV GT2'nin test edilmesiyle karakterize edilmiştir. Çalışma, 2 NeuMoDx System ve 3 EBV Quant Test Strip 2.0 lotu genelinde, 11 konsantrasyonda 36 tekrarı test edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. EBV genotipi 2'nin (GT2) doğrusallığı, *Tablo 5* ve *Şekil 3*'te sunulmuştur.

**Tablo 5:** EBV Genotipi 2 İçin NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'in Doğrusallığı

Genotip	Doğrusallık Denklemi $y = \text{NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 Kantitasyonu}$ $x = \text{Beklenen Kantitasyon}$	R <sup>2</sup>
GT2	$y = 0,9965x - 0,0982$	0,9761



**Şekil 3:** EBV Genotipi 2 İçin NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'in Doğrusallığı

## Analitik Özgüllük – Çapraz Reaktivite

Analitik özgüllük, kan/plazma numunelerinde bulunabilen 36 organizmanın yanı sıra EBV'ye filogenetik olarak benzeyen türler çapraz reaktivite bakımından taranarak ortaya konmuştur. Yüksek konsantrasyonda organizmalar, 5-6 organizmalık havuzlarda hazırlanmıştır. Test edilen organizmalar *Tablo 6*'da gösterilmiştir. Test edilen hiçbir organizma ile çapraz reaktivite gözlemlenmemiştir ve bu da, NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'in %100 analitik özgüllüğünü doğrulamaktadır.

**Tablo 6:** Analitik Özgüllüğü Göstermek İçin Kullanılan Patojenler

Hedef Dışı Organizmalar					
BK Polyoma Virüs	Adenovirüs tip 5	Herpes Simplex Virüsü tip 1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Sitomegalovirüs	Hepatit C Virüsü	Herpes Simplex Virüsü tip 2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
İnsan Herpes Virüsü tip 6	Parvovirüs B19	Varicella-Zoster Virüsü	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
İnsan Herpes Virüsü tip 7	JC Virüsü	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
İnsan Herpes Virüsü tip 8	İnsan Papillom Virüsü 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatit B Virüsü	İnsan Papillom Virüsü 18	SV 40	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>

## Analitik Özgüllük – Olumsuz Etkileyen Maddeler, Kommensal Organizmalar

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 yukarıda *Tablo 6*'da listelenen, çapraz reaktivite testi için hazırlanan aynı organizma havuzları kullanılarak, hedef dışı organizmaların varlığında olumsuz etkileşim bakımından değerlendirilmiştir. Negatif EBV plazmasına, 4-7'li gruplar halinde havuzda birleştirilen organizmalar eklenmiş, ardından bu havuzlara 90 IU/mL [1,95 Log<sub>10</sub> IU/mL] konsantrasyonda EBV hedefi eklenmiştir. Olumsuz etkileyen ajan içermeyen kontrol numunelerinden minimum kantitasyon sapsması ile de gösterildiği şekilde, bu organizmaların varlığında önemli ölçüde bir olumsuz etkileşim gözlemlenmemiştir.

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

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, EBV klinik plazma numunelerinde karşılaşılan tipik eksojen ve endojen olumsuz etkileyen maddelerin varlığında değerlendirilmiştir. Bunlara, anormal ölçüde yüksek seviyede kan bileşenlerinin yanı sıra, *Tablo 7*'de sınıflandırılan yaygın antiviral ve

immünoşpresan ilaçlar da dahildir. Her madde, 90 IU/mL [ $1,95 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ ] EBV eklenip taranmış EBV negatif insan plazmasına eklenmiş ve örnekler, raporlanan konsantrasyon pozitif kontrol ile karşılaştırılarak olumsuz etkileşim bakımından analiz edilmiştir. Bunlara ek olarak, EBV enfeksiyonu ile ilişkili yaygın hastalık durumu plazması da olası etkileşim bakımından test edilmiştir. Test edilen tüm maddelerin ortalama konsantrasyonu ve yanlılığı, aynı seviyede EBV eklenmiş kontrol örnekleri ile karşılaştırmalı olarak *Tablo 8*'de raporlanmıştır. Eksojen ve endojen maddelerden hiçbiri, NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'ın özgülüğünü etkilememiştir.

**Tablo 7: Etkileşim Testi – Eksojen Ajanlar (İlaç Sınıflandırmaları)**

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

**Tablo 8: Etkileşim Testi – Endojen ve Eksojen Ajanlar**

Endojen + Hastalık Durumu	Ortalama Kons.	Yanlılık
	$\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$	$\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$
Hemoglobün	2,19	0,32
Trigliseritler	1,90	0,02
Bilirubin	2,12	0,24
Albümin	1,95	0,07
Sistemik Lupus Eritematozus (SLE)	2,08	0,20
Antinükleer Antikor (ANA)	2,36	0,48
Romatoid Artrit (RA)	1,89	0,01
Pozitif Kontrol	1,88	Uygulanamaz
Eksojen (İlaçlar)	Ortalama Kons.	Yanlılık
	$\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$	$\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$
Havuz 1: Azatioprin, Siklosporin, Foskarnet, Gansiklovir, Valgansiklovir hidroklorür	2,19	0,09
Havuz 2: Prednizon, Sidofovir, Sefotetan, Sefotaksim, Flukonazol	2,11	0,01
Havuz 3: Mikofenolat mofetil, Mikofenolat sodyum, Piperasilin, Sirolimus/Rapamisin, Tazobaktam	2,16	0,06
Havuz 4: Trimetoprim, Vankomisin, Takrolimus, Everolimus, Klavulanat potasyum	2,24	0,14
Havuz 5: Famotidin, Sulfametoksazol, Letermovir, Valasiklovir, Tikarsilin disodyum, Leflunomid	2,26	0,16
Pozitif Kontrol	2,10	Uygulanamaz

## Laboratuvar İçi Hassasiyet

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'ın hassasiyeti, 12 gün boyunca iki NeuMoDx 288 System ve iki NeuMoDx 96 System kullanılarak, günde iki defa, NeuMoDx EBV Positive Control ve EBV kültürü (ATCC, Manassas, VA) ile hazırlanan EBV numunelerinden oluşan 6 üyeli bir panelin 3 tekrarı test edilerek belirlenmiştir. Çalışma içi, gün içi ve Sistem içi hassasiyetler karakterize edilmiş ve genel standart sapmanın  $\leq 0,18 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$  olduğu belirlenmiştir. Sistemler, günler ve çalışmalar arasında, *Tablo 9*'da gösterildiği gibi mükemmel hassasiyet ortaya konmuştur. Operatör, NeuMoDx System kullanılarak örnek işlemede önemli bir role sahip olmadığı için operatörler arası hassasiyet karakterize edilmemiştir.

**Tablo 9:** Laboratuvar İçi Hassasiyet – NeuMoDx System'larda NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0

Hedef EBV Kons. [ $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ ]	Ortalama EBV Kons. [ $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ ]	Sistem İçi SD	Gün İçi SD	Çalışma İçi SD	Toplam (Laboratuvar İçi) SD
7,70	7,82	0,10	0,08	0,08	0,11
6,00	6,07	0,12	0,11	0,11	0,13
5,00	4,75	0,13	0,12	0,11	0,13
4,00	3,78	0,13	0,11	0,11	0,14
3,00	2,93	0,15	0,14	0,13	0,16
1,95	2,19	0,17	0,16	0,16	0,18

## Lotlar Arası Yeniden Üretilirlik

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'ın Lotlar Arası Yeniden Üretilirliği, Laboratuvar İçi Hassasiyet çalışması kapsamında 3 NeuMoDx EBV Quant Test Strip 2.0 lotunun değerlendirilmesiyle belirlenmiştir. Performansı değerlendirmek için EBV pozitif plazmanın 6 üyeli bir paneli kullanılmıştır (*Tablo 10*). Lotlar genelinde elde edilen sonuçlar analiz edilmiş ve *Tablo 10*'da sunulmuştur. NeuMoDx EBV Quant Assay Test Strip 2.0 için maksimum yanlışlık  $0,29 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$  ve maksimum SD  $0,18 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$  olmuştur. Tüm panel üyelerinin kantitasyonu tolerans spesifikasyonu dahilinde olduğu için lotlar arasında eşdeğer performans ortaya konmuştur.

**Tablo 10:** Lotlar Arası Yeniden Üretilirlik – NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0, Test Strip

Beklenen Kons. ( $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ )	Lot 1			Lot 2			Lot 3		
	Ort. Kons. ( $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ )	Log Kons. SD	Mutlak Yanlılık	Ort. Kons. ( $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ )	Log Kons. SD	Mutlak Yanlılık	Ort. Kons. ( $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ )	Log Kons. SD	Mutlak Yanlılık
7,70	7,82	0,11	0,12	7,84	0,10	0,14	7,79	0,09	0,09
6,00	6,08	0,12	0,08	6,10	0,10	0,10	6,04	0,10	0,04
5,00	4,77	0,13	0,23	4,78	0,13	0,22	4,71	0,10	0,29
4,00	3,80	0,15	0,20	3,81	0,13	0,19	3,74	0,11	0,26
3,00	2,96	0,16	0,04	2,96	0,15	0,04	2,87	0,16	0,13
1,95	2,20	0,18	0,25	2,22	0,18	0,27	2,16	0,16	0,21

## Örnek İşleme Kontrolünün Etkinliği

Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC1), NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'a, işleme adımı hatalarını veya tayinin performansını olumsuz etkileyen inhibisyonu raporlamak üzere eklenmiştir. NeuMoDx CMV Quant Assay model olarak kullanılarak, SPC1'in etkinliği, örnek işleme sırasında potansiyel olarak gerçekleştirilecek ve NeuMoDx System performans izleme sensörleri tarafından *saptanamayabilecek* kritik işleme adımı hatalarını temsil eder nitelikte koşullar altında plazma numuneleri için test edilmiştir. Sitomegalovirüs pozitif numuneler ( $3 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ 'de) ve negatif numuneler, şu koşullar altında değerlendirmeye tabi tutulmuştur: inhibitör varlığı, yıkama solüsyonu iletilmedi ve yıkama üfleme yok. Viral hedef saptaması/kantitasyonu üzerinde olumsuz etkisi olan işleme verimsizlikleri, SPC1 hedefinin performansı ile, *Tablo 11*'de gösterildiği şekilde yansıtılmıştır. Test edilen tüm durumlarda, örnek işleme kontrolünün işleme verimsizliklerini ve inhibitörlerin varlığını yeterli ölçüde izlediği veya beklenen işleme verimsizliğinin SPC1 saptaması veya viral hedef saptaması ve kantitasyonu üzerinde önemli bir olumsuz etki oluşturmadığı ortaya konmuştur. Dolayısıyla SPC1, NeuMoDx System'da tayin performansını etkili bir şekilde izleme konusunda başarı göstermiştir.

**Tablo 11:** Plazmada viral DNA için Örnek İşleme Kontrolünün Etkinliği\*

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

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

## Çapraz kontaminasyon

Plazma numuneleri için çapraz kontaminasyon oranı, EBV'nin yüksek pozitif ve negatif örnekleri dönüşümlü olarak işlenerek belirlenmiştir. Dama düzenindeki testin beş seti, EBV negatif plazmanın toplam 60 tekrarı ve 6,0 Log<sub>10</sub> IU/mL'de EBV eklenen plazmanın 60 tekrarı ile, hem NeuMoDx 288 hem de 96 Molecular System'da gerçekleştirilmiştir. Her iki tip sistemde, negatif numunenin 120 tekrarı tümü negatif olarak raporlanmıştır. Bu da, NeuMoDx System'larda plazma örneği işleme sırasında çapraz kontaminasyon gerçekleşmediğini göstermektedir.

## Numune Matrisi Eşdeğerliği

Model olarak kanla bulaşan benzer bir virüs olan CMV kullanılarak, taze ve dondurulmuş plazma numuneleri arasındaki eşdeğerliği göstermek için test yapılmıştır. Taze numuneler, üç seviyede CMV eklenip eşdeğerlik bakımından test edilene kadar 4 °C'de tutulmuştur. Örnekler, -20 °C'de en az 24 saat boyunca dondurulmuştur. Bu donuk saklama süresinden sonra numuneler çözündürülmüş ve tekrar test edilmiştir. Taze / dondurulmuş plazma numunelerinin sonuçları, regresyon analizi kullanılarak eşdeğerlik bakımından karşılaştırılmıştır. Veriler, 1,0 eğim ve çok düşük yanlışlık (kesişim) ile, aşağıdaki *Tablo 12*'de sunulduğu şekilde taze ve dondurulmuş plazma numuneleri arasında mükemmel eşdeğerlik sergilemiştir.

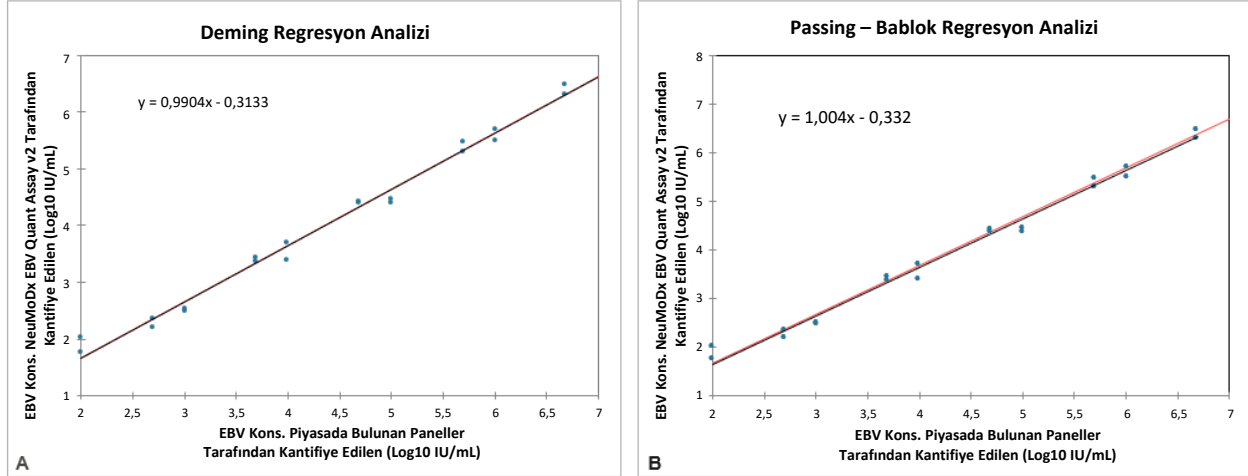
**Tablo 12:** Numune Matrisi Eşdeğerliği

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

## Kantitatif Performans Karakterizasyonu

NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0'in kantitatif performansı, AcroMetrix ve Exact Diagnostics'in piyasada bulunabilen iki EBV Doğrulama Paneli (EBV'ye yönelik WHO 1. Uluslararası Standardına göre izlenebilir) NeuMoDx Molecular System'larda işlenerek karakterize edilmiştir.

Deming Regresyon (*Şekil 4A*) veya Passing-Bablok yöntemi (*Şekil 4B*) ile analiz yapıldığında, NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ile piyasada bulunabilen iki EBV doğrulama paneli arasında mükemmel korelasyon elde edilmiştir (*Şekil 4*).



**Şekil 4.** AcroMetrix ve Exact Diagnostics Doğrulama Panelleri ile NeuMoDx EBV Quant Assay Arasındaki Eşdeğerlik Grafiği.

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

Deming Regresyon uyumunun kalitesi, 0,990 değerinde bir genel eğim katsayısı ve -0,313 değerinde bir kesişim (yanlılık) ile gösterilmiştir. Bu da, NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ile EBV Doğrulama Panellerinden elde edilen konsantrasyon sonuçlarının, kabul edilebilir yanlılık ile birbirleriyle korele olduğunu ortaya koymuştur. Passing-Bablok doğrusal uyumu da, NeuMoDx EBV Quant Assay 2.0 ile EBV Doğrulama Panellerinden elde edilen sonuçlar arasındaki korelasyonun büyüklüğünü, 1,004 değerinde bir genel eğim katsayısı ve -0,332 değerinde bir kesişim (yanlılık) ile desteklemiştir. Passing-Bablok analizinin p değeri 0,988 olarak hesaplanmıştır.

**Tablo 13:** Deming ve Passing-Bablok Doğrusal Regresyon Analizinin Özeti

Deming Analizi		Passing-Bablok Analizi	
Kesişim	Eğim Katsayısı	Kesişim	Eğim Katsayısı
-0,313	0,990	-0,332	1,004
%95 CI (-0,620, -0,007)	%95 CI (0,928, 1,053)	%95 CI (-0,548, -0,116)	%95 CI (0,950, 1,047)

## REFERANSLAR

1. Epstein-Barr virus infection. [N Engl J Med](#). 2000 Aug 17;343(7):481-92.
2. Epstein-Barr Virus–Positive Posttransplant Lymphoproliferative Disease After Solid Organ Transplantation: Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Management. [Transplant Direct](#). 2016 Jan; 2(1): e48.
3. About Epstein-Barr Virus (EBV).” Centers for Disease Control and Prevention, Centers for Disease Control and Prevention, 28 Sept. 2020, [www.cdc.gov/epstein-barr/about-ebv.html](http://www.cdc.gov/epstein-barr/about-ebv.html)
4. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
5. Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

## TİCARİ MARKALAR

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










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


Seracare®, Seracare Life Sciences, Inc. firmasının tescilli ticari markasıdır.

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

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

## SEMBOL ANAHTARI

<b>R only</b>	Yalnızca reçete ile kullanılır		<n> test için yeterli içerik
	Üretici		Kullanma talimatına bakın
<b>IVD</b>	<i>In vitro</i> tanı amaçlı tıbbi cihaz		Dikkat
<b>EC REP</b>	Avrupa Topluluğu yetkili temsilcisi		Sağlık Tehlikesi
<b>REF</b>	Katalog numarası	<b>CE</b>	CE İşareti
<b>LOT</b>	Parti kodu	<b>CONT</b>	İçerik
	Son kullanma tarihi		Hayvansal kaynaklı biyolojik materyal içerir
	Sıcaklık limiti	<b>Boric Acid</b>	Borik asit
	Tekrar kullanmayın		

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

**EC REP**

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

Teknik destek/Vijilans raporlaması: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

Patent: [www.neumodx.com/patents](http://www.neumodx.com/patents)

**CE**