

REF 201300 NeuMoDx™ HBV 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 için*Prospektüs 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 HBV Quant Assay, HBV ile enfekte kişilerin HBV A ila H genotipleri için insan plazma ve serum numunelerinden hepatit B virüsü (HBV) DNA'sının kantitasyonuna yönelik olan, otomatik bir *in vitro* nükleik asit amplifikasyon testidir. NeuMoDx 288 Molecular System ve NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System'lar) üzerinde uygulanan NeuMoDx HBV Quant Assay, hedef nükleik asidi numuneden izole etme amaçlı otomatik DNA ekstraksiyonunu ve Hepatit B viral genomundaki yüksek ölçüde korunmuş sekansları hedefleme amaçlı gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunu (qPCR) içerir.

NeuMoDx HBV Quant Assay, HBV enfeksiyonuna sahip hastaların yönetiminde yardımcı olarak kullanıma yöneliktir. NeuMoDx HBV Quant Assay'den elde edilen sonuçlar, tüm ilgili klinik ve laboratuvar bulguları bağlamında yorumlanmalıdır. NeuMoDx HBV Quant Assay, kan veya kan ürünleri için bir tarama testi olarak veya HBV enfeksiyonunun klinik durumunu tanılama amaçlı bir tanılama aracı olarak 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 toplama 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 veya serum örneğinin 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 (HBV genomu hedefinin X proteini ve preC proteinini kodlayan yüksek ölçüde korunmuş bölgedeki kısımları) amplifiye etmek ve saptamak için gerekli tüm adımları otomatik olarak gerçekleştirir. NeuMoDx HBV Quant Assay, ekstraksiyon ve amplifikasyon işlemlerinde karşılaşılabilecek NeuMoDx System veya reaktif hatalarının yanı sıra, potansiyel inhibe edici maddelerin varlığını izlemeye yardımcı olması amacıyla bir DNA Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC1) içerir.

Hepatit B virüsü (HBV), hepatit B karaciğer enfeksiyonunun kaynak ajanıdır ve dünya çapında bir sağlık sorunudur. Hepatit B, akut hepatite neden olabilir veya siroz ya da karaciğer kanseri ile sonuçlanan kronik bir hastalığa dönüşebilir. Kronik hastalık gelişme riski birincil olarak yaşla ilgilidir; virüs doğum esnasında bulaşmışsa kronik hastalık gelişme olasılığı >%90 olup yetişkinde enfekte olan birinde kronik hastalık gelişme olasılığı %2-6'dır.¹ HBV, enfekte bir kişiyle kandan kana temas yoluyla, cinsel ilişki yoluyla, damar içi uyuşturucu kullanımı durumunda enfekte kişiyle iğne paylaşımı yoluyla veya doğum esnasından anneden bebeğe dikey bulaşma yoluyla bulaşır. Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık 850.000 kişi HBV enfeksiyonu ile yaşamakta olup yeni enfeksiyonların büyük çoğunluğu, cinsel yoldan veya enjeksiyon yoluyla uyuşturucu kullanımıyla bulaşmaktadır.² Afrika ve Batı Pasifik'te ise nüfusun %5'inin enfekte olduğu bilinmektedir. 2015 yılında HBV enfeksiyonu, çoğunlukla siroz veya hepatosellüler karsinom kaynaklı olmak üzere dünya genelinde 885.000 ölüme yol açmıştır.³ HBV enfeksiyonunu önlemede %95 oranında etkili olan bir aşı mevcuttur ve bu sayede her yıl daha az vaka teşhis edilmektedir.⁴

HBV enfeksiyonunun tedavisinde mevcut bakım standardı, tedavinin istendiği şekilde ilerlediğinden emin olmak için sürekli izleme gerektiren antiviral tedavidir. Terapinin NeuMoDx HBV Quant Assay kullanılarak izlenmesi, hekimlere, HBV enfeksiyonu bulunan hastaların yönetilmesine yardımcı olmak için gerekli bilgileri sağlayabilir.

PROSEDÜR PRENSİPLERİ

NeuMoDx HBV Quant Assay, gerçek zamanlı PCR ile otomatik DNA 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 1 ve NeuMoDx Extraction Plate içinde bulunan ajanlarla karıştırılmak üzere, plazmanın /serumun bir alikotunu otomatik olarak aspire eder. NeuMoDx System; DNA ekstraksiyonu ve konsantrasyonu, reaktif hazırlığı ve gerçek zamanlı PCR kullanılarak hedef sekansların nükleik asit amplifikasyonu/saptaması işlemlerini otomatik hale getirir ve entegre eder. Eklenen Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC1), 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, DNA ekstraksiyonu ve inhibitörlerin giderilmesi işlemlerini otomatik olarak gerçekleştirmek için ısı, litik enzim ve ekstraksiyon reaktiflerinin bir bileşimini kullanır. Serbest kalan nükleik asitler, paramanyetik partiküller tarafından yakalanır. Bağlı nükleik asitle birlikte partiküller, bağlanmayan elemanların NeuMoDx Wash Reagent ile yıkanarak giderildiği NeuMoDx Cartridge içine yüklenir. Bağlanan DNA daha sonra, NeuMoDx Release Reagent kullanılarak elüsyona tabi tutulur. NeuMoDx System, HBV ve SPC1 hedeflerinin amplifikasyonu için gerekli olan tüm elemanları içeren tescilli NeuDry™ amplifikasyon reaktiflerini rehidre etmek için elüsyonu yapılan DNA'yı kullanır. Böylece, hem hedef hem de kontrol DNA sekanslarının eş zamanlı amplifikasyonu ve saptanması sağlanır. Kurutulmuş PCR reaktifleri sulandırıldıktan sonra NeuMoDx System, hazırlanan PCR'ye hazır karışımı, NeuMoDx Cartridge'in bir PCR bölümüne (numuneye göre) dağıtır. Kontrol ve hedef DNA sekanslarının (mevcutsa) 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 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, HBV DNA'sının saptanmasında kullanılır. SPC1'in saptanmasında TaqMan probu, 5' uçta alternatif bir floresan boya (Eksitasyon: 535 nm ve Emisyon: 556 nm), 3' uçta ise koyu baskılayıcı ile etiketlenir. NeuMoDx System yazılımı, her amplifikasyon döngüsünün sonunda TaqMan problemleri tarafından yayılan floresan sinyalinin 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 pozitif ve hesaplanan konsantrasyon kantitatif 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
201300	NeuMoDx HBV Quant Test Strip HBV ve SPC1'e özgü TaqMan prob ve primerlerini içeren kurutulmuş 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
800100 veya 800102	NeuMoDx HBV Calibrator'lar Kalibrasyon eğrisinin geçerliliğini belirlemek için tek kullanımlık HBV Yüksek ve Düşük Kalibratör setleri
900101 veya 900102	NeuMoDx HBV External Control'lar Tek kullanımlık Pozitif ve Negatif Kontrol setleri
400400	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]

UYARILAR VE ÖNLEMLER

- NeuMoDx HBV 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 kırık sarf malzemelerini veya reaktifleri kullanmayın.
- Klinik örnekleri için test sonuçlarının oluşturulabilmesi için geçerli bir test kalibrasyonu (NeuMoDx HBV Calibrator'lardan yüksek ve düşük kalibratörler işlenerek oluşturulur) bulunmalıdır.
- NeuMoDx HBV Quant Assay ile test boyunca 24 saatte bir olmak üzere NeuMoDx HBV External Control'ların işlenmesi gerekir.
- Minimum numune hacmi, aşağıda tanımlandığı şekilde tüp boyutu, numune taşıyıcı ve numune hacmi işlemeye bağlıdır. Belirtilen minimum değer in altındaki hacim "Quantity Not Sufficient" (Miktar Yeterli Değil) hatasına neden olabilir.

- Uygun olmayan sıcaklıklarda veya belirtilen saklama sürelerinden daha uzun süreliğine saklanan numunelerin kullanımı geçersiz veya hatalı sonuçlar verebilir.
- Her zaman tüm reaktiflerin ve sarf malzemelerinin mikrobiyal ve deoksiribonükleaz (DNaz) kontaminasyonundan kaçının. İkincil tüpler kullanılıyorsa steril, DNaz 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 HBV 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 HBV Quant Test Strip'in ve NeuMoDx Extraction Plate'in folyo mührüne veya NeuMoDx Lysis Buffer 1'in üst yüzeyine dokunmamaya dikkat edilmelidir. Sarf malzemeleri ve reaktifler yalnızca yan yüzeylere dokunarak kullanılmalıdır.
- 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.
- Ağzıla 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*⁵ ile CLSI Belgesi M29-A4 içinde açıklananlar gibi güvenli laboratuvar prosedürleri doğrultusunda kullanın.⁶
- Kullanılmayan reaktifleri ve atığı, ülkeye özel, federal, bölgesel, eyalete özel ve yerel yönetmelikler doğrultusunda bertaraf edin.
- Tekrar kullanmayın.



ÜRÜNÜ SAKLAMA, KULLANMA VE STABİLİTE

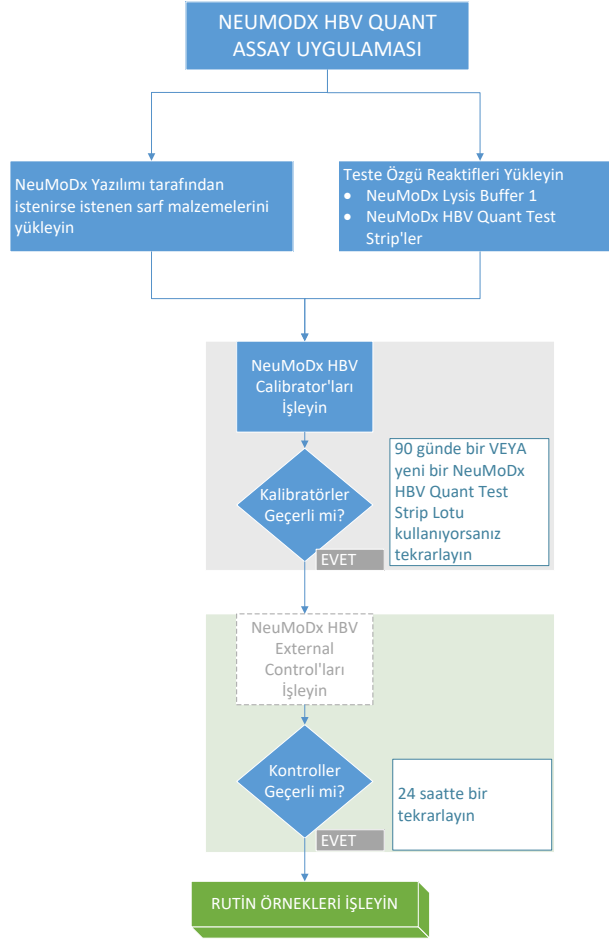
- NeuMoDx HBV Quant Test Strip'ler, 4 ila 28 °C sıcaklıkta saklandığında, birincil ambalajı içinde, ürünün üzerindeki etikette belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir.
- Belirtilen son kullanma tarihi geçmiş sarf malzemelerini ve reaktifleri kullanmayın.
- Birincil veya ikincil ambalajının hasar gördüğü görsel olarak tespit edilen hiçbir test ürününü kullanmayın.
- Başka bir NeuMoDx System'a önceden yüklenmiş hiçbir test ürününü yeniden yüklemeyin.
- NeuMoDx HBV Quant Test Strip, yüklendikten sonra, NeuMoDx System üzerinde 62 gün boyunca 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, antikoagülan olarak EDTA veya ACD kullanılarak steril tüplerde toplanmalıdır. Hazırlık ve depolama için numune toplama tüpü üreticisinin talimatlarına uyun.
4. Serum numunelerini hazırlamak için tam kan 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, plazma numuneleri 8 saate kadar ve serum numuneleri 24 saate kadar olmak üzere 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 saklanmalı ve oda sıcaklığında plazma numuneleri maksimum 8 saat ve serum numuneleri maksimum 24 saat olmak üzere saklanmalıdır.
8. Hazırlanan numuneler işlenmeden önce 4 haftaya kadar (serum) veya 6 aya kadar (plazma) ≤-20 °C sıcaklıkta saklanabilir; dondurulmuş numuneler, kullanılmadan önce, plazma için 2'den fazla dondurma/çözdürme döngüsü ve serum için 4'ten fazla dondurma/çözdürme döngüsüne tabi tutulmamalıdır.
 - a. Örnekler dondurulmuşsa örneklerin oda sıcaklığında (15-30 °C) tamamen çözünmesini bekleyin; eşit dağılımlı bir örnek elde etmek için vorteksleyin.
 - b. Dondurulmuş örnekler çözdürüldükten sonra 24 saat içinde test gerçekleştirilmelidir.
 - c. Plazma/serumun birincil toplama tüplerinde dondurulması önerilmez.

9. Gönderilen numuneler ambalajlanmalı ve uygun ülke düzenlemeleri ve/veya uluslararası düzenlemeler ile uyumlu bir şekilde etiketlenmelidir.
10. Numuneleri anlaşılır bir şekilde etiketleyin ve numunelerin HBV testi için olduğunu belirtin.
11. *Test Hazırlığı* bölümüne ilerleyin.

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



Şekil 1: NeuMoDx HBV Quant Assay Uygulaması İş Akışı

KULLANMA TALİMATI

Test Hazırlığı

NeuMoDx HBV 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 işleme iş akışı. Numune barkod etiketini, NeuMoDx System ile uyumlu numune tüpüne uygulayın.

1. 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/serumun 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 yükmeden önce kapağının çıkarıldığından emin olun. Jel/beyaz kan hücresi katmanının **üzerindeki** minimum hacimler aşağıda tanımlanmıştır ve numuneler, tüp üreticisinin talimatları doğrultusunda toplandığı 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 aşağıda tanımlanan hacimlere göre, NeuMoDx System ile uyumlu olan barkodlu numune tüpüne, plazmanın/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

NeuMoDx System'lerin Çalışması

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

- Test isteğini, istenen numune işleme 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 HBV 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 HBV Calibrator'ları ve/veya NeuMoDx HBV 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 işlemeye başlar.

SINIRLAMALAR

- NeuMoDx HBV Quant Test Strip yalnızca NeuMoDx System'lar üzerinde kullanılabilir.
- NeuMoDx HBV Quant Test Strip'in performansı, antikoagulan olarak EDTA/ACD ile hazırlanan plazma numuneleri veya serum ayırma tüplerinde hazırlanan serum numuneleri için belirlenmiştir. NeuMoDx HBV Quant Test Strip'in başka kaynaklar ile kullanımı değerlendirilmemiştir ve diğer numune türleri için performans özellikleri bilinmemektedir.
- NeuMoDx HBV Quant Test Strip'in performansı birincil tüp testi için BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tube'ler, BD PPT Plasma Preparation Tube, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube ve BD Vacutainer SST Tube kullanılarak belirlenmiştir.

- 200 µL numune hacmi iş akışı kullanıldığında, NeuMoDx HBV Quant Assay'in saptama limitinde ve alt kantitasyon limitinde ufak bir artış gözlemlenmiştir.
- NeuMoDx HBV Quant Assay yalnızca kantitatif izleme amacıyla kullanılır. Kalitatif saptama amacıyla kullanıma yönelik değildir.
- NeuMoDx HBV Quant Assay, heparinize insanlardan alınan örneklerle kullanılmamalıdır.
- HBV saptaması örnekte bulunan hedef DNA partiküllerinin sayısına bağlı olduğundan güvenilir sonuçlar alınması, doğru numune toplama, kullanımı ve saklamaya bağlıdır.
- NeuMoDx HBV Calibrator'lar ve NeuMoDx HBV External Control'lar, rutin klinik örnekler işlenmeden önce NeuMoDx System yazılımı tarafından istendiğinde prospektüste önerildiği şekilde işlenmelidir.
- 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 HBV Quant Assay'in saptama limitinin altında olduğu için yanlış negatif sonuçlar elde edilebilir.
- NeuMoDx System'in kullanımı, NeuMoDx System kullanımı konusunda eğitim almış personelle sınırlandırılmıştır.
- Hem HBV hedefinin hem de SPC1 hedefinin amplifiye olmaması durumunda geçersiz bir sonuç (Indeterminate (Şüpheli), No Result (Sonuç Yok) veya Unresolved (Çözülmemiş)) raporlanır ve testin tekrarlanması gerekir.
- NeuMoDx HBV Quant Assay sonucu Positive (Pozitif) ancak kantitasyon değeri kantitasyon limitlerinin ötesindeyse NeuMoDx System, saptanan HBV'nin Alt Kantitasyon Limitinin (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) *altında* mı yoksa Üst Kantitasyon Limitinin (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) *üstünde* mi olduğunu raporlar.
- Saptanan HBV'nin LLoQ değerinin *altında* olması durumunda test, numunenin başka bir alikotu ile (istenirse) tekrarlanabilir.
- Saptanan HBV'nin, ULoQ değerinin üstünde olması durumunda NeuMoDx HBV Quant Assay, orijinal numunenin seyreltilmiş bir alikotu ile tekrarlanabilir. HBV negatif plazmanın veya Basematrix 53 Diluent'in (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA) 1:1000 oranında bir dilüsyonu önerilir. Orijinal numunenin konsantrasyonu aşağıdaki şekilde hesaplanabilir:
$$\text{orijinal numune konsantrasyonu} = \log_{10}(\text{seyreltme faktörü}) + \text{seyreltilmiş örneğin raporlanan konsantrasyonu}$$
- Zaman zaman plazmada 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.
- Pozitif bir sonuç, her zaman canlı organizmaların varlığına işaret etmez. Bununla birlikte pozitif bir sonuç, hepatit B virüsü DNA'sı varlığının olası olduğu anlamına gelir.
- NeuMoDx HBV Quant Assay tarafından hedeflenen korunmuş bölgelerdeki silinme veya mutasyonlar, saptamayı etkileyebilir veya NeuMoDx HBV Quant Test Strip kullanılırken hatalı bir sonuca yol açabilir.
- NeuMoDx HBV Quant Assay'den elde edilen sonuçlar, klinik gözlemler ve doktorun ulaşabildiği diğer bilgilere ek olarak kullanılmalıdır. Tayin, enfeksiyon tanısı koyma amacı taşımamaktadır.
- Kontaminasyonu önlemek için hasta numuneleriyle yapılan çalışmalar arasında eldiven değiştirmek gibi iyi laboratuvar uygulamaları önerilir.

SONUÇLARI İŞLEME

Mevcut sonuçlar, NeuMoDx System dokunmatik ekranında bulunan Results (Sonuçlar) penceresindeki "Results" (Sonuçlar) sekmesinden görüntülenebilir veya yazdırılabilir. NeuMoDx HBV Quant Assay sonuçları NeuMoDx System yazılımı tarafından, NeuMoDx HBV Quant Tahlil Tanımlama Dosyasında (HBV 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 HBV konsantrasyonu ile Positive (Pozitif), ULoQ'nun üzerinde Positive (Pozitif), LLoQ'nun altında Positive (Pozitif), Indeterminate (Şüpheli) (IND), Unresolved (Çözülmemiş) (UNR) veya No Result (Sonuç Yok) (NR) olarak raporlanabilir. Sonuçlar, aşağıda *Tablo 1'*de özetlenen ADF karar algoritmasına dayalı olarak raporlanır.

Tablo 1: HBV Quant Assay Karar Algoritmasının Özeti

SONUÇ	HBV Hedefi	Örnek İşleme Kontrolü (Sample Process Control, SPC1)	Sonucun Yorumlanması
Raporlanan Konsantrasyonla Birlikte Positive (Pozitif)	Amplified (Amplifiye) 0,9 ≤ [HBV] ≤ 9,0 log ₁₀ IU/mL (550 µL İş Akışı) 1,4 ≤ [HBV] ≤ 9,0 log ₁₀ IU/mL (200 µL İş Akışı)	Amplified (Amplifiye) veya Not Amplified (Amplifiye Değil)	Kantitatif aralık içinde HBV DNA'sı saptandı
Positive (Pozitif), ULoQ üzerinde	Amplified (Amplifiye) [HBV] > 9,0 log ₁₀ IU/mL	Amplified (Amplifiye) veya Not Amplified (Amplifiye Değil)	Kantitatif aralığın üzerinde HBV DNA'sı saptandı
Positive (Pozitif), LLoQ altında	Amplified (Amplifiye) [HBV] < 0,9 log ₁₀ IU/mL (550 µL İş Akışı) [HBV] < 1,4 log ₁₀ IU/mL (200 µL İş Akışı)	Amplified (Amplifiye) veya Not Amplified (Amplifiye Değil)	Kantitatif aralığın altında HBV DNA'sı saptandı
Negative (Negatif)	Not Amplified (Amplifiye Değil)	Amplified (Amplifiye)	HBV DNA'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 HBV Quant Assay'in Kantitasyon aralığında olan örnekler söz konusu olduğunda, örneklerdeki HBV DNA'sı konsantrasyonu, saklanan standart eğri kalibrasyon katsayısıyla ve numune hacmiyle birlikte kullanılarak hesaplanır.
 - Belirli bir NeuMoDx System'da, belirli bir NeuMoDx HBV Quant Test Strip lotu için standart eğri geçerliliğini belirlemek üzere işlenen NeuMoDx HBV Calibrator'ların sonuçlarına dayalı olarak bir kalibrasyon katsayısı hesaplanır.
 - Kalibrasyon katsayısı, HBV DNA'sı konsantrasyonunun nihai tayini için kullanılır.
 - NeuMoDx Yazılımı, numune mL'si başına HBV DNA'sı konsantrasyonunu belirlerken numune giriş hacmini hesaba katar.
- NeuMoDx HBV Quant Assay sonuçları log₁₀ IU/mL cinsinden raporlanır.
- Bilinmeyen örneklerin elde edilen kantitasyonu, WHO 4. HBV Uluslararası Standardına göre izlenebilir.

Test Kalibrasyonu

Numunelerdeki HBV DNA'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 HBV Quant Test Strip lotu ile, NeuMoDx System'a yeni bir HBV Quant Tahlil Tanımlama Dosyası yüklenmişse, mevcut kalibratör setinin geçerlilik süresi (mevcut durumda 90 güne ayarlıdır) dolmuşsa veya NeuMoDx System yazılımı üzerinde değişiklik yapılmışsa bir NeuMoDx HBV 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 3,7 log₁₀ IU/mL, yüksek kalibratör nominal hedefi ise 5,7 log₁₀ IU/mL'dir.
 - Test şeridi lotları arasında beklenen varyasyonu hesaba katmak için bir kalibrasyon katsayısı hesaplanır. Bu kalibrasyon katsayısı, nihai HBV 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 HBV 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, HBV Positive (HBV 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 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 HBV External Control'ları geçerlilik testinde başarısız olan kontrollerin bulunduğu taze şişelerle tekrarlayın.
 - d) Pozitif NeuMoDx HBV External Control Negative (Negatif) sonuç raporlamaya devam ederse NeuMoDx teknik servisi ile iletişime geçin.
 - e) Negatif NeuMoDx HBV 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 (SPC1), NeuMoDx Extraction Plate'e dahil edilir ve her bir örnekle, tüm nükleik asit ekstraksiyonu ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction, PCR) amplifikasyonu işleminden geçer. SPC1'e özgü primerler ve prob da her bir NeuMoDx HBV Quant Test Strip'e eklenerek, multipleks PCR aracılığıyla, hedef HBV DNA'sı (varsa) ile SPC1'in saptanmasını sağlar. SPC1 amplifikasyonunun saptanması, NeuMoDx System yazılımının DNA ekstraksiyonunun ve PCR amplifikasyon işlemlerinin etkililiğini izlemesini sağlar.

Geçersiz Sonuçlar

NeuMoDx System üzerinde gerçekleştirilen bir NeuMoDx HBV Quant Assay'in örnek işleme tamamlandıktan sonra geçerli bir sonuç üretilmemesi 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 HBV DNA'sı veya SPC1'in geçerli bir amplifikasyonu saptanmamışsa raporlanır. Bu durum, olası bir reaktif hatasına veya inhibitörlerin varlığına işaret eder. UNR (Çözümlememiş) sonucunun raporlanması halinde ilk adım olarak yeniden test yapılması önerilir. Yeniden yapılan test başarısız olursa örnek inhibisyonunun etkilerini hafifletmek için numune dilüsyonu kullanılabilir.

NeuMoDx System üzerinde gerçekleştirilen bir NeuMoDx HBV Quant Assay geçerli bir sonuç üretilmez 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

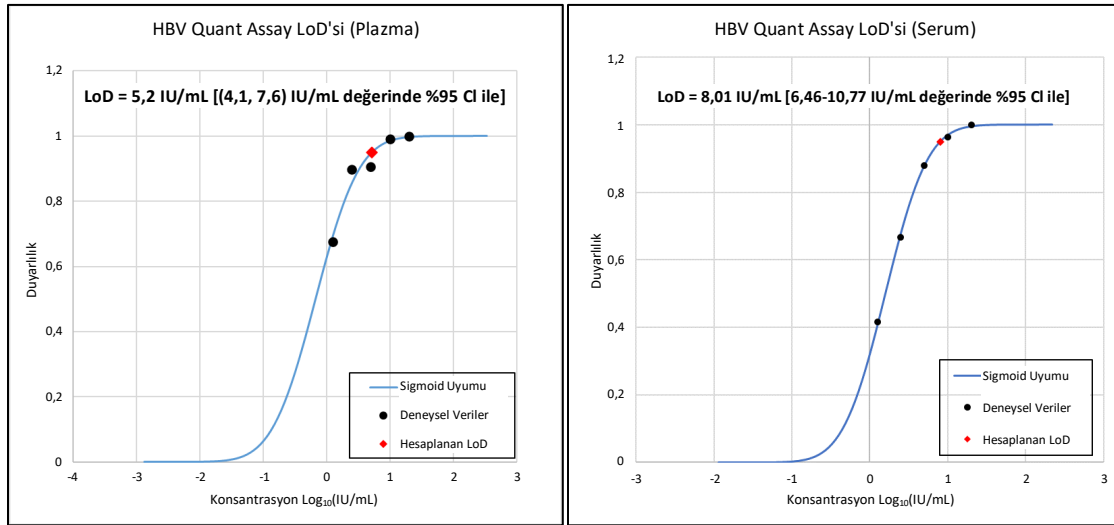
Analitik Duyarlılık – WHO Standardı Kullanılarak Saptama Limiti

NeuMoDx HBV Quant Assay'in Analitik Duyarlılığı, NeuMoDx System'lerde Saptama Limitinin (Limit of Detection, LoD) belirlenmesi için negatif numuneler ve WHO 4. Uluslararası Standardının 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. Çalışmalar 3 gün boyunca, birden fazla NeuMoDx System'da, birden fazla NeuMoDx reaktif lotu ile gerçekleştirilmiştir. NeuMoDx HBV Quant Assay'in 200 µL numune hacmi iş akışı kullanıldığındaki LoD'sini doğrulamak için ek bir çalışma yürütülmüştür. Her iki çalışmadan elde edilen saptama oranları, *Tablo 2'*de gösterilmektedir.

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

	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
550 μ L	20	1,30	108	108	%100	107	107	%100
	10	1	108	107	%99	108	104	%96
	5	0,70	108	98	%91	108	95	%88
	2,5	0,40	108	97	%90	108	72	%67
	1,25	0,10	108	73	%68	108	44	%42
	NEG	Uygulanamaz	108	0	%0	107	0	%0
200 μ L	25	1,40	43	43	%100	44	44	%100

NeuMoDx HBV Quant Assay'in HBV Genotipi A için plazma içindeki LoD'si (4. WHO Uluslararası Standardı), 550 μ L numune hacmi iş akışı kullanılarak, 5,2 IU/mL (%95 CI 4,1-7,6 IU/mL) [(0,72 \log_{10} IU/mL) (%95 CI 0,61-0,88 \log_{10} IU/mL)] olarak belirlenmiştir (Şekil 2). NeuMoDx HBV Quant Assay'in serum numuneleri için LoD'si, 550 μ L numune hacmi iş akışı kullanılarak, 8,0 IU/mL (%95 CI 6,5-10,8 IU/mL) [(0,9 \log_{10} IU/mL) (%95 CI 0,8-1,0 \log_{10} IU/mL)] olarak belirlenmiştir (Şekil 2).


Şekil 2: NeuMoDx HBV Quant Assay'in LoD'sini belirlemek için kullanılan probit tarzı analiz; Plazma (sol) ve Serum (sağ)

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

Alt Kantasyon 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 HBV hedef seviyesi için toplam analitik hata (total analytical error, TAE) hesaplanmıştır. TAE aşağıdaki şekilde tanımlanır:

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

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

WHO 4. Uluslararası Standardı kullanılarak, LLoQ çalışmasında kullanılan 5 seviye HBV numunesinin derlenmiş sonuçları *Tablo 3*'te gösterilmektedir. NeuMoDx HBV Quant Assay (550 μ L numune hacmi iş akışı) kullanılarak, 4. WHO Uluslararası Standardı için plazmadaki LLoQ değeri, 5,5 IU/mL (0,74 \log_{10} IU/mL) olarak belirlenmiştir. 200 μ L numune hacmi iş akışı kullanılan durumda LLoQ değerini doğrulamak için ayrı bir çalışma yapılmış olup bu sonuçların gösterdiği 25 IU/mL'lik LLoQ da *Tablo 3*'te gösterilmektedir.

NeuMoDx HBV Quant Assay'in serum numuneleri için LLoQ'su, 550 μ L numune hacmi iş akışı kullanılarak 6,0 IU/mL ve düşük hacimli (200 μ L) numune hacmi iş akışı kullanılarak 25 IU/mL olarak belirlenmiş olup *Tablo 3*'te gösterilmektedir.

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

	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
550 μ L	20	1,30	1,29	100	0,23	0,16	0,63	1,43	100	0,20	0,13	0,52
	10	1,00	1,07	99	0,25	0,20	0,71	1,21	96	0,24	0,21	0,69
	5	0,70	0,89	91	0,35	0,34	1,04	1,00	88	0,40	0,30	1,09
	2,5	0,40	0,75	90	0,44	0,51	1,39	0,96	67	0,44	0,56	1,46
	1,25	0,10	0,73	68	0,41	0,68	1,50	0,95	42	0,38	0,85	1,61
200 μ L	25	1,40	1,61	100	0,35	0,21	0,91	1,81	100	0,18	0,41	0,78

Analitik Duyarlılık - HBV Genotiplerinde LoD ve LLoQ

LoD öncelikle Genotip A (4. WHO Uluslararası Standardı) için belirlenmiş ve ardından, diğer 7 genotipten her biri kullanılarak belirlenen LoD etrafında ilave testler gerçekleştirilmiştir. %95 CI ile LoD üst limitinin (~ 7 IU/mL) 2, 1 ve 0,5 katına karşılık gelen seviyelerden otuz altı (36) tekrar, 550 μ L numune hacmi iş akışı plazmanın kullanıldığı NeuMoDx HBV 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 $\leq 1,0$ olduğu en düşük seviyenin tekrar, genotipin LLoQ'su olduğu kabul edilmiştir. Genotipler arasında, NeuMoDx HBV Quant Assay'in plazma numuneleri için Saptama Limiti, 550 μ L numune hacmi iş akışı kullanılarak 6,2 IU/mL (0,79 \log_{10} IU/mL) ve LLoQ 7,6 IU/mL (0,88 \log_{10} IU/mL) olarak belirlenmiş olup *Tablo 4*'te gösterilmiştir.

Tablo 4. 550 μ L Numune Hacmi İş Akışı kullanılarak Plazmada Test Edilen HBV Genotipleri

GENOTİP	LoD [IU/mL]	LLoQ [IU/mL]
Genotip A	5,2	5,2
Genotip B	6,2	6,2
Genotip C	3,5	6,2
Genotip D	5,2	5,7
Genotip E	3,5	3,5
Genotip F	5,1	6,2
Genotip G	3,5	3,5
Genotip H	5,2	7,6

Bu çalışmaların sonuçlarına dayalı olarak NeuMoDx, **200 μ L numune hacmi iş akışı** kullanılarak **plazma ve serum** içinde NeuMoDx HBV Quant Assay için **LoD ve LLoQ için 25 IU/mL (1,4 \log_{10} IU/mL)** öne sürmektedir.

NeuMoDx, **550 μ L numune hacmi iş akışı** kullanılarak **plazma ve serum** içinde NeuMoDx HBV Quant Assay için **LoD ve LLoQ için 8,0 IU/mL (0,9 \log_{10} IU/mL)** öne sürmektedir.

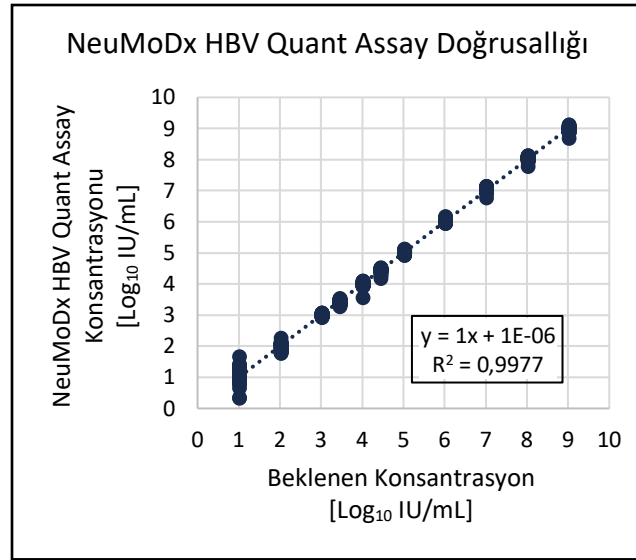
Analitik Duyarlılık – Doğrusallık ve Üst Kantitasyon Limitinin (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) Belirlenmesi

NeuMoDx HBV Quant Assay'in Doğrusallığı ve Üst Kantifikasyon Limiti (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) plazmada 4. WHO Uluslararası Standardına göre belirlenmiş izlenebilirlik ile, yüksek pozitif HBV Klinik Örneği (Access Biologicals, Vista, CA) ile bir dilüsyon serisi hazırlanarak belirlenmiştir. 9,02-1,02 \log_{10} IU/mL konsantrasyon aralığını kapsayacak bir test paneli oluşturmak üzere, havuzda birleştirilmiş HBV negatif plazma içinde 11 üyeli bir panel hazırlanmıştır. Test Paneli, 2 NeuMoDx System'da ve 3 kritik reaktif lotunda her bir seviyede 6 tekrar ile işlenmiştir. NeuMoDx HBV Quant Assay, 8 \log_{10} doğrusal aralığı boyunca (kritik tıbbi karar noktaları dahil), $\pm 0,22 \log_{10}$ IU/mL sapma ile HBV miktarını belirleme kabiliyetini ortaya koymuştur. 2. ve 3. derece regresyon uyumları kullanılarak belirli bir avantaj sağlanmamıştır. Bu çalışmanın verileri kullanılarak ULoQ değeri, 9,02 \log_{10} IU/mL olarak belirlenmiştir [*Tablo 5* ve *Şekil 3*].

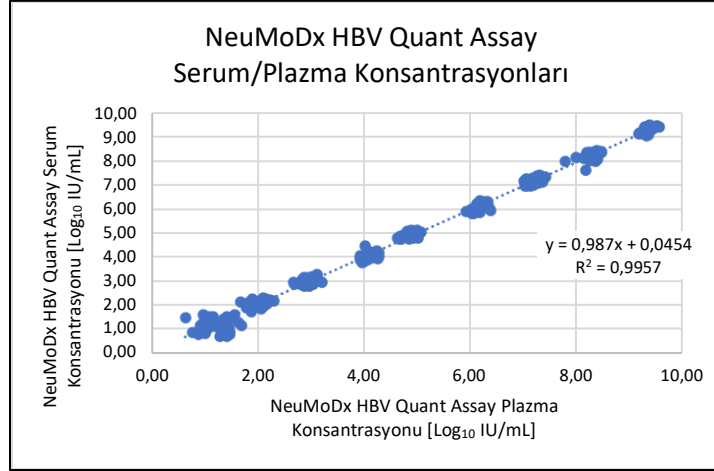
Tablo 5: NeuMoDx HBV Quant Assay'in Doğrusallığı (Genotip A ile değerlendirilmiştir)

Hedef Kons. (IU/mL)	Hedef Kons. (log ₁₀ IU/mL)	Ortalama Kons. (log ₁₀ IU/mL)	Standart Sapma	Yanlılık	Tahmin Edilen Doğrusal Uyum	Doğrusal Olmayan Uyumdan Sapma
1,05E+09	9,02	8,99	0,08	0,06	9,02	-0,04
1,05E+08	8,02	8,05	0,07	0,05	8,02	0,03
1,05E+07	7,02	7,05	0,07	0,06	7,02	0,04
1,05E+06*	6,02	6,05	0,05	0,05	6,02	0,03
1,05E+05	5,02	5,04	0,05	0,04	5,02	0,00
2,82E+04*	4,45	4,43	0,07	0,05	4,45	-0,01
1,05E+04	4,02	3,99	0,09	0,05	4,02	-0,02
2,82E+03*	3,45	3,41	0,07	0,06	3,45	-0,03
1,05E+03	3,02	3,00	0,04	0,04	3,02	-0,03
1,05E+02	2,02	1,99	0,11	0,09	2,02	-0,01
1,05E+01	1,02	1,09	0,29	0,23	1,02	0,06

*Yakın Tıbbi Karar Noktaları


Şekil 3: NeuMoDx HBV Quant Assay'in Plazmada doğrusal aralığı

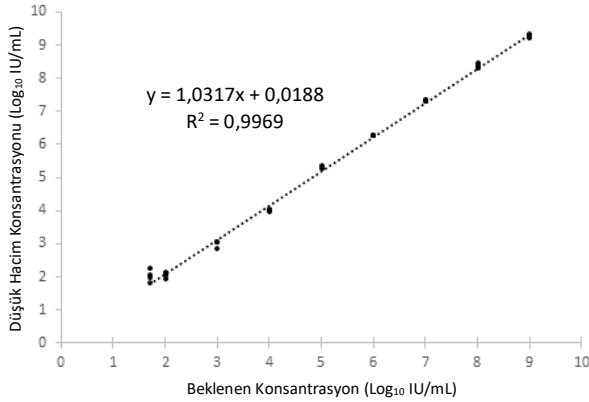
Daha sonra, matriks eşdeğerliğini göstermek için bir çalışma gerçekleştirilmiş ve analiz, MS Excel regresyon aracı ve Passing-Bablok dahil olmak üzere iki farklı regresyon uyumu modeli kullanılarak plazma ve serumda hazırlanan örneklerle ilişkin NeuMoDx HBV kantitatif sonuçlarını karşılaştırmıştır. Sonuçlar, 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 0,270 p değeri (Passing-Bablok) ile temsil edilen güçlü bir korelasyon göstermiştir. Plazma matriksi için NeuMoDx System tarafından raporlanan HBV Quant Assay konsantrasyonları, karşılık gelen serum örnekleriyle karşılaştırmalı olarak *Şekil 4*'te sunulmaktadır.



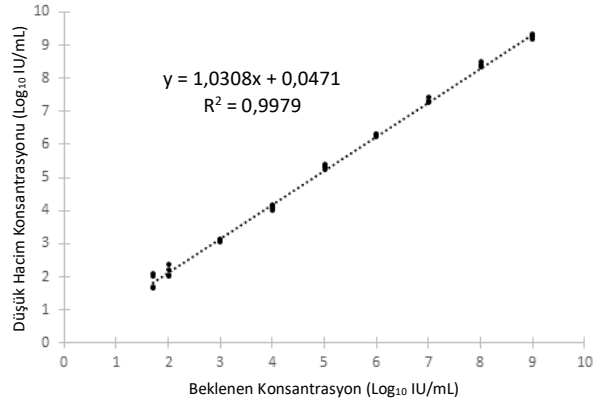
Şekil 4: NeuMoDx HBV Quant Assay'in Matrisler arasındaki doğrusal aralığı

Ardından Doğrusallık ve ULOQ, 9,31-1,71 log₁₀ IU/mL aralığında 200 µL numune hacmi iş akışı için doğrulanmıştır. 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 HBV Quant Assay'in doğrusal aralığı boyunca doğru HBV kantitasyonu yapıldığını ortaya koymaktadır.

A Plazma Örnekleri için Basit Doğrusal Regresyon



B Serum Örnekleri için Basit Doğrusal Regresyon



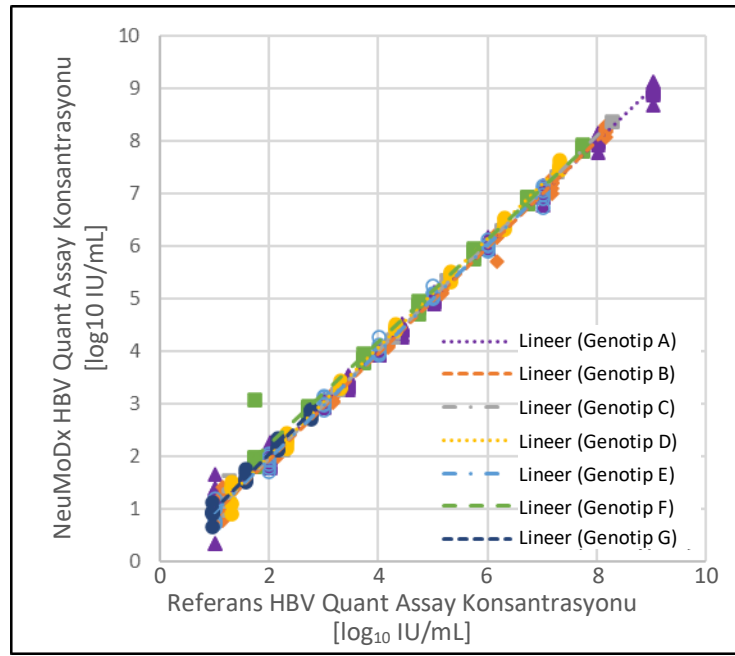
Şekil 5: a) Plazmada ve b) Serumda 200 µL İş Akışı için Beklenen ve NeuMoDx Tarafından Raporlanan Konsantrasyonlar Arasındaki Doğrusal İlişki

Genotipler Arası Doğrusallık

Plazma numunesindeki NeuMoDx HBV Quant Assay'in HBV genotipleri bakımından doğrusallığı, havuzda birleştirilmiş HBV negatif plazmada hazırlanan her bir HBV genotipi için en az dört (4) farklı konsantrasyonda test yapılarak karakterize edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan HBV hedefinin test edilen seviyeleri, kaynak numunenin konsantrasyonuna bağlı olmuş ve dolayısıyla genotipler arasında farklılık göstermiştir. Çalışma, her bir seviyede 6 tekrar kullanılarak her bir genotip ile gerçekleştirilmiştir. HBV genotipleri arasındaki doğrusallık Tablo 6 ve Şekil 6'da sunulmaktadır.

Tablo 6: NeuMoDx HBV Quant Assay'in Genotipler Arası Doğrusallığı

Genotip	Doğrusallık Denklemi y = NeuMoDx HBV Quant Assay Kantitasyonu x = Beklenen Kantitasyon	R ²
A	$y = 1x + 1E-06$	0,9977
B	$y = 1,0129x - 0,0964$	0,9975
C	$y = 1,0250x - 0,0898$	0,998
D	$y = 1,0379x - 0,0896$	0,9975
E	$y = 1,0182x - 0,096$	0,9956
F	$y = 0,9736x + 0,276$	0,9906
G	$y = 1,0547x - 0,0835$	0,9813


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

Analitik Özgüllük ve Çapraz Reaktivite

Analitik özgüllük, kan/plazma numunelerinde sıklıkla bulunan 32 organizmanın yanı sıra HBV'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 7*'de gösterilmektedir. Test edilen hiçbir organizmada hiçbir çapraz reaktivite gözlemlenmemiş ve bu da, NeuMoDx HBV Quant Assay'in %100 analitik özgüllüğünü doğrulamıştır.

Tablo 7: Analitik Özgüllüğü Göstermek İçin Kullanılan Patojenler – Çapraz Reaktivite

Adenovirüs 2	Dang V1	Hepatit A	HPV 16	İlheus (ILHV)	Sarı Humma
Adenovirüs 5	Dang V2	Hepatit C	HPV 18	İnfluenza A	Zika Virüsü
Banzi Virüsü	Dang V3	İnsan Herpesvirüsü 6a	HSV1	Parvo B19	
BK Virüsü	Dang V4	İnsan Herpesvirüsü 8	HSV 2	Rubella	
Sitomegalovirüs	Epstein Barr Virüsü	HIV 1	HTLV 1	St. Louis Ensefaliti	
VZV	Vaccinia Virüsü	HIV 2	HTLV 2	Batı Nil Virüsü	

Olumsuz Etkileyen Maddeler - Kommensal Organizmalar

NeuMoDx HBV Quant Assay analitik özgüllük test edilirken hazırlanan organizma havuzları kullanılarak, hedef dışı organizmaların varlığında olumsuz etkilenme bakımından değerlendirilmiştir. Organizmalar ayrı ayrı test edilmiş veya 4-6 organizmalık gruplar halinde, tanınmış HBV negatif plazması içinde havuzda birleştirilmiş ve bunlara, 3,7 log₁₀ IU/mL konsantrasyonda HBV kontrolleri eklenmiştir. Olumsuz etkileyen ajan içermeyen kontrol numunelerinden minimum kantitasyon sapması ile de gösterildiği şekilde, bu kommensal organizmaların varlığında önemli ölçüde bir olumsuz etkileşim gözlemlenmemiştir [Tablo 8].

Tablo 8: Etkileşim Testi – Kommensal Organizmalar

Hedef Dışı Organizmalar	Ortalama kons. (log ₁₀ IU/mL)	Yanılık (log ₁₀ IU/mL)
Grup 1 [BK Virüsü, Sitomegalovirüs, Epstein Barr Virüsü, İnsan Herpesvirüsü 6a, İnsan herpesvirüsü 8]	3,51	0,10
Grup 2 [Adenovirüs 2, Adenovirüs 5, Dang V2, Dang V3, Dang V4]	3,38	0,22
Grup 3 [Parvo B19, HTLV 1, HTLV 2, İlheus (ILHV), Sarı Humma, Zika Virüsü]	3,62	0,06
Grup 4 [HPV 16, HPV 18, HSV 1, HSV 2, Dang V1]	3,57	0,04
Grup 5 [St. Louis Ensefaliti, VZV, Vaccinia Virüsü, Batı Nil Virüsü]	3,57	0,03
HAV	3,58	0,05
Banzi virüsü	3,41	0,19
HIV-1	3,47	0,15
HIV-2	3,56	0,05
Rubella	3,16	0,44
İnfluenza A	3,60	0,03
HCV	3,58	0,04

Olumsuz Etkileyen Maddeler – Endojen ve Eksojen Maddeler

NeuMoDx HBV Quant Test Strip'in performansı, HBV 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. Aşağıdaki *Tablo 10'*da listelenen endojen ve eksojen maddelerden her biri, $3,7 \log_{10}$ IU/mL HBV eklenen taranmış HBV negatif insan plazmasına eklenmiş ve veriler olumsuz etkileşim bakımından gözlemlenmiştir. Bunlara ek olarak, Hepatit B enfeksiyonu ile ilişkilendirilen yaygın hastalık durumu plazması da potansiyel olumsuz etkileşim bakımından test edilmiştir.

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

Havuz	İlaç	Sınıflandırma
1	Zidovudin (ZDV)	Ters Transkriptaz İnhibitörü
	Sakinavir	HIV Proteaz İnhibitörü
	Ritonavir	HIV Proteaz İnhibitörü
	Klaritromisin	Antibiyotik
	İnterferon alfa-2a	Bağışıklık Düzenleyici
	İnterferon alfa-2b	Bağışıklık Düzenleyici
2	Abakavir sülfat	Ters Transkriptaz İnhibitörü
	Amprenavir	Proteaz İnhibitörü
	Ribavirin	Bağışıklık Düzenleyici
	Entekavir	HBV Antiviral
	Fluoksetin	SSRI Antidepresan
	Valasiklovir hidroklorür	Antiviral
3	Tenofovir disoproksil	HBV/HIV Antiviral
	Lamivudin	HBV/HIV Antiviral
	Gansiklovir	CMV Antiviral
	Valgansiklovir	CMV Antiviral
	Nevirapin	Ters Transkriptaz İnhibitörü
4	Efavirenz	Ters Transkriptaz İnhibitörü
	Lopinavir	Proteaz İnhibitörü
	Enfuvirtid	HIV Füzyon İnhibitörü
	Siprofloksasin	Antibiyotik
	Paroksetin	SSRI Antidepresan
5	Adefovir (dipivoksil)	Antiviral
	Azitromisin	Antibiyotik
	İndinavir sülfat	HIV Proteaz İnhibitörü
	Sertralin	SSRI Antidepresan

Tablo 10: Etkileşim Testi – Eksojen ve Endojen Ajanlar

Endojen	Ortalama Kons. (log ₁₀ IU/mL)	Yanlılık (log ₁₀ IU/mL)
Hemoglobin	3,50	0,20
Trigliseritler	3,51	0,09
Bilirubin	3,56	0,13
Albümin	3,51	0,17
Eksojen (ilaçlar)	Ortalama Kons. (log ₁₀ IU/mL)	Yanlılık (log ₁₀ IU/mL)
Havuz 1: Zidovudin (ZDV), Sakinavir, Ritonavir, Klaritromisin, İnterferon alfa-2a, İnterferon alfa-2b	3,58	0,08
Havuz 2: Abakavir sülfat, Amprenavir, Ribavirin, Entekavir, Fluoksetin, Valasiklovir Hidroklorür	3,56	0,04
Havuz 3: Tenofovir disoproksil, Lamivudin, Gansiklovir, Valgansiklovir, Nevirapin	3,59	0,06
Havuz 4: Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtid, Siprofloksasin, Paroksetin,	3,60	0,07
Havuz 5: Adefovir (dipivoksil), Azitromisin, İndinavir sülfat, Sertralın	3,56	0,19
Hastalık Durumu	Ortalama Kons. (log ₁₀ IU/mL)	Yanlılık (log ₁₀ IU/mL)
Antinükleer Antikor (ANA)	3,61	0,10
Sistemik Lupus Eritematozus (SLE)	3,63	0,10
Romatoid Artrit (RA)	3,57	0,09
HCV Antikorları	3,58	0,07
HBV Antikorları	3,64	0,11
Alkolik siroz	3,68	0,15
Romatoid Faktör (RF)	3,63	0,10
Alkole Bağlı Olmayan Karaciğer Yağlanması (NASH)	3,49	0,06

Laboratuvar İçi Hassasiyet

NeuMoDx HBV Quant Test Strip'in hassasiyeti, 12 gün boyunca üç NeuMoDx System kullanılarak, A ve C genotiplerini kapsayan 8 üyeli bir HBV numunesi paneli test edilerek belirlenmiştir. Çalışma içi, gün içi ve Sistem içi hassasiyetler karakterize edilmiş ve genel standart sapmanın $\leq 0,22$ log₁₀ IU/mL olduğu belirlenmiştir. Operatör, NeuMoDx System kullanılarak örnek işlemede önemli bir role sahip olmadığı için operatörler arası hassasiyet karakterize edilmemiştir. Laboratuvar İçi Hassasiyet sonuçları *Tablo 11*'de sunulmaktadır.

Tablo 11: Laboratuvar İçi Hassasiyet Çalışması Sonuçları

PANEL ÜYESİ	HEDEF KONS. [Log ₁₀ IU/mL]	ORTALAMA KONS. [Log ₁₀ IU/mL]	N	Yanlılık	Çalışma İçi SD	Gün İçi SD	Sistem İçi SD	Genel SD
Genotip A	7,75	7,89	36	0,14	0,06	0,07	0,07	0,07
	5,75	5,83	36	0,11	0,07	0,10	0,10	0,10
	3,75	3,70	36	0,11	0,11	0,13	0,15	0,15
	1,75	1,54	36	0,23	0,16	0,22	0,22	0,22
Genotip C	6,27	6,23	36	0,10	0,08	0,09	0,10	0,10
	4,27	4,18	36	0,08	0,08	0,10	0,10	0,10
	3,27	3,14	36	0,09	0,08	0,12	0,12	0,12
	2,27	2,08	36	0,12	0,12	0,15	0,16	0,16

Lotlar Arası Yeniden Üretilirlik

NeuMoDx HBV Quant Test Strip'in lotlar arası yeniden üretilirliği, temel reaktifler olan NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plate ve NeuMoDx HBV Quant Test Strip'in üç farklı lotu kullanılarak belirlenmiştir. Performansı değerlendirmek için A ve C HBV genotiplerinin 8 üyeli bir paneli kullanılmıştır. Test, 6 gün boyunca üç NeuMoDx System'da üç reaktif lotu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Lot içi ve lotlar arası farklılıklar analiz edilmiştir. Maksimum genel yanlışlık 0,12 log₁₀ IU/mL, maksimum genel standart sapma (standard deviation, SD) ise 0,24 log₁₀ IU/mL olmuştur. Tüm panel üyelerinin kantitasyonu tolerans spesifikasyonu dahilinde olduğu için lotlar arası performansta önemli bir farklılık bulunmamıştır. Lotlar Arası Yeniden Üretilirlik sonuçları, aşağıda *Tablo 12*'de sunulmaktadır.

Tablo 12: Lotlar Arası Yeniden Üretilirlik Çalışması Sonuçları

PANEL ÜYESİ	HEDEF KONS. [log ₁₀ IU/mL]	ORTALAMA KONS. [log ₁₀ IU/mL]	N	Yanlışlık	Lot İçi SD	LOT'lar Arası SD	Genel SD
Genotip A	8,02	7,99	36	0,03	0,15	0,09	0,17
	6,02	5,96	36	0,06	0,17	0,06	0,18
	4,02	3,90	36	0,12	0,14	0,09	0,17
	2,02	1,92	36	0,10	0,21	0,12	0,24
Genotip C	6,27	6,32	36	0,05	0,06	0,08	0,10
	4,27	4,31	36	0,04	0,22	0,09	0,24
	3,27	3,30	36	0,03	0,20	0,07	0,21
	2,27	2,32	36	0,05	0,13	0,13	0,18

Kontrolün Etkinliği

NeuMoDx HBV Quant Assay'e dahil edilen SPC1'in, NeuMoDx HBV Quant Assay'in performansını etkileyen işleme adımı hatalarını veya inhibisyonu raporlama bakımından etkinliği, iki yaygın HBV genotipi (A ve C) kullanılarak değerlendirilmiştir. Test edilen koşullar, örnek işleme sırasında potansiyel olarak gerçekleşebilecek ve NeuMoDx System'ın performansını sensörler tarafından *saptanamayabilecek* kritik işleme adımı hatalarını temsil eder niteliktedir. SPC1'in etkinliği, bu tür hata koşullarını simüle ederek değerlendirilmiştir. HBV saptaması/kantitasyonu üzerinde olumsuz etkisi olan işleme etkisizlikleri, SPC1 hedefinin performansı ile yansıtılmıştır (İnhibitör Varlığı ve Wash Adımının Yokluğu). SPC1 amplifikasyonunun etkilenmediği koşullar altında, HBV Hedefinin de, kontrol örneklerinin raporlanan kantitasyonu olan 0,2 log₁₀ IU/mL değeri dahilinde amplifiye edildiği gösterilmiştir.

Tablo 13: Örnek İşleme Kontrolünün Etkinliği

Test Edilen İşleme Adımı Hatası	Örnek İşleme Kontrolü Amplifikasyon Durumu	HBV Hedefi Amplifikasyon Durumu	Tayın 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 0,2 Log ₁₀ IU/mL dahilinde Kantitasyon ile Positive (Pozitif)

Çapraz kontaminasyon

NeuMoDx HBV Quant Assay'in çapraz kontaminasyon oranı, dönüşümlü olarak yüksek pozitif ve negatif numuneler bulunduran üç set HBV numunesi test edilerek belirlenmiştir. Bu işlem toplamda, normal, HBV negatif insan EDTA plazma numunesinin 144 tekrarı ve 8,0 log₁₀ IU/mL'de yüksek titreli bir HBV numunesinin 144 tekrarını içermektedir. Negatif numunenin 144 tekrarının tümü negatif olmuştur. Bu da, NeuMoDx System'da örnek işleme sırasında çapraz kontaminasyon gerçekleşmediğini göstermektedir.

Numune Matrisi Eşdeğerliği

Test, eşdeğer sonuçları göstermek üzere, hem etilendiamintetraasetik asit (EDTA) hem de asit sitrat dekstroz (acid citrate dextrose, ACD) içeren toplama tüplerinde toplanan plazma numuneleri ile gerçekleştirilmiştir. Buna ek olarak, taze ve dondurulmuş numuneler arasındaki eşdeğerliği göstermek için testler yapılmıştır. BioIVT'den temin edilen kırk ayrı donör numunesi, hem EDTA hem de ACD içeren toplama tüplerinde toplanmıştır. Bu taze örnekler dört seviyede HBV genotipi A veya C eklenmiş ve örnekler eşdeğerlik bakımından test edilmiştir. Daha sonra örnekler minimum 24 saat boyunca dondurulmuş, çözülürmüş ve yeniden test edilmiştir. Regresyon analizi ile, taze ve dondurulmuş numuneler ile EDTA ve ACD numuneleri arasında mükemmel eşdeğerlik bulunduğu ortaya konmuştur.

Tablo 14: Numune Eşdeğerliği Sonuçlarının Regresyon Analizi

Parametre [Kabul Kriterleri]	Taze/Dondurulmuş	ACD/K2EDTA
Eğim [0,9-1,1]	1,002	0,996
Kesişim [<0,5]	-0,031	0,018
Belirleme katsayısı [$R^2 > 0,95$]	0,995	0,993

Birincil ve ikincil toplama tüplerinde numuneler kullanılarak, NeuMoDx HBV Quant Assay performansının eşdeğerliğini sergilemek üzere ek testler yapılmıştır. HBV hedefi (AccuPlex™ HBV Control) eklenmiş HBV negatif donör numunelerinden oluşan paneller öncelikle birincil numune tüplerinden işlenmiştir. Her bir numuneden kalan plazma ikincil bir numune tüpüne alıktotlanmış ve yeniden işlenmiştir. Raporlanan sonuçlarda, birincil ve ikincil numune tüpü işleme arasında anlamlı hiçbir fark bulunamamıştır.

Tayinin doğrusal aralığını kapsayan konsantrasyonlarda HBV eklenmiş ayrı ve taze donör serum numunelerinden oluşan bir panel kullanılarak, NeuMoDx HBV Quant Assay performansının taze ve dondurulmuş serum numunelerindeki eşdeğerliği de değerlendirilmiştir. Taze numuneler işlendikten sonra serum örnekleri en az 24 saat boyunca -20 °C'de dondurulmuştur. Dondurulmuş örnekler daha sonra çözülürmüş ve yeniden test edilmiştir. Ardından, özdeş taze ve dondurulmuş örnekler arasındaki doğrusal eşdeğerlik, Passing-Bablok ve Deming Regresyon Analizi kullanılarak değerlendirilmiştir. 0,329 olan (0,05'ten büyük) Passing-Bablok Regresyon p-değeri ve 0,989 olan Deming Regresyon Korelasyon Katsayısı, taze işlenen örnekler ve önceden dondurulmuş örnekler arasında mükemmel bir eşdeğerlik bulunduğunu göstermektedir. Taze ve dondurulmuş durum arasındaki yanlılık, Bland-Altman tarafından son derece göz ardı edilebilir bir değer olan -0,002 log₁₀ IU/mL olarak belirlenmiş ve bu da, taze/dondurulmuş numune işleme eşdeğerliğine daha fazla kanıt oluşturmuştur. Son olarak, Sistem tarafından raporlanan HBV konsantrasyonları ile hem taze hem de dondurulmuş örnekler için beklenen konsantrasyonlar arasındaki korelasyon, basit doğrusal regresyon tarafından sırasıyla 0,991 ve 0,985 R² değerleri raporlanarak belirlenmiştir.

Numune Stabilitesi

HBV negatif EDTA plazma ve serum numunelerine 3,7 log₁₀ IU/mL konsantrasyonda HBV eklenmiş ve numuneler, NeuMoDx System üzerinde muhafaza edilirken farklı zaman noktalarında test edilmiştir: hemen (zaman 0), 4 saat sonra, 8 saat sonra ve 24 saat sonra. Zaman noktaları arasında belirgin bir performans farkı gözlemlenmemiştir. Bu da, bir numunenin, tayin performansı etkilenmeden NeuMoDx System'da 24 saate kadar yüklü kalabileceğini göstermektedir.

Benzer testler, testten önce 7 güne kadar bir laboratuvar buzdolabında saklanan (2 ile 8°C arasında) plazma ve serum numuneleri ile de gerçekleştirilmiştir ve performans bakımından önemli bir farklılık gözlemlenmemiştir.

Son olarak, işlenmeden önce 6 aya kadar (plazma) ve 4 aya kadar (serum) ≤ -20°C'de saklanan numuneler test edilmiş ve taze numunelere kıyasla önemli bir farklılık görülmemiştir. Dondurma/çözme döngüsü tekrarlanmış ve yine, 2 dondurma/çözme döngüsünden (plazma) veya 4 dondurma/çözme döngüsünden (serum) sonra performansta herhangi bir değişiklik görülmemiştir.

Yöntem Korelasyonu

Plazma Numuneleri

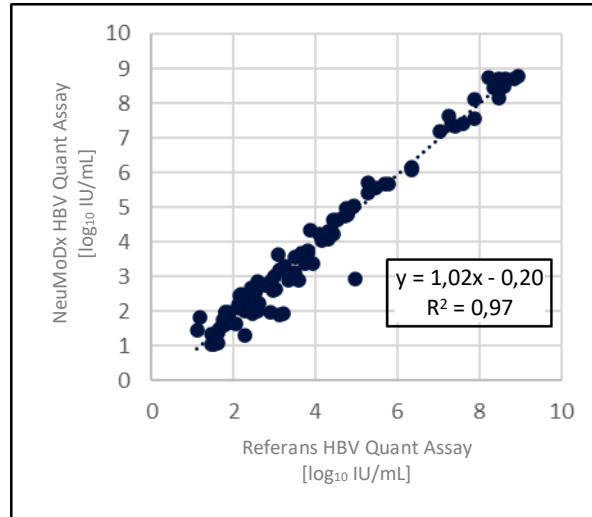
NeuMoDx HBV Quant Assay'in kalitatif ve kantitatif performansı, HBV ile enfekte olan hastalardan alınan seyreltilmemiş klinik plazma numuneleri test edilerek, FDA/CE onaylı karşılaştırma tayinlerine göre değerlendirilmiştir. Test, üç bağımsız referanslı laboratuvarlardan elde edilen klinik numuneler kullanılarak, tek bir kör çalışma ile NeuMoDx'te kurum içi olarak gerçekleştirilmiştir. Toplam 308 HBV pozitif ve negatif örneğin sonuçları, NeuMoDx HBV Quant Assay'in klinik duyarlılığını ve özgüllüğünü hesaplamak üzere kalitatif analizde derlenmiştir. Kalitatif analiz, LLoQ altındaki pozitif örnekler dahil edilerek ve hariç tutularak tamamlanmıştır çünkü bu tür düşük örneklerin sınıflandırması, testler arasında farklılık gösterebilir. Her iki testte kullanılan doğrusal aralık dahilinde bulunan toplam 97 HBV pozitif klinik numune, kantitatif performansı tanımlamak için doğrusal regresyonu oluşturmak üzere kullanılmıştır. NeuMoDx HBV Quant Test Strip, mükemmel duyarlılık ve özgüllük sağlamanın yanı sıra, karşılaştırma testi ile mükemmel kantitatif korelasyon sergilemiştir. Bu sonuçlara dayalı olarak, NeuMoDx HBV Quant Assay'in duyarlılığı %100 (CI %96,4-%100) ve özgüllüğü %95,6 (CI %91,9-%97,7) olarak hesaplanmıştır. Bu %95 Güven Aralıkları, EP12-A2, Kalitatif Test Performansının Değerlendirilmesi için Kullanıcı Protokolü, Onaylanmış Kılavuz, Vol 28, No 3⁶ uyarınca %95 puan güven aralığı yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır.

Tablo 15: NeuMoDx 288 Molecular System'da NeuMoDx HBV Quant Assay'in Plazma Numuneleri İçin Klinik Duyarlılık ve Özgüllük Ölçümleri

	Referans Tayin (POS)	Referans Tayin (NEG)	TOPLAM
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	103	9	112
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
TOPLAM	103	205	308
DUYARLILIK = %100 %95 CI (%96,4-%100) ÖZGÜLLÜK = %95,6 %95 CI (%91,9-%97,7)			

Tablo 16: <LoQ Plazma Örnekleri Hariç Tutularak, NeuMoDx 288 Molecular System'da NeuMoDx HBV Quant Assay'in Klinik Duyarlılık ve Özgüllük Ölçümleri

	Referans Tayin (POS)	Referans Tayin (NEG)	TOPLAM
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	99	5	104
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
TOPLAM	99	201	300
DUYARLILIK = %100 %95 CI (%96,3-%100) ÖZGÜLLÜK = %97,5 %95 CI (%94,3-%98,9)			


Şekil 7: NeuMoDx HBV Quant Assay Kullanılarak Kantitatif Yöntem Korelasyon Çalışması

NeuMoDx 96 Molecular System üzerinde, 159 kalıntı klinik plazma numunesi kullanılarak ilave testler gerçekleştirilmiştir. NeuMoDx 288'de daha önce gerçekleştirilen testlerde olduğu gibi, NeuMoDx 96'dan elde edilen sonuçlar, bakım testi standardı için kaynak laboratuvarlar tarafından kullanılan FDA onaylı ve/veya CE işaretli tayanlar tarafından raporlanan sonuçlar ile karşılaştırılmıştır. Klinik Duyarlılık ve Özgüllük ile doğruluk tablosunun bulunduğu sonuçlar, %95 CI ile *Tablo 17*'de sunulmaktadır.

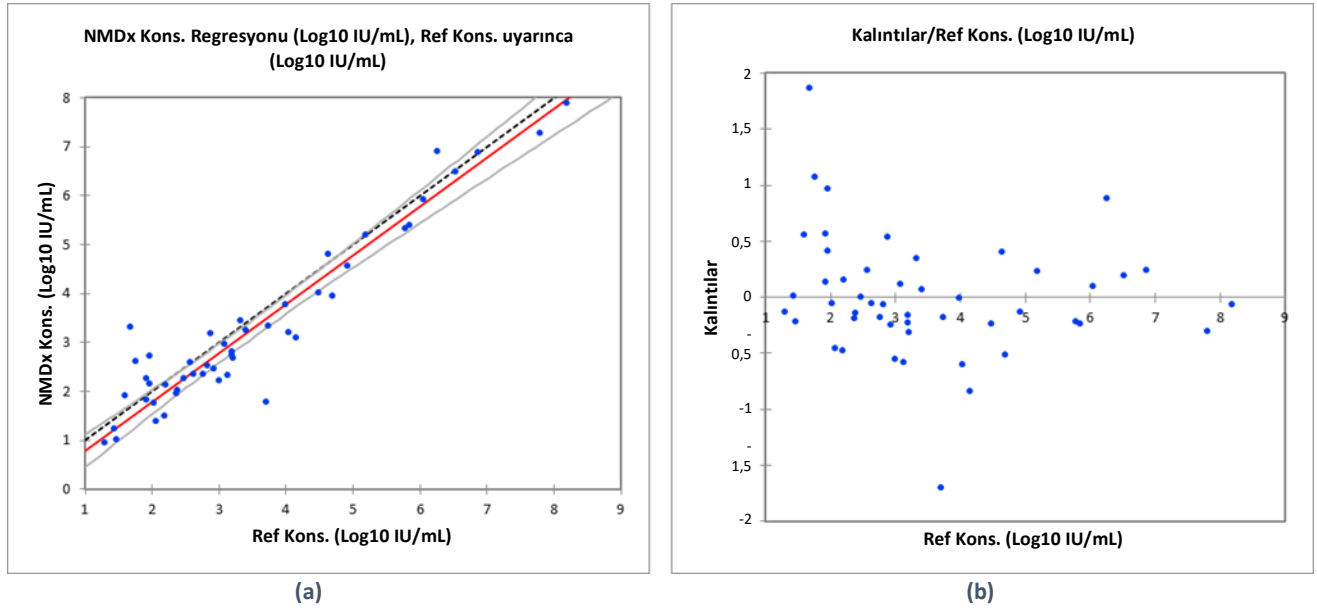
Tablo 17: Klinik Performans Özeti – NeuMoDx 96 Molecular System üzerinde NeuMoDx HBV Quant Assay

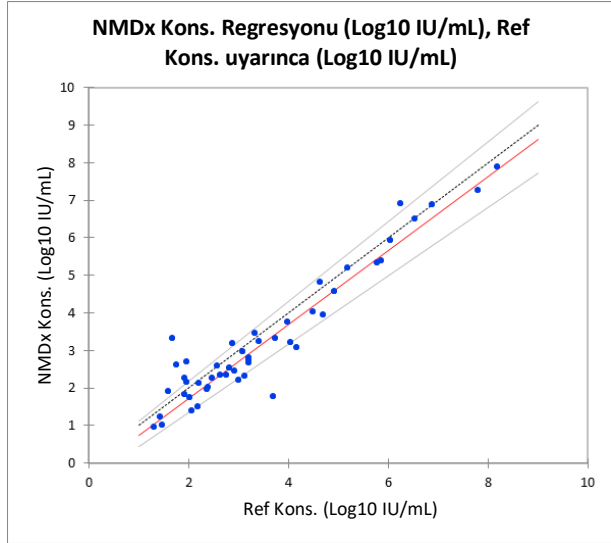
	Referans Tayin (POS)	Referans Tayin (NEG)	TOPLAM
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	60	2	62
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	1	95	96
TOPLAM	61	97	158
DUYARLILIK = %98 %95 CI (%90-%100) ÖZGÜLLÜK = %98 %95 CI (%92-%100)			

Serum Numuneleri

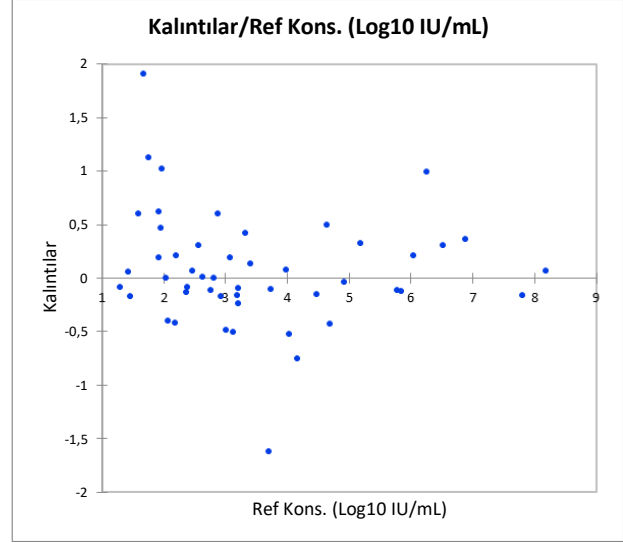
NeuMoDx HBV Quant Assay'in kantitatif performansı, HBV ile enfekte olan hastalardan alınan, kimlik bilgilerinden ayrılmış, kalıntı HBV pozitif serum numuneleri test edilerek, FDA/CE onaylı karşılaştırma tayinlerine göre değerlendirilmiştir. HBV pozitif olduğu klinik olarak bilinen ve iki bağımsız referans laboratuvarından alınan toplam 66 adet serum numunesi, NeuMoDx bünyesinde kurum içi olarak, NeuMoDx HBV Quant Assay kullanılarak test edilmiştir. Pozitif olduğu bilinen test edilmiş serum numunelerinden 58'i pozitif sonuç olarak tanımlanmış ve bu sonuçlardan dokuzu (9), NeuMoDx HBV Quant Assay ve/veya referans testte LLoQ altında ve ULoQ üzerinde olmuştur. Her iki testte kullanılan doğrusal aralık dahilinde bulunan toplam 49 HBV pozitif klinik numune, kantitatif performansı tanımlamak için regresyon analizlerini oluşturmak üzere kullanılmıştır.

Deming ve Passing-Bablok regresyon analizi kullanılarak test edilen tüm örnekler için NeuMoDx HBV Quant Assay konsantrasyonları ile referans test konsantrasyon değerleri arasındaki korelasyonu temsil etmek üzere eşdeğerlik ve kalıntı grafikleri oluşturulmuş ve Şekil 8 ve 9'da sunulmuştur. Deming Regresyon uyumunun kalitesi, %95 CI (0,93, 1,07) ile 0,99 değerinde eğim katsayısı ve %95 CI (-0,56, 0,12) ile -0,22 değerinde bir kesişim (yanlılık) ile gösterilmiştir. Bu da, NeuMoDx HBV 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 (0,91, 1,06) ile 0,99 değerinde eğim katsayısı ve %95 CI (-0,48, 0,06) ile -0,25 değerinde bir kesişim (yanlılık) ile gösterilmiştir. Bu da, NeuMoDx HBV Quant Assay ile Referans testlerde elde edilen konsantrasyon sonuçlarının, *Tablo 18'*de gösterildiği gibi, kabul edilebilir yanlılık değeriyle birbiriyle yüksek ölçüde korele olduğunu göstermiştir.


Şekil 8: Eşdeğerlik (a) ve Kalıntı (b) Grafikleri – NeuMoDx HBV Test sonuçları/Referans testlerin kümülatif analizi – Deming Analizi.



(a)



(b)

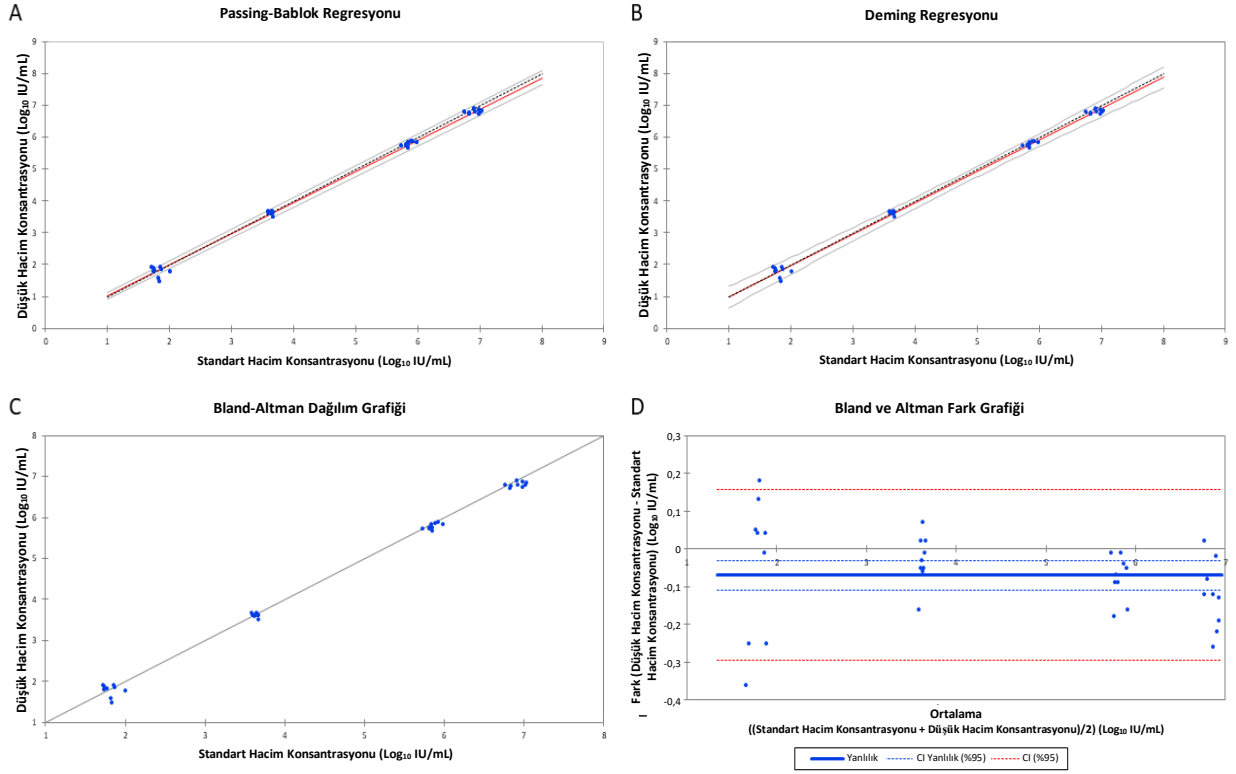
Şekil 9: Eşdeğerlik (a) ve Kalıntı (b) Grafikleri – NeuMoDx HBV Quant Assay sonuçları/Referans testlerin kümülatif analizi – Passing-Bablok Analizi.

Tablo 18. Serum Numuneleri İçin Deming ve Passing-Bablok Doğrusal Regresyon Analizinin Özeti

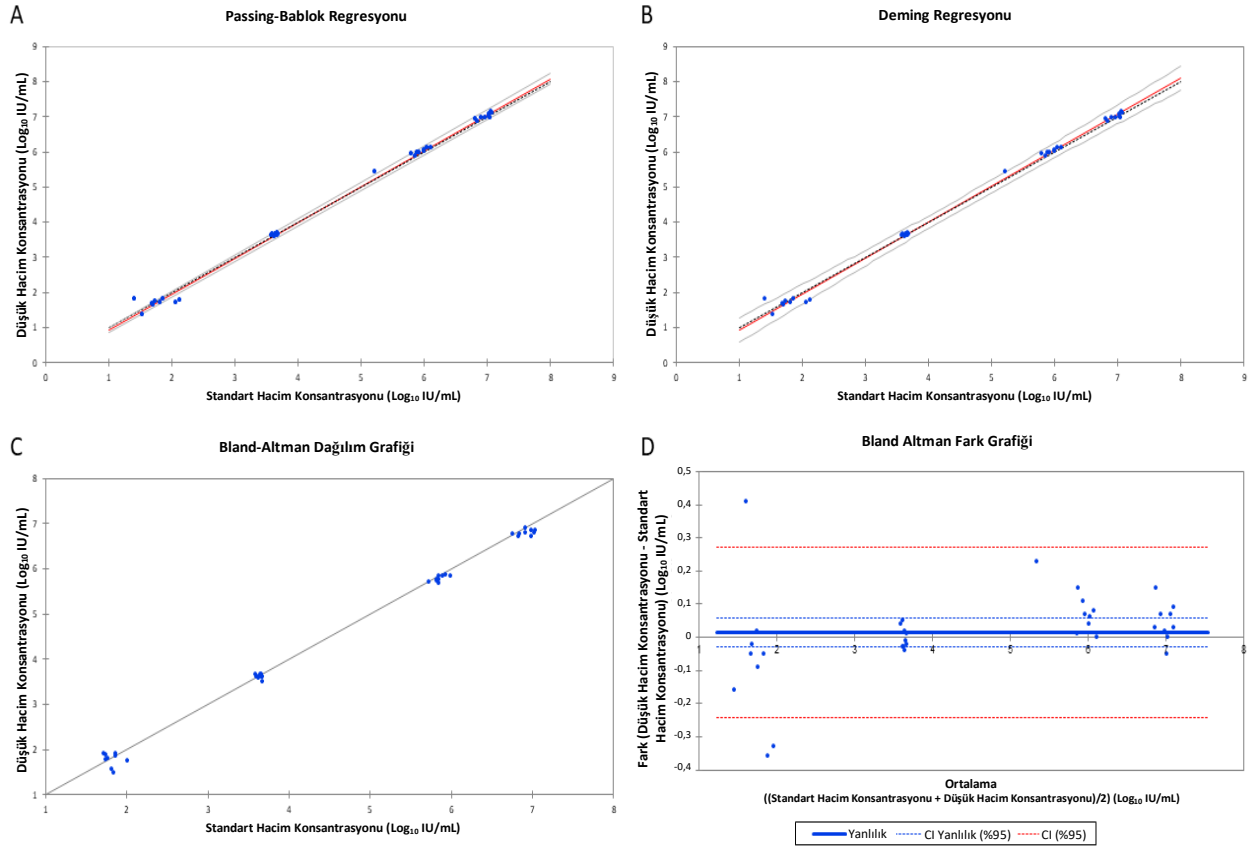
Deming Analizi			Passing-Bablok Analizi		
Kesişim	Eğim Katsayısı	R2	Kesişim	Eğim Katsayısı	p-değeri
-0,22 %95 CI (-0,56, 0,12)	0,99 %95 CI (0,93, 1,07)	0,95	-0,25 %95 CI (-0,48, 0,06)	0,99 %95 CI (0,91, 1,06)	0,89

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 HBV DNA'sına yönelik WHO 4. Uluslararası Standardına göre izlenebilir, dört bilinen seviyede HBV Kontrol materyali eklenmiş ayrı, HBV negatif plazma ve serum örneklerinden oluşan bir panel kullanılarak doğrulanmıştır. Bu ayrı plazma ve serum numuneleri, hem 550 µL hem de 200 µL numune hacmi iş akışları kullanılarak işlenmiş ve toplamda 288 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 0,985 ve 0,998 eğim değeri ve -0,001 ve 0,053 kesişim değeri, serumda ise sırasıyla 1,024 ve 1,018 eğim değeri ve 0,095 ve 0,070 kesişim değeri elde edilmiştir ve bu da, iki işleme hacmi arasında HBV 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 1,047 değerinde bir eğim ve 0,998 (plazma) ve 1,113 ile 0,992 (serum) değerinde bir korelasyon katsayısı elde edilmiştir. Bu da, NeuMoDx HBV Quant Assay için 200 µL numune hacmi iş akışı kullanımında mükemmel performans sergilendiğine dair daha fazla kanıt oluşturmaktadır. Bu çalışmaların sonuçları aşağıda Şekil 10 ve Şekil 11'de özetlenmektedir.



Şekil 10: Düşük Hacim İçin Raporlanan Konsantrasyonların Standart Numune Hacmi İçin Raporlanan Konsantrasyonlar ile Eşdeğerlik Grafiği Karşılaştırmaları. A) Passing-Bablok Regresyonu. B) Deming Regresyonu. C) Bland-Altman Dağılım Grafiği D) Bland-Altman Fark Grafiği – Plazma Numuneleri



Şekil 11: Düşük Hacim İçin Raporlanan Konsantrasyonların Standart Numune Hacmi İçin Raporlanan Konsantrasyonlar ile Eşdeğerlik Grafiği Karşılaştırmaları. A) Passing-Bablok Regresyonu. B) Deming Regresyonu. C) Bland-Altman Dağılım Grafiği D) Bland-Altman Fark Grafiği – Serum Numuneleri

REFERANSLAR

1. Mother-to-child transmission of hepatitis B virus in sub-Saharan Africa: time to act. Andersson, Monique I et al. The Lancet Global Health, Volume 3, Issue 7, e358 - e359
2. Schillie S, Vellozzi C, Reingold A, et al. Prevention of Hepatitis B Virus Infection in the United States: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. MMWR Recomm Rep 2018;67(No. RR-1):1–31. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.rr6701a1>.
3. World Health Organization. Hepatitis B: fact sheet. April 2017. <http://www.who.int> (last accessed 20 November 2017)
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. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

TİCARİ MARKALAR

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

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

SEMBOL ANAHTARI

R only Yalnızca reçete ile kullanılır



Üretici



In vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz



Avrupa Topluluğu yetkili temsilcisi



Katalog numarası



Parti kodu



Son kullanma tarihi



Sıcaklık limiti



Tekrar kullanmayın



<n> test için yeterli içerik



Kullanma talimatına bakın



Dikkat



Biyolojik riskler



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

CE 2797

Teknik destek/Vijilans raporlaması: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents