

REF 201300 NeuMoDx™ HBV Quant Test Strip

R only

FORSIKTIG: Bare til amerikansk eksport

IVD Til *in vitro*-diagnostikk med NeuMoDx 288 og NeuMoDx 96 Molecular Systems

 Oppdateringer finnes på: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Detaljerte anvisninger finnes i brukerhåndboken for NeuMoDx 288 Molecular System, art.nr. 40600108

Detaljerte anvisninger finnes i brukerhåndboken for NeuMoDx 96 Molecular System, art.nr. 40600317

TILTENKT BRUK

NeuMoDx HBV Quant Assay er en automatisert, *in vitro*-nukleinsyreamplifikasjonstest for kvantifisering av hepatitt B-virus (HBV)-DNA i humane plasma- og serumprøver for HBV-genotype A–H hos HBV-smittede personer. NeuMoDx HBV Quant Assay på NeuMoDx 288 Molecular System og NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)) omfatter automatisert DNA-ekstraksjon for å isolere målnukleinsyre fra prøven og sanntidspolymerasekjedereaksjon (qPCR) for å måle de svært konserverte sekvensene i hepatitt B-virusets genom.

NeuMoDx HBV Quant Assay er beregnet brukt som hjelp i håndteringen av pasienter med HBV-infeksjoner. Resultatene fra NeuMoDx HBV Quant Assay må tolkes i sammenheng med alle relevante kliniske og laboratoriemessige funn. NeuMoDx HBV Quant Assay er ikke beregnet brukt som en screeningstest for blod eller blodprodukter, eller som et diagnostisk verktøy for å diagnostisere den kliniske statusen til HBV-infeksjon.

SAMMENDRAG OG FORKLARING

Humant fullblod som samles i sterile blodprøvetakingsrør som inneholder enten etylenediamintetraeddiksyre (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) eller syre-citratdekstrose (Acid Citrate-Dextrose, ACD) som antikoaguleringsmidler eller i plasmaklargjøringsrør (Plasma Preparation Tubes, PPT), kan brukes til klargjøring av plasma, mens serum bør samles i serumprøvetakingsrør or serumseparasjonsrør (Serum Separation Tubes, SST). Som forberedelse til testing lastes plasma eller serum i et sekundærprøverør eller fraksjonert blod i et primært prøverør kompatibelt med NeuMoDx System på NeuMoDx System ved hjelp av en utpekt prøverørstransportør. For hver prøve blandes en alikvot av plasma- eller serumprøve med NeuMoDx Lysis Buffer 1, og NeuMoDx System utfører automatisk alle trinnene som kreves for å ekstrahere målnukleinsyren, forberede det isolerte DNA-et for sanntids-PCR-amplifikasjon, og hvis slikt er til stede, amplifisere og detektere amplifikasjonsproduktene (deler av HBV-genommålet i den svært konserverte regionen som koder for *X-protein* og *preC-protein*). NeuMoDx HBV Quant Assay omfatter en DNA-prøveprosesskontroll (Sample Process Control 1, SPC1) for å overvåke forekomst av potensielle hemmende stoffer samt NeuMoDx System- eller reagenssvikt som kan oppstå under ekstraksjons- og amplifikasjonsprosessene.

Hepatitt B-virus (Hepatitis B Virus, HBV) er utløsende årsak til hepatitt B-leverinfeksjon og er et globalt helseproblem. Hepatitt B kan forårsake enten akutt hepatitt eller utvikles til en kronisk tilstand som fører til cirrhose eller leverkreft. Risikoen for at en kronisk tilstand utvikles, er primært aldersrelatert. Hvis viruset overføres ved fødsel, er det en > 90 % risiko for at en kronisk tilstand vil utvikles, mens en voksen som blir infisert, har en 2–6 % risiko for å utvikle en kronisk tilstand.¹ HBV overføres enten via blod-til-blod-kontakt med en infisert person, via seksuell overføring, deling av IV-nåler med en infisert person eller vertikal overføring fra mor til barn under fødsel. I USA lever ca. 850 000 mennesker med HBV-infeksjon, og de fleste nye infeksjoner skyldes seksuell overføring eller injeksjon av rusmidler². I Afrika og de vestlige deler av Stillehavsområdet er det kjent at så mye som 5 % av populasjonen er infisert. Over hele verden forårsaket i 2015 HBV-infeksjon 885 000 dødsfall, hovedsakelig pga. cirrhose eller hepatocellulært karsinom.³ Det finnes en vaksine som er 95 % effektiv for å hindre HBV-infeksjon, og dette fører til færre diagnostiserte tilfeller hvert år⁴.

Den aktuelle behandlingsstandard for å behandle HBV-infeksjon er antiviral terapi, noe som krever konstant overvåking for å sikre at behandlingen går fremover som ønsket. Overvåking av terapi ved hjelp av NeuMoDx HBV Quant Assay kan gi leger informasjon som er nødvendig for å bistå i behandlingen av pasienter med HBV-infeksjoner.

PROSEDYREPRINSIPPER

NeuMoDx HBV Quant Assay kombinerer automatisert DNA-ekstraksjon, -amplifikasjon og -deteksjon ved sanntids-PCR. Fullblodsprøver samles i EDTA-, ACD- eller PPT-rør for klargjøring av plasma og/eller i SST-rør for klargjøring av serum. Den primære (fraksjonerte) blodprøven eller en plasma/serum-alikvot i et kompatibelt sekundærprøverør merkes med strekkode og plasseres på NeuMoDx System. NeuMoDx System aspirerer automatisk en alikvot av plasmaet/serumet som blandes med NeuMoDx Lysis Buffer 1 og stoffene i NeuMoDx Extraction Plate for å starte behandling. NeuMoDx System automatiserer og integrerer DNA-ekstraksjon og -konsentrasjon, reagensklargjøring og nukleinsyreamplifikasjon og -deteksjon av målsekvensene ved hjelp av sanntids-PCR. Den inkluderte prøveprosesskontrollen (Sample Process Control, SPC1) overvåker forekomst av hemmende stoffer og system-, prosess- eller reagenssvikt. Ingen operatørtiltak er nødvendige straks prøven er lastet inn på NeuMoDx System.

NeuMoDx System bruker en kombinasjon av varme, lytisk enzym og ekstraksjonsreagenser til automatisk å utføre lysing, DNA-ekstraksjon og fjerning av hemmere. De frisatte nukleinsyrene innfanges av paramagnetiske partikler. Partiklene, med bundet nukleinsyre, lastes inn i NeuMoDx Cartridge der de ubundne elementene vaskes vekk med NeuMoDx Wash Reagent. Det bundne DNA-et elueres deretter ved hjelp av NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx System bruker det eluerte DNA-et til å rehydrere egenutviklede NeuDry™-amplifikasjonsreagenser som inneholder alle elementene som kreves for amplifikasjon av HBV- og SPC1-målene. Dette muliggjør samtidig amplifikasjon og deteksjon av både mål- og kontroll-DNA-sekvenser. Ved rekonstitusjon av de tørkede PCR-reagensene overfører NeuMoDx System den klargjorte PCR-ferdigblandingen til ett PCR-kammer (per prøve) i NeuMoDx Cartridge. Amplifikasjon og deteksjon av kontroll- og mål-DNA-sekvensene (hvis de er til stede) skjer i PCR-kammeret. NeuMoDx Cartridge er ment å inneholde amplikonet etter PCR, noe som praktisk talt eliminerer risikoen for kontaminering etter amplifikasjon.

De amplifiserte målene detekteres i sanntid ved hjelp av hydrolyseprobekjemi (vanligvis kalt TaqMan®-kjemi) med fluorogene oligonukleotidprobemolekyler som er spesifikke for ampliconene for respektive mål. TaqMan-prober består av en fluorofor som er kovalent bundet til 5'-enden av oligonukleotidproben og en slukker i 3'-enden. Mens proben er intakt, er fluoroforen og slukkeren i nærheten, noe som fører til at slukermolekylet undertrykker fluorescensen sluppet ut av fluoroforen via Försters resonansenergioverføring (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan-prober er utformet slik at de hybridiserer innenfor en DNA-region amplifisert av et spesifikt sett primere. Etter hvert som Taq DNA-polymerase forlenger primeren og syntetiserer den nye tråden, bryter Taq DNA-polymerasens 5'- til 3'-eksonukleaseaktivitet ned proben som har hybridisert til malen. Degradering av proben frisetter fluoroforen og bryter nærheten til slukkeren, noe som dermed overkommer slukkingeffekten på grunn av FRET og tillater deteksjon av fluoroforen. Det resulterende fluorescenssignalet detektert i NeuMoDx System kvantitativ PCR-termosyklus er direkte proporsjonalt med den frisatte fluoroforen og kan korreleres til mengden mål som er til stede.

En TaqMan-probe merket med en fluorofor (magnetisering: 490 nm og stråling: 521 nm) i 5'-enden og en mørk slukker i 3'-enden brukes til å oppdage HBV-DNA. For deteksjon av SPC1 er TaqMan-proben merket med et alternativt fluorescerende fargestoff (magnetisering: 535 nm og stråling: 556 nm) i 5'-enden og en mørk slukker i 3'-enden. NeuMoDx System-programvaren overvåker det fluorescerende signalet fra TaqMan-probene i slutten av hver amplifikasjonssyklus. Når amplifikasjon er fullført, analyserer NeuMoDx System-programvaren dataene og rapporterer et endelig resultat (POSITIVE (Positivt) / NEGATIVE (Negativt) / INDETERMINATE (Ubestemt) / UNRESOLVED (Uløst) / NO RESULT (Intet resultat)). Hvis et resultat er positivt og den beregnede konsentrasjonen er innenfor kvantifiseringsgrensene, gir NeuMoDx System-programvaren også en kvantitativ verdi knyttet til prøven.

REAGENSER/FORBRUKSARTIKLER

Medfølgende materiale

REF	Innhold	Enheter per pakke	Tester per enhet	Tester per pakke
201300	NeuMoDx HBV Quant Test Strip Tørkede PCR-reagenser som inneholder HBV- og SPC1-spesifikk TaqMan-probe og -primere	6	16	96

Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med (fås separat fra NeuMoDx)

REF	Innhold
100200	NeuMoDx Extraction Plate Tørkede paramagnetiske partikler, lytisk enzym og prøveprosesskontroller
800100 eller 800102	NeuMoDx HBV Calibrators Engangssett med høy og lav kalibrator for HBV for å fastsette kalibreringskurvens gyldighet
900101 eller 900102	NeuMoDx HBV External Controls Engangssett med positive og negative kontroller
400400	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton® CO-RE / CO-RE II Tips (300 µl) med filtre
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (1000 µl) med filtre

Nødvendige instrumenter

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

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- NeuMoDx HBV Quant Test Strip er bare for *in vitro*-diagnostikk med NeuMoDx Systems.
- Bruk aldri reagensene eller forbruksartiklene etter angitt utløpsdato.
- Ikke bruk reagenser hvis sikkerhetsforseglingen er brutt, eller hvis emballasjen er skadet ved ankomst.
- Ikke bruk forbruksartikler eller reagenser hvis beskyttelsesposen er åpen eller brutt ved ankomst.
- En gyldig testkalibrering (generert ved å behandle høye og lave kalibratorer fra NeuMoDx HBV Calibrators) må være tilgjengelig før testresultater kan genereres for kliniske prøver.

- NeuMoDx HBV External Controls må behandles hver 24. time under hele testingen med NeuMoDx HBV Quant Assay.
- Minste prøvevolum er avhengig av rørstørrelse, prøverørstransportøren og prøvevolumbehandlingen som definert nedenfor. Volum under spesifisert minimum kan føre til feilen «Quantity Not Sufficient» (Mengde ikke tilstrekkelig).
- Bruk av prøver som er oppbevart ved feil temperatur eller lenger enn de angitte lagringstidene, kan gi ugyldige eller feilaktige resultater.
- Unngå til enhver tid mikrobe- og deoksyribonuklease (DNase)-kontaminering av alle reagenser og forbruksartikler. Bruk av sterile, DNase-frie engangsoverføringspipetter anbefales når sekundærrør brukes. Bruk en ny pipette for hver prøve.
- For å unngå kontaminering må du ikke håndtere eller bryte fra hverandre eventuell NeuMoDx Cartridge etter amplifikasjon. NeuMoDx Cartridges skal ikke hentes opp fra beholderen for biologisk farlig avfall (NeuMoDx 288 Molecular System) eller boksen for biologisk farlig avfall (NeuMoDx 96 Molecular System) under noen omstendigheter. NeuMoDx Cartridge er beregnet på å hindre kontaminering.
- I tilfeller der PCR-tester med åpne rør også er gjennomført av laboratoriet, må det påses at NeuMoDx HBV Quant Test Strip, de ytterligere forbruksartiklene og reagensene som kreves for testing, personlig verneutstyr som hansker og laboratoriefrakker og NeuMoDx System ikke er kontaminert.
- Bruk rene, pulverfrie nitrilhansker ved håndtering av NeuMoDx-reagenser og -forbruksartikler. Sørg for ikke å berøre den øvre overflaten av NeuMoDx Cartridge, folieforseglingsoverflaten av NeuMoDx HBV Quant Test Strip og NeuMoDx Extraction Plate eller den øvre overflaten av NeuMoDx Lysis Buffer 1. Forbruksartiklene og reagensene må håndteres kun ved å berøre sideoverflatene.
- Sikkerhetsdatablader (Safety Data Sheets, SDS) finnes for hvert reagens (hvis det er relevant) på www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Vask hendene grundig når testen er fullført.
- Ikke pipetter gjennom munnen. Ikke røyk, drikk eller spis i områder der prøver eller reagenser blir håndtert.
- Håndter alltid prøver som om de er smittefarlige og i samsvar med sikre laboratorieprosedyrer som de som er beskrevet i *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁵ og i CLSI-dokument M29-A4.⁶
- Kasser ubrukte reagenser og avfall i samsvar med lokale, regionale og nasjonale bestemmelser.
- Må ikke gjenbrukes.



PRODUKTLAGRING, -HÅNTERING OG -STABILITET

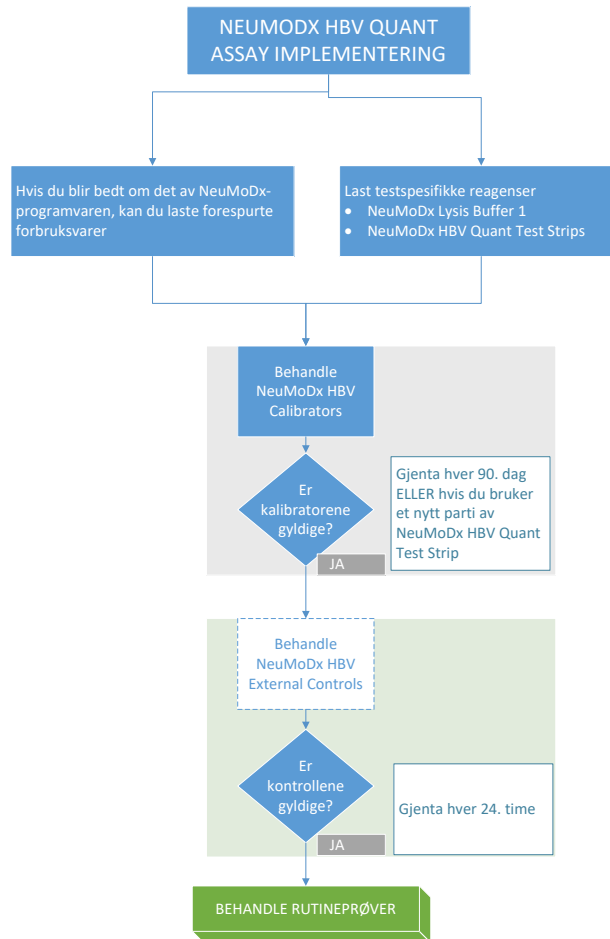
- NeuMoDx HBV Test Strips er stabile i primæreballasjen innenfor angitt utløpsdato på produktetiketten når de lagres mellom 4 og 28 °C.
- Ikke bruk forbruksartikler og reagenser etter angitt utløpsdato.
- Ikke bruk testprodukt hvis primær- eller sekundæreballasjen er visuelt kompromittert.
- Ikke last inn igjen testprodukter som tidligere er lastet inn på et annet NeuMoDx System.
- Når NeuMoDx HBV Quant Test Strip er lastet inn, kan den forbli på NeuMoDx System i 62 dager. Gjenværende holdbarhet for innlastede teststrimler spores av programvaren og rapporteres til brukeren i sanntid. Systemet varsler når en teststrimmel som har vært i bruk utover tillatt periode, må fjernes.

INNSAMLING, TRANSPORT OG OPPBEVARING AV PRØVE

1. Håndter alle prøver, kalibratorer og kontroller som om de vil kunne overføre smittefarlige stoffer.
2. Aldri frys fullblod eller prøver oppbevart i primærrør.
3. For å klargjøre plasmaprøver skal fullblod samles inn i sterile rør ved hjelp av EDTA eller ACD som antikoaguleringsmidler. Følg anvisningene fra produsenten av prøvetakingsrøret for klargjøring og lagring.
4. For å klargjøre serumprøver skal fullblod samles i SST-rør. Følg anvisningene fra produsenten av prøvetakingsrøret for klargjøring og lagring.
5. Prøver kan testes i primærprøvetakingsrør eller sekundærprøverør. Anbefalt for primærrørtesting:
 - a. Plasmaprøver: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD #368589) eller BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
 - b. Serumprøver: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD #367820) eller BD Vacutainer SST™ Tube (BD #367988).
6. Klargjorte prøver kan oppbevares på NeuMoDx System i opptil 8 timer for plasma og 24 timer for serum før behandling. Hvis ytterligere oppbevaringstid er nødvendig, anbefales det at prøvene enten nedkjøles eller fryses som sekundæralikvoter.
7. Klargjorte prøver skal lagres ved 2–8 °C i høyst 7 dager før testing og høyst 8 timer for plasma og 24 timer for serum ved romtemperatur.
8. Klargjorte prøver kan oppbevares ved ≤ -20 °C i opptil 4 uker (serum) eller 6 måneder (plasma) før behandling. Fryste prøver bør ikke utsettes for mer enn 2 fryse-/tine-sykluser for plasma og 4 fryse-/tinesykluser for serum før bruk.
 - a. Hvis prøver fryses, må disse få tine fullstendig ved romtemperatur (15–30 °C). Roter for å generere en jevnt fordelt prøve.
 - b. Når fryste prøver tines, skal testing skje innen 24 timer.
 - c. Frysing av plasma/serum i primærprøvetakingsrør anbefales ikke.
9. Hvis prøver sendes, må de være pakket og merket i samsvar med gjeldende nasjonale og/eller internasjonale bestemmelser.
10. Merk prøver tydelig, og angi at prøvene er til HBV-testing.

11. Gå videre til avsnittet *Testklargjøring*.

Den samlede prosessen for implementering av NeuMoDx HBV Quant Assay er sammenfattet nedenfor på *figur 1*.



Figur 1: Implementeringsarbeidsflyt for NeuMoDx HBV Quant Assay

BRUKSANVISNING

Testklargjøring

NeuMoDx HBV Quant Assay kan kjøres direkte fra primære blodprøvetakingsrør eller fra prøvealikkvoter i sekundære prøverør. Behandling kan kjøres ved hjelp av én av to arbeidsflyter for behandling av prøvevolumer – arbeidsflyten med 550 μ l prøvevolum eller arbeidsflyten med 200 μ l prøvebehandling. Sett prøvestrekkodeetiketten på et prøverør som er kompatibelt med NeuMoDx System.

1. Sett prøvestrekkodeetiketten på et prøverør som er kompatibelt med NeuMoDx System. Det primære blodprøvetakingsrøret kan merkes og plasseres direkte i en 32-rørs prøverørstransportør etter sentrifugering, som anvist av produsenten. Eventuelt kan en alikvot av plasmaet/serumet overføres til et sekundærrør for behandling på NeuMoDx System.
2. Hvis prøven testes i primærprøvetakingsrøret, plasserer du røret med strekkode i en prøverørstransportør og sikrer at hetten tas av før røret lastes inn på NeuMoDx System. Minimumsvolumer **over** gel/buffylag er definert nedenfor og oppfylles hvis prøver samles inn og behandles i henhold til anvisningene fra rørprodusenten. Ytelse er ikke garantert for prøver som tas feil.

Rørtype	Minste påkrevde prøvevolum	
	550 µl arbeidsflyt	200 µl arbeidsflyt
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. Hvis du bruker et sekundærrør, overfører du en alikvot av plasma/serum til prøverøret med strekkode som er kompatibelt med NeuMoDx System i henhold til volumene angitt nedenfor:

Prøverørstransportør	Rørstørrelse	Minste påkrevde prøvevolum	
		550 µl arbeidsflyt	200 µl arbeidsflyt
32-Tube Specimen Tube Carrier (Prøverørstransportør med 32 rør)	11–14 mm diameter og 60–120 mm høyde	700 µl	400 µl
24-Tube Specimen Tube Carrier (Prøverørstransportør med 24 rør)	14,5–18 mm diameter og 60–120 mm høyde	1100 µl	800 µl
Low Volume Specimen Tube Carrier (Prøverørstransportør for lavt volum)	1,5 ml mikrosentrifugerør med konisk bunn	650 µl	300 µl

Bruk av NeuMoDx Systems

Detaljerte anvisninger finnes i brukerhåndbøkene for NeuMoDx 288 og 96 Molecular Systems (art.nr. 40600108 og 40600317)

- Last testorden inn på NeuMoDx System i henhold til ønsket arbeidsflyt med prøvebehandlingsvolum og prøverørtype:
 - 550 µl prøvevolum testes ved å definere prøvetypen som «**Plasma**» eller «**Serum**»
 - 200 µl prøvevolum testes ved å definere prøvetypen som «**Plasma2**» eller «**Serum2**»
 - Hvis det ikke er definert i testorden, brukes prøvetypen **Plasma** i et **Secondary Tube** (Sekundærrør) som standard
- Fyll opp én eller flere NeuMoDx System-teststrimmeltransportører med NeuMoDx HBV Quant Test Strip(s), og bruk trykkskjermen til å laste teststrimmeltransportøren(e) inn i NeuMoDx System.
- Hvis NeuMoDx System-programvaren ber deg om det, tilsetter du de nødvendige forbruksartiklene på NeuMoDx System-forbruksartikkeltransportører og bruker trykkskjermen til å laste transportørene inn i NeuMoDx System.
- Hvis NeuMoDx System-programvaren ber om det, må du bytte NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, tømme primingavfallet, beholderen for biologisk farlig avfall (kun NeuMoDx 288 Molecular System), beholderen for spissavfall (kun NeuMoDx 96 Molecular System) eller boksen for biologisk farlig avfall (kun NeuMoDx 96 Molecular System), avhengig av hva som er relevant.
- Hvis NeuMoDx System-programvaren ber om det, behandler du NeuMoDx HBV Calibrators og/eller NeuMoDx HBV External Controls. Du finner mer informasjon vedrørende kalibratorer og kontroller i avsnittet *Resultatbehandling*.
- Last prøve-/kalibrator-/kontrollrør inn i en prøverørstransportør, og kontroller at hettene er tatt av alle rør.
- Plasser prøverørstransportøren(e) på autoinnlasterhyllen, og bruk trykkskjermen til å laste transportøren(e) inn i NeuMoDx System. Dette starter behandling av de innlastede prøvene for de identifiserte testene, forutsatt at en gyldig testordre finnes på systemet.

BEGRENSNINGER

- NeuMoDx HBV Quant Test Strip kan bare brukes på NeuMoDx System.
- Ytelsen til NeuMoDx HBV Quant Test Strip har blitt etablert for plasmaprøver klargjort med EDTA/ACD som antikoaguleringsmidler eller serumprøver klargjort i serumseparatorrør. Bruk av NeuMoDx HBV Quant Test Strip med andre kilder har ikke vært vurdert, og ytelseegenskaper er ukjente for andre prøvetyper.
- Ytelsen til NeuMoDx HBV Quant Test Strip har blitt etablert for primærrørtesting ved hjelp av BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tubes og BD Vacutainer PPT Plasma Preparation Tube, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube og BD Vacutainer SST Tube.

4. En liten økning i deteksjonsgrensen og nedre kvantifiseringsgrense for NeuMoDx HBV Quant Assay er observert ved bruk av arbeidsflyten med 200 µl prøvevolum.
5. NeuMoDx HBV Quant Assay brukes kun til kvantitative overvåkingsformål. Det er ikke ment å brukes til kvalitativ deteksjon.
6. NeuMoDx HBV Quant Assay må ikke brukes med prøver fra personer som behandles med heparin.
7. Siden deteksjon av HBV er avhengig av antallet mål-DNA-partikler i prøven, er pålitelige resultater avhengig av riktig prøvetaking, -håndtering og -lagring.
8. NeuMoDx HBV Calibrators og NeuMoDx HBV External Controls må behandles som anbefalt i pakningsvedleggene når du blir bedt om det av NeuMoDx System-programvaren før rutinemessige kliniske prøver behandles.
9. Feilaktige resultater kan skyldes feil prøvetaking, -håndtering og -lagring, teknisk feil eller prøverørsforveksling. I tillegg kan falskt negative resultater forekomme fordi antallet virale partikler i prøven er under grensen for deteksjon av NeuMoDx HBV Quant Assay.
10. Bruk av NeuMoDx System er begrenset til personell som har fått opplæring i bruk av NeuMoDx System.
11. Hvis både HBV-mål og SPC1-målet ikke amplifiseres, rapporteres et ugyldig resultat (Indeterminate (Ubestemt), No Result (Intet resultat) eller Unresolved (Uløst)), og testen bør gjentas.
12. Hvis NeuMoDx HBV Quant Assay-resultatet er Positive (positivt), men kvantifiseringsverdien er utenfor kvantifiseringsgrensene, vil NeuMoDx System rapportere hvorvidt detektert HBV var *under* nedre kvantifiseringsgrense (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) eller *over* øvre kvantifiseringsgrense (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
13. Hvis detektert HBV var *under* LLoQ, kan analysen gjentas (om ønsket) med en annen alikvot av prøven.
14. Hvis den detekterte HBV er over ULoQ, kan NeuMoDx HBV Quant Assay gjentas med en fortynnet alikvot av den opprinnelige prøven. Det anbefales en 1:1000 fortynning i HBV-negativt plasma eller Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Konsentrasjonen til den opprinnelige prøven kan beregnes på følgende måte:
$$\text{opprinnelig prøvekonsentrasjon} = \text{Log}_{10}(\text{fortynningsfaktor}) + \text{rapportert konsentrasjon av den fortyndede prøven}$$
15. Sporadisk forekomst av PCR-hemmere i plasma kan føre til systemkvantifiseringsfeil. Hvis dette forekommer, anbefales det at testen gjentas med samme prøve fortynnet i Basematrix ved 1:10 eller 1:100.
16. Et positivt resultat viser ikke nødvendigvis forekomst av levedyktige organismer. Men et positivt resultat er presumptivt for forekomsten av hepatitt B-virus-DNA.
17. Delesjoner eller mutasjoner i de konserverte regionene som NeuMoDx HBV Quant Assay har som mål, kan påvirke deteksjon eller kan føre til et feilaktig resultat ved bruk av NeuMoDx HBV Quant Test Strip.
18. Resultater fra NeuMoDx HBV Quant Assay bør brukes som et supplement til kliniske observasjoner og andre opplysninger, som er tilgjengelig for legen. Analysen er ikke ment å diagnostisere infeksjon.
19. God laboratoriepraksis, herunder skifte av hansker mellom håndtering av pasientprøver, anbefales for å unngå kontaminering.

RESULTATBEHANDLING

Tilgjengelige resultater kan vises eller skrives ut fra fanen «Results» (Resultater) i vinduet Results (Resultater) på trykkskjermen i NeuMoDx System. Resultatene fra NeuMoDx HBV Quant Assay genereres automatisk av NeuMoDx System-programvaren ved hjelp av beslutningsalgoritmen og resultatbehandlingsparametere angitt i NeuMoDx HBV Quant Assay Definition File (HBV ADF). Et resultat kan rapporteres som Negative (Negativt), Positive (Positivt) med en rapportert HBV-konsentrasjon, Positive (Positivt) over ULoQ, Positive (Positivt) under LLoQ, Indeterminate (Ubestemt, IND), Unresolved (Uløst, UNR) eller No Result (Intet resultat, NR) basert på amplifikasjonsstatusen for målet og prøvebehandlingskontrollen. Resultater rapporteres basert på ADF-beslutningsalgoritmen, oppsummert nedenfor i *tabell 1*.

Tabell 1: Sammendrag av HBV Quant Assay-beslutningsalgoritmen

RESULTAT	HBV-mål	Prøveprosesskontroll (Sample Process Control, SPC1)	Resultattolkning
Positive (Positiv) med rapportert konsentrasjon	Amplified (Amplifisert) 0,9 ≤ [HBV] ≤ 9,0 Log ₁₀ IE/ml (550 µl arbeidsflyt) 1,4 ≤ [HBV] ≤ 9,0 Log ₁₀ IE/ml (200 µl arbeidsflyt)	Amplified (Amplifisert) eller Not Amplified (Ikke amplifisert)	HBV-DNA detektert innen kvantitativt område
Positive (Positiv), over ULoQ	Amplified (Amplifisert) [HBV] > 9,0 Log ₁₀ IE/ml	Amplified (Amplifisert) eller Not Amplified (Ikke amplifisert)	HBV-DNA detektert over kvantitativt område
Positive (Positiv), under LLoQ	Amplified (Amplifisert) [HBV] < 0,9 Log ₁₀ IE/ml (550 µl arbeidsflyt) [HBV] < 1,4 Log ₁₀ IE/ml (200 µl arbeidsflyt)	Amplified (Amplifisert) eller Not Amplified (Ikke amplifisert)	HBV-DNA detektert under kvantitativt område
Negative (Negativ)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Amplified (Amplifisert)	HBV-DNA ikke detektert
Indeterminate (Ubestemt)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Ikke amplifisert, systemfeil detektert, prøvebehandling fullført)		Alle målresultater var ugyldige. Test prøve på nytt†
No Result* (Intet resultat)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Ikke amplifisert, systemfeil detektert, prøvebehandling avbrutt)		Prøvebehandling ble avbrutt. Test prøve på nytt†
Unresolved (Uløst)	Not Amplified, No System Error Detected (Ikke amplifisert, ingen systemfeil detektert)		Alle målresultater var ugyldige. Test prøve på nytt†

*Flagget No Result (Intet resultat) er bare rapportert på NeuMoDx System-programvareversjon 1.8 og nyere

†NeuMoDx System er utstyrt med automatisk funksjon for ny kjøring / gjentatt kjøring som sluttbrukeren kan velge å bruke for å sikre at et resultat av typen IND/UNR/NR automatisk behandles på nytt for å minimere forsinkelser i resultatrapporteringen.

Testberegning

- For prøver innenfor kvantiseringsområdet for NeuMoDx HBV Quant Assay blir konsentrasjonen av HBV-DNA i prøvene beregnet ved bruk av den lagrede standardkurven i forbindelse med kalibreringskoeffisienten og prøvevolumet.
 - En kalibreringskoeffisient beregnes basert på resultatene fra NeuMoDx HBV Calibrators behandlet for å etablere gyldighet av standardkurven for et spesifikt parti av NeuMoDx HBV Quant Test Strip på et spesifikt NeuMoDx System.
 - Kalibreringskoeffisienten er omfattet i den endelige bestemmelsen av konsentrasjonen av HBV-DNA.
 - NeuMoDx-programvaren står for prøveinnmatingsvolumet ved bestemmelse av konsentrasjonen av HBV-DNA per ml prøve.
- NeuMoDx HBV Quant Assay-resultater rapporteres i Log₁₀ IE/ml.
- Den resulterende kvantifiseringen av de ukjente prøvene er sporbar til WHO's 4. internasjonale standard for HBV.

Testkalibrering

En gyldig kalibrering basert på standardkurven er nødvendig for å kvantifisere HBV-DNA i prøvene. For å generere gyldige resultater må en testkalibrering fullføres ved hjelp av de eksterne kalibratorene fra NeuMoDx Molecular, Inc.

Kalibratorer

- Et sett av NeuMoDx HBV-kalibratorer må behandles med hvert nytt parti av NeuMoDx HBV Quant Test Strips, hvis en ny HBV-analysedefinisjonsfil lastes opp til NeuMoDx System, hvis det aktuelle settet av kalibratorer er over gyldighetsperioden (for øyeblikket satt til 90 dager), eller hvis NeuMoDx System-programvaren modifiseres.
- NeuMoDx System-programvaren vil varsle brukeren om når kalibratorene må behandles. Et nytt parti med teststrimler kan ikke brukes til testing før kalibratorene er ferdig behandlet.
- Kalibreringsgyldighet etableres på følgende måte:
 - Et sett med to kalibratorer – én (1) høy og én (1) lav – må behandles for å fastslå gyldighet.
 - Minst to (2) av de tre (3) replikatene må gi resultater innen forhåndsdefinerte parametere. Det nominelle målet for lav kalibrator er 3,7 Log₁₀ IE/ml, og det nominelle målet for høy kalibrator er 5,7 Log₁₀ IE/ml.
 - En kalibreringskoeffisient beregnes til å representere forventet variasjon mellom teststrimmelpartier. Denne kalibreringskoeffisienten benyttes til bestemmelse av endelig HBV-konsentrasjon.

4. Hvis én av eller begge kalibratorene ikke består gyldighetskontrollen, må du gjenta behandlingen av de(n) ikke fullførte kalibratoren(e) ved hjelp av et nytt hetteglass. Hvis én kalibrator ikke består gyldighetskontrollen, er det mulig kun å gjenta den ikke fullførte kalibratoren siden systemet ikke krever at brukeren kjører begge igjen.
5. Hvis kalibratoren(e) ikke godkjennes i gyldighetskontrollen en etterfølgende gang, må du kontakte NeuMoDx Molecular, Inc.

Kvalitetskontroll

Ifølge lokale bestemmelser er laboratoriet vanligvis ansvarlig for kontrollprosedyrer som overvåker nøyaktighet og presisjon for hele den analytiske prosessen, og det må fastsette antall, type og frekvens av testkontrollmaterialer ved hjelp av kontrollerte ytelses-spesifikasjoner for et uendret, godkjent testsystem.

Eksterne kontroller

1. Positive og negative eksterne kontroller må behandles hver 24. time under hele testingen med NeuMoDx HBV Quant Assay. Hvis det ikke finnes et sett med gyldige resultater av eksterne kontroller, vil NeuMoDx System-programvaren gi brukeren beskjed om at kontrollene må behandles før prøveresultater kan rapporteres.
2. Gyldigheten til eksterne kontroller vil vurderes av NeuMoDx System basert på det forventede resultatet. Den positive kontrollen bør gi et HBV-resultat som er Positive (Positivt), og den negative kontrollen bør gi et HBV-resultat som er Negative (Negativt).
3. Håndtering av uoverensstemmende resultater for eksterne kontroller skal utføres på følgende måte:
 - a) Testresultatet Positive (Positivt) rapportert for en negativ kontrollprøve angir et prøvekontamineringsproblem.
 - b) Testresultatet Negative (Negativt) rapportert for en positiv kontrollprøve kan indikere at det er et reagens- eller instrumentrelatert problem.
 - c) I hvert av de ovenstående tilfellene, eller ved resultatet Indeterminate (Ubestemt, IND) eller No Result (Intet Resultat, NR), må du gjenta NeuMoDx HBV External Controls med nye hetteglass med kontrollen(e) som ikke besto gyldighetstesten.
 - d) Hvis positiv NeuMoDx HBV External Control fortsetter å rapportere resultatet Negative (Negativt), må du kontakte NeuMoDx' kundeservice.
 - e) Hvis negativ NeuMoDx HBV External Control fortsetter å rapportere resultatet Positive (Positivt), må du forsøke å eliminere alle kilder til potensiell kontaminering, herunder bytte alle reagenser før du kontakter teknisk støtte hos NeuMoDx.

(Interne) prøveprosesskontroller

En eksogen prøveprosesskontroll (Sample Process Control, SPC1) er inkorporert i NeuMoDx Extraction Plate og gjennomgår hele prosessen med nukleinsyreekstraksjon og sanntids-PCR-amplifikasjon med hver prøve. Primere og probe spesifikk for SPC1 er også inkludert i hver NeuMoDx HBV Quant Test Strip, noe som muliggjør deteksjon av SPC1 med mål-HBV-DNA (hvis slikt er til stede) via multiplexet PCR. Deteksjon av SPC1-amplifikasjon gjør det mulig for NeuMoDx System-programvaren å overvåke effekten av DNA-ekstraksjons- og PCR-amplifikasjonsprosessene.

Ugyldige resultater

Hvis en NeuMoDx HBV Quant Assay utført på NeuMoDx System ikke gir et gyldig resultat etter fullført prøvebehandling, rapporteres den som enten Indeterminate (Ubestemt, IND), No Result (Intet resultat, NR) eller Unresolved (Uløst, UNR) basert på typen feil som har skjedd.

Et ubestemt resultat (IND) rapporteres hvis det detekteres en NeuMoDx System-feil under prøvebehandlingen. Hvis et ubestemt resultat (IND) rapporteres, anbefales det å teste på nytt.

Resultatet UNR rapporteres hvis ingen gyldig amplifikasjon av HBV-DNA eller SPC1 detekteres ved fravær av systemfeil, noe som angir mulig reagenssvikt eller forekomst av hemmere. Hvis resultatet UNR rapporteres, anbefales det å teste på nytt som et første trinn. Hvis en ny test underkjennes, kan en prøvfortynning brukes til å dempe effektene av eventuell prøvehemming.

Hvis en NeuMoDx HBV Quant Assay utført på NeuMoDx System ikke gir et gyldig resultat og prøvebehandling avbrytes før den er fullført, rapporteres den som No Result (Intet resultat, NR). Hvis NR rapporteres, anbefales det å teste på nytt.

YTELSESEGENSKAPER

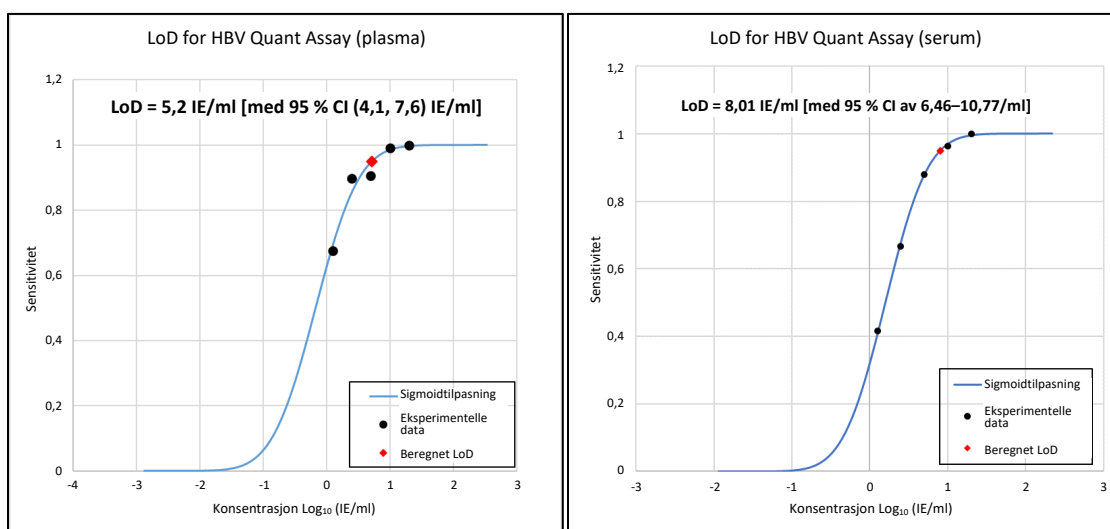
Analytisk sensitivitet – Deteksjonsgrense ved bruk av WHO-standard

Den analytiske sensitiviteten til NeuMoDx HBV Quant Assay ble karakterisert ved testing av negative prøver og en fortyningsserie iht. WHO's 4. internasjonale standard i screenet negativt humant plasma og serum for å bestemme deteksjonsgrensen (Limit of Detection, LoD) på NeuMoDx Systems. LoD-en ble definert som det laveste målnivået oppdaget ved en rate på 95 % som bestemt av Probit-stilanalyse. Studiene ble utført over 3 dager mellom flere NeuMoDx Systems med flere partier av NeuMoDx-reagenser. En tilleggsstudie ble utført for å bekrefte LoD for NeuMoDx HBV Quant Assay ved bruk av arbeidsflyten med 200 µl prøvevolum. Deteksjonsrater fra begge studier er vist i *tabell 2*.

Tabell 2: Positive deteksjonsrater for LoD-bestemmelse av NeuMoDx HBV Quant Assay

	Målkonsentrasjon [IE/ml]	Målkonsentrasjon [\log_{10} IE/ml]	PLASMA			SERUM		
			Antall gyldige tester	Antall positive	Deteksjonsrate	Antall gyldige tester	Antall positive	Deteksjonsrate
550 μl	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	I/R	108	0	0 %	107	0	0 %
200 μl	25	1,40	43	43	100 %	44	44	100 %

LoD for NeuMoDx HBV Quant Assay for HBV-genotype A (WHO's 4. internasjonale standard) i plasma ble bestemt til å være 5,2 IE/ml (95 % CI 4,1–7,6 IE/ml) [(0,72 \log_{10} IE/ml) (95 % CI 0,61–0,88 \log_{10} IE/ml)] ved hjelp av arbeidsflyten med 550 μ l prøvevolum (figur 2). LoD for NeuMoDx HBV Quant Assay for serumprøver ble bestemt til å være 8,0 IE/ml (95 % CI 6,5–10,8 IE/ml) [(0,9 \log_{10} IU/mL) (95 % CI 0,8–1,0 \log_{10} IE/ml)] ved hjelp av arbeidsflyten med 550 μ l prøvevolum (figur 2).



Figur 2: Probit-stilanalyse brukt til å bestemme LoD for NeuMoDx HBV Quant Assay, plasma (venstre) og serum (høyre)

Analytisk sensitivitet – Kvantifiseringsgrense – Nedre kvantifiseringsgrense (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) med WHO-standarden

Nedre kvantifiseringsgrense (LLoQ) er definert som det laveste målnivået ved hvilket > 95 % deteksjon oppnås OG TAE \leq 1,0. For å bestemme LLoQ ble den totale analytiske feilen (Total Analytical Error, TAE) beregnet for hvert av HBV-målnivåene som ble vist å rapportere > 95 % deteksjon som del av LoD-beregning. TAE er definert på følgende måte:

$$\text{TAE} = \text{skjevhet} + 2 \cdot \text{SD} \quad \text{[Westgard-statistikk]}$$

Skjevheten er den absolutte verdien av forskjellen mellom gjennomsnittet for beregnet konsentrasjon og den forventede konsentrasjonen. SD henviser til standardavviket fra den kvantifiserte verdien av prøven.

Samlede resultater for de 5 nivåene av HBV-prøver brukt i LLoQ-studien ved hjelp av WHO's 4. internasjonale standard vises i tabell 3. LLoQ for WHO's 4. internasjonale standard i plasma ved hjelp av NeuMoDx HBV Quant Assay (arbeidsflyt med 550 μ l prøvevolum) ble bestemt til å være 5,5 IE/ml (0,74 \log_{10} IE/ml). En separat studie ble utført for å bekrefte LLoQ ved bruk av arbeidsflyten med 200 μ l prøvevolum, og disse resultatene viste en LLoQ på 25 IE/ml, som også vises i tabell 3.

LLoQ for NeuMoDx HBV Quant Assay for serumprøver ble bestemt til å være 6,0 IE/ml ved bruk av arbeidsflyten med 550 μ l prøvevolum, og 25 IE/ml for arbeidsflyten med lavt (200 μ l) prøvevolum, som vist i tabell 3.

Tabell 3: NeuMoDx HBV Quant Assay LLoQ, med skjevhet og TAE

	Målkons. [IE/ml]	Målkons. [\log_{10} IE/ml]	Plasma					Serum				
			Gjennomsnittlig kons. [\log_{10} IE/ml]	Deteksjon (%)	SD	Skjevhet	TAE	Gjennomsnittlig kons. [\log_{10} IE/ml]	Deteksjon (%)	SD	Skjevhet	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

Analytisk sensitivitet – LoD og LLoQ mellom HBV-genotyper

LoD-en ble innledningsvis etablert for genotype A (WHO's 4. internasjonale standard), og deretter ble ytterligere testing utført rundt den etablerte LoD ved hjelp av hver av de andre 7 genotypene. Trettiseks (36) replikater på nivåer tilsvarende 2x, 1x og 0,5x av den 95 % CI øvre grense for LoD (~7 IE/ml) ble testet ved hjelp av NeuMoDx HBV Quant Assay ved hjelp av plasma med arbeidsflyten med 550 μ l prøvevolum. Den positive prosentandelsraten for hver genotype på hvert av disse testede nivåene ble ordnet i tabell og brukt til å beregne LoD-en ved hjelp av en Probit-stilanalyse.

Den totale analytiske feilen ved disse testede nivåene ble også beregnet. Det laveste nivået med 95 % positiv deteksjon og beregnet TAE på $\leq 1,0$ ble igjen ansett å være LLoQ for genotypen. Mellom genotyper ble deteksjonsgrensen for NeuMoDx HBV Quant Assay for plasmaprøver ved hjelp av arbeidsflyten med 550 μ l prøvevolum vist å være 6,2 IE/ml (0,79 \log_{10} IE/ml) og LLoQ ble vist å være 7,6 IE/ml (0,88 \log_{10} IE/ml), som vist i tabell 4.

Tabell 4. HBV-genotyper testet i plasma ved hjelp av arbeidsflyt med 550 μ l prøvevolum

GENOTYPE	LoD [IE/ml]	LLoQ [IE/ml]
Genotype A	5,2	5,2
Genotype B	6,2	6,2
Genotype C	3,5	6,2
Genotype D	5,2	5,7
Genotype E	3,5	3,5
Genotype F	5,1	6,2
Genotype G	3,5	3,5
Genotype H	5,2	7,6

Basert på utfallet av disse studiene spesifiserer NeuMoDx en **LoD og LLoQ på 25 IE/ml (1,4 \log_{10} IE/ml)** for NeuMoDx HBV Quant Assay i **plasma og serum** ved hjelp av **arbeidsflyten med 200 μ l prøvevolum**.

NeuMoDx spesifiserer en **LoD og LLoQ på 8,0 IE/ml (0,9 \log_{10} IE/ml)** for NeuMoDx HBV Quant Assay i **plasma og serum** ved hjelp av **arbeidsflyten med 550 μ l prøvevolum**.

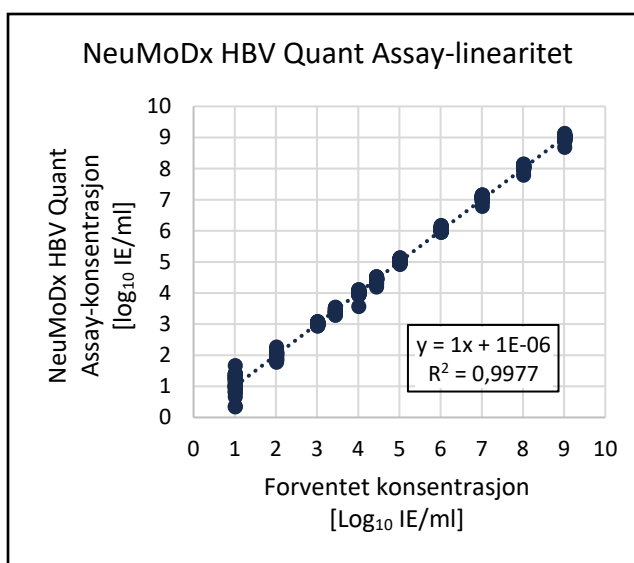
Analytisk sensitivitet – Linearitet og bestemmelse av øvre kvantifiseringsgrense (ULOQ)

Linearitet og øvre kvantifiseringsgrense (Upper Limit of Quantitation, ULOQ) for NeuMoDx HBV Quant Assay ble etablert i plasma ved å klargjøre en fortyningsserie ved hjelp av høy positiv klinisk prøve for HBV (Access Biologicals, Vista, CA) med etablert sporbarhet til WHO's 4. internasjonale standard. Et panel med 11 medlemmer ble klargjort i gruppert HBV-negativt plasma for å opprette et testpanel som vil favne et konsentrasjonsområde på 9,02–1,02 \log_{10} IE/ml. Testpanelet ble behandlet med 6 replikater på hvert nivå på 2 NeuMoDx Systems og 3 partier med kritiske reagenser. NeuMoDx HBV Quant Assay viste evne til å kvantifisere HBV mellom 8 \log_{10} -lineærområdet (herunder kritiske medisinske beslutningspunkter) med et avvik på $\pm 0,22 \log_{10}$ IE/ml. Det fantes ingen vesentlig fordel ved å bruke 2.- og 3.-ordrens regresjonstilpasninger. ULOQ ble bestemt ved hjelp av dataene fra denne studien til å være 9,02 \log_{10} IE/ml [tabell 5 og figur 3].

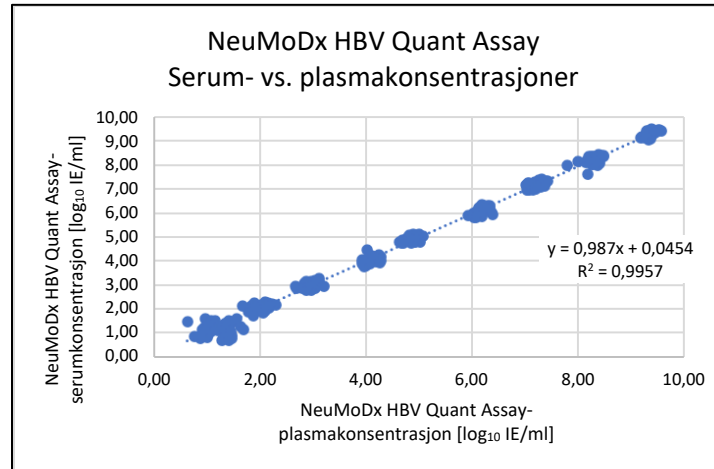
Tabell 5: Linearitet av NeuMoDx HBV Quant Assay (evaluert med genotype A)

Målkons. (IE/ml)	Målkons. (Log ₁₀ IE/ml)	Gjennomsnittlig kons. (Log ₁₀ IE/ml)	Standardavvik	Skjevhet	Forutsett lineær tilpasning	Avvik fra ikke-lineær tilpasning
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

*I nærheten av medisinske beslutningspunkter

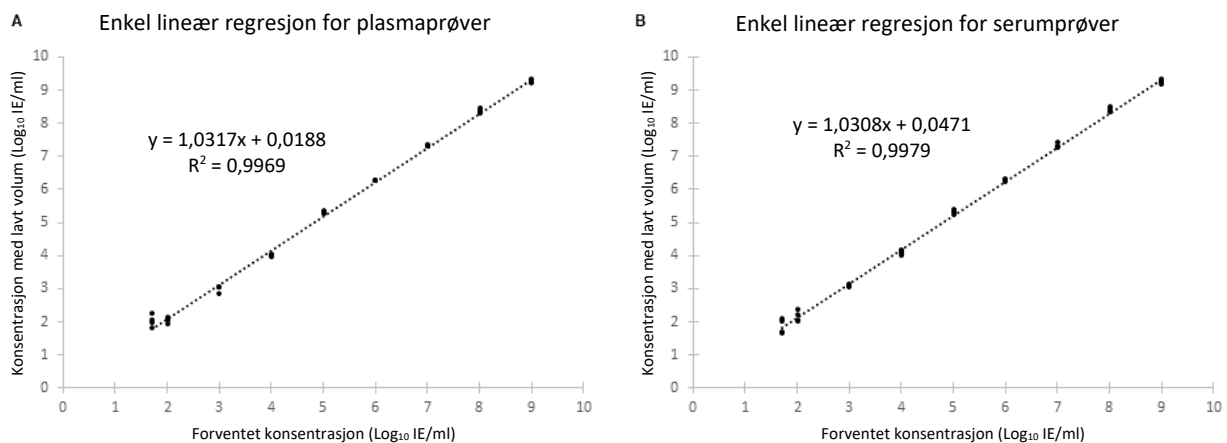

Figur 3: Lineært område av NeuMoDx HBV Quant Assay i plasma

En etterfølgende studie ble utført for å vise matriseekvivalens, og analysen sammenlignet NeuMoDx HBV-kvantitative resultater for prøver klargjort i plasma og serum ved hjelp av to forskjellige regresjonstilpasningsmodeller, herunder MS Excel-regresjonsverktøy og Passing-Bablok. Resultater viste en sterk korrelasjon representert av hellings- og skjæringspunktverdier svært nær henholdsvis 1,00 og 0,00, og en R²-verdi på 0,99 (MS Excel-regresjonsverktøy) eller en p-verdi på 0,270 (Passing-Bablok). HBV Quant-analysekonsentrasjonene rapportert av NeuMoDx System for plasmamatriksen sammenlignet med tilhørende serumprøver presenteres på figur 4.



Figur 4: Lineært område av NeuMoDx HBV Quant Assay mellom matriser

Linearitet og ULOQ ble deretter bekreftet for arbeidsflyten med 200 µl prøvevolum over et område på 9,31–1,71 log₁₀ IE/ml. Ekvivalenssammenligninger ble utført mellom konsentrasjonene rapportert av NeuMoDx-programvaren for arbeidsflytene med 200 µl og 550 µl. Deming- og Passing-Bablok-regresjonsanalyse viste utmerket korrelasjon og en helling nær 1 og minste skjæringspunkter (skjevhet) for de rapporterte konsentrasjonene for både plasma- og serumprøver i det lineære området. En Bland-Altman-sammenligning mellom den rapporterte konsentrasjonen for arbeidsflyten med 200 µl prøvevolum og den gjennomsnittlige rapporterte konsentrasjonen for både arbeidsflyten med 200 µl og 550 µl prøvevolum viste minimal skjevhet, noe som tydet på at algoritmen som ble brukt til å generere resultater fra arbeidsflyten med 200 µl, var nøyaktig. En enkel lineær regresjon som sammenlignet den forventede konsentrasjonen med den rapporterte konsentrasjonen for arbeidsflyten med 200 µl, hadde dessuten en helling nær 1, noe som viste utmerket korrelasjon [figur 5]. Samlet sett viser disse sammenligningene nøyaktig kvantifisering av HBV i det lineære området av NeuMoDx HBV Quant Assay ved hjelp av arbeidsflyten med 200 µl prøvevolum.



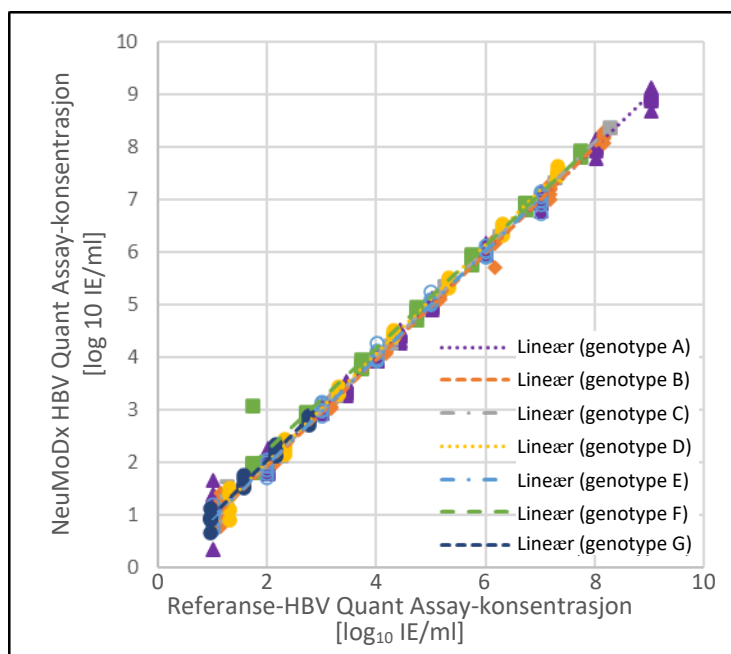
Figur 5: Lineært forhold mellom forventede og NeuMoDx-rapporterte konsentrasjoner for arbeidsflyten med 200 µl i a) plasma og b) serum

Linearitet mellom genotyper

Lineariteten til NeuMoDx HBV Quant Assay i plasmaprøve for HBV-genotypene ble karakterisert ved testing av minst fire (4) forskjellige konsentrasjoner av hver genotype av HBV klargjort i gruppert HBV-negativ plasma. De testede nivåene av HBV-mål brukt i denne studien var avhengig av konsentrasjonen av kildeprøven, og var derfor forskjellige mellom genotyper. Studien ble utført med hver genotype ved hjelp av 6 replikater på hvert nivå. Linearitet mellom HBV-genotypene er presentert i tabell 6 og på figur 6.

Tabell 6: Linearitet av NeuMoDx HBV Quant Assay mellom genotyper

Genotype	Linearitetsligning y = NeuMoDx HBV Quant Assay-kvantifisering x = Forventet kvantifisering	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



Figur 6: Linearitet av NeuMoDx HBV Quant Assay mellom genotyper

Analytisk spesifisitet og kryssreaktivitet

Analytisk spesifisitet ble vist ved screening av 32 organismer vanligvis funnet i blod-/plasma prøver samt arter fylogenetisk tilsvarende HBV for kryssreaktivitet. Organismer ble klaggjort i grupper på mellom 4 og 6 organismer og testet ved en høy konsentrasjon. Organismene som ble testet, er vist i *tabell 7*. Det ble ikke observert noen kryssreaktivitet med noen av de testede organismene, noe som bekrefter 100 % analytisk spesifisitet av NeuMoDx HBV Quant Assay.

Tabell 7: Patogener for visning av analytisk spesifisitet – Kryssreaktivitet

Adenovirus 2	Dengue V1	Hepatitt A	HPV 16	Ilheus (ILHV)	Gulfeber
Adenovirus 5	Dengue V2	Hepatitt C	HPV 18	Influenza A	Zikavirus
Banzivirus	Dengue V3	Humant herpesvirus 6a	HSV1	Parvo B19	
BK-virus	Dengue V4	Humant herpesvirus 8	HSV 2	Røde hunder	
Cytomegalovirus	Epstein Barr-virus	HIV 1	HTLV 1	St. Louis-encefalitt	
VZV	Vacciniavirus	HIV 2	HTLV 2	Vestnilvirus	

Interfererende stoffer – kommensale organismer

NeuMoDx HBV Quant Assay ble evaluert for interferens i nærvær av ikke-målorganismer ved hjelp av de samme organismegruppene som dem som ble klargjort for testing av analytisk spesifisitet. Organismene ble enten testet individuelt eller sammen i grupper på 4–6 organismer i screenet HBV-negativt plasma, og tilsatt HBV-kontroller ved en konsentrasjon på 3,7 log₁₀ IE/ml. Det ble ikke observert noen vesentlig interferens i nærvær av disse kommensale organismene som angitt av det minimale kvantifiseringsavviket fra kontrollprøver som inneholdt ingen forstyrrende stoffer [tabell 8]

Tabell 8: Interferenstesting – kommensale organismer

Ikke-målorganismer	Gjennomsnittlig kons. (Log ₁₀ IE/ml)	Skjevhet (Log ₁₀ IE/ml)
Gruppe 1 [BK-virus, Cytomegalovirus, Epstein Barr-virus, Humant herpesvirus 6a, Humant herpesvirus 8]	3,51	0,10
Gruppe 2 [Adenovirus 2, Adenovirus 5, Dengue V2, Dengue V3, Dengue V4]	3,38	0,22
Gruppe 3 [Parvo B19, HTLV 1, HTLV 2, Ilheus (ILHV), Gulfeber, Zikavirus]	3,62	0,06
Gruppe 4 [HPV 16, HPV 18, HSV 1, HSV 2, Dengue V1]	3,57	0,04
Gruppe 5 [St. Louis-encef., VZV, Vacciniavirus, Vestnilvirus]	3,57	0,03
HAV	3,58	0,05
Banzivirus	3,41	0,19
HIV-1	3,47	0,15
HIV-2	3,56	0,05
Røde hunder	3,16	0,44
Influenza A	3,60	0,03
HCV	3,58	0,04

Interfererende stoffer – endogene og eksogene stoffer

Ytelsen til NeuMoDx HBV Quant Test Strip ble vurdert i nærvær av typiske eksogene og endogene forstyrrende stoffer i kliniske HBV-plasmaprøver. Disse inkluderte unormalt høye nivåer av blodkomponenter samt felles antivirale legemidler, som ble klassifisert i *tabell 9*. Hvert av de endogene og eksogene stoffene angitt nedenfor i *tabell 10* ble lagt til i det screenede HBV-negative humane plasmaet tilsatt $3,7 \log_{10}$ IE/ml HBV og data observert for interferens. Dessuten ble vanlig sykdomstilstandsplasma knyttet til hepatitt B-infeksjon også testet for potensiell interferens.

Tabell 9: Interferenstesting – Eksogene stoffer (legemiddelklassifiseringer)

Gruppe	Legemiddel	Klassifisering
1	Zidovudin (ZDV)	Omvendt transkriptase-hemmer
	Saquinavir	HIV-proteasehemmer
	Ritonavir	HIV-proteasehemmer
	Klaritromycin	Antibiotikum
	Interferon alfa-2a	Immunmodulator
	Interferon alfa-2b	Immunmodulator
2	Abakavirsulfat	Omvendt transkriptase-hemmer
	Amprenavir	Proteasehemmer
	Ribavirin	Immunmodulator
	Entecavir	HBV-antiviral
	Fluoksetin	SSRI-antidepressiva
	Valacyklovirhydroklorid	Antiviral
3	Tenofovir disoproksil	HBV-/HIV-antiviral
	Lamivudin	HBV-/HIV-antiviral
	Gansiklovir	CMV-antiviral
	Valganciklovir	CMV-antiviral
	Nevirapin	Omvendt transkriptase-hemmer
4	Efavirenz	Omvendt transkriptase-hemmer
	Lopinavir	Proteasehemmer
	Enfuvirtid	HIV-fusjonshemmer
	Ciprofloksacin	Antibiotikum
	Paroksetin	SSRI-antidepressiva
5	Adefovir (dipivoksil)	Antiviral
	Azitromycin	Antibiotikum
	Indinavirsulfat	HIV-proteasehemmer
	Sertralin	SSRI-antidepressiva

Tabell 10: Interferenstesting – eksogene og endogene stoffer

Endogene	Gjennomsnittlig kons. (log ₁₀ IE/ml)	Skjevhet (Log ₁₀ IE/ml)
Hemoglobin	3,50	0,20
Triglyserider	3,51	0,09
Bilirubin	3,56	0,13
Albumin	3,51	0,17
Eksogene (legemidler)	Gjennomsnittlig kons. (log ₁₀ IE/ml)	Skjevhet (Log ₁₀ IE/ml)
Gruppe 1: Zidovudin (ZDV), Saquinavir, Ritonavir, Klaritromycin, Interferon alfa-2a, Interferon alfa-2b	3,58	0,08
Gruppe 2: Abakavirsulfat, Amprenavir, Ribavirin, Entecavir, Fluoksetin, Valacyklovirhydroklorid	3,56	0,04
Gruppe 3: Tenofovir disoproksil, Lamivudin, Gansiklovir, Valganciklovir, Nevirapin	3,59	0,06
Gruppe 4: Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtid, Ciprofloksacin, Paroksetin,	3,60	0,07
Gruppe 5: Adefovir (dipivoksil), Azitromycin, Indinavirsulfat, Sertralin	3,56	0,19
Sykdomsstatus	Gjennomsnittlig kons. (log ₁₀ IE/ml)	Skjevhet (Log ₁₀ IE/ml)
Antinukleært antistoff (ANA)	3,61	0,10
Systemisk lupus erythematosus (SLE)	3,63	0,10
Revmatoid artritt (RA)	3,57	0,09
HCV-antistoffer	3,58	0,07
HBV-antistoffer	3,64	0,11
Alkoholisk cirrhose	3,68	0,15
Revmatoid faktor (RF)	3,63	0,10
Ikke-alkoholisk steatohepatitt (Non-Alcoholic Steatohepatitis, NASH)	3,49	0,06

Presisjon innenfor laboratoriet

Presisjon av NeuMoDx HBV Quant Test Strip ble bestemt ved testing av et panel med 8 medlemmer av HBV-prøver som favnet genotyper A og C ved hjelp av tre NeuMoDx Systems over 12 dager. Presisjon innen kjøring, innen dag og innen system ble karakterisert, og det samlede standardavviket ble bestemt til å være $\leq 0,22$ Log₁₀ IE/ml. Presisjon mellom operatører ble ikke karakterisert ettersom operatøren ikke spiller noen vesentlig rolle i behandlingen av prøver på NeuMoDx System. Resultater for presisjon innen laboratoriet presenteres i *tabell 11*.

Tabell 11: Studieresultater av presisjon innenfor laboratoriet

PANELMEDLE M	MÅLKONS. [Log ₁₀ IE/ml]	GJ. KONS. [Log ₁₀ IE/ml]	N	Skjevhet	Innen kjøring-SD	Innen dag-SD	SD innen system	Samlet SD
Genotype 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
Genotype 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

Reproduserbarhet mellom partier

Reproduserbarhet mellom partier for NeuMoDx HBV Quant Test Strip ble bestemt ved hjelp av tre forskjellige hovedpartireagenser – NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plate og NeuMoDx HBV Quant Test Strip. Et panel med 8 medlemmer av HBV-genotype A og C ble brukt til å vurdere ytelse. Testing ble utført ved hjelp av de tre hovedpartireagensene på tre NeuMoDx Systems over 6 dager. Variasjonen i og mellom partier ble analysert. Maksimal generell skjevhet var 0,12 log₁₀ IE/ml, og maksimalt generelt SD var 0,24 log₁₀ IE/ml. Det ble ikke funnet noen vesentlig forskjell i ytelse mellom partier ettersom kvantifisering av alle panelmedlemmer var innenfor toleransespesifikasjon. Resultater for reproduserbarhet mellom partier presenteres nedenfor i *tabell 12*.

Tabell 12: Studieresultater av reproduserbarhet mellom partier

PANELMEDLEM	MÅLKONS. [log ₁₀ IE/ml]	GJ. KONS. [log ₁₀ IE/ml]	N	Skjevhet	innen parti SD	mellom partier SD	Totalt SD
Genotype 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
Genotype 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

Effekt av kontroll

Effekten av SPC1 inkludert i NeuMoDx HBV Quant Assay for å rapportere eventuelle prosessrinnfeil eller hemming som påvirker ytelsen til NeuMoDx HBV Quant Assay, ble vurdert ved hjelp av to felles HBV-genotyper (A og C). Testvilkårene er representative for kritiske prosessrinnfeil som potensielt kan skje under prøvebehandling og *kanskje ikke detekteres* av systemsensorene som overvåker NeuMoDx System ytelsesovervåkingssensorer. Effektivitet av SPC1 ble evaluert ved å simulere slike feilbetingelser. Prosessmangler som hadde en bivirkning på HBV-deteksjon/-kvantifisering, ble speilet av ytelse av SPC1-mål (forekomst av hemmer og mangel på Wash-trinn). For vilkår der SPC1-amplifikasjon ikke ble påvirket, ble HBV-målet også vist å være amplifisert innenfor en rapportert kvantifisering på 0,2 Log₁₀ IE/ml av kontrollprøvene.

Tabell 13: Effektivitet av prøveprosesskontrollen

Prosesstrinnsvikt testet	Amplifikasjonsstatus for prøveprosesskontroll	HBV- målamplifikasjonsstatus	Analyseresultat
Presence of Inhibitor (Forekomst av hemmer)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Unresolved (Uløst)
No Wash Delivered (Ingen vaskeløsning levert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Unresolved (Uløst)
No Wash Blowout (Ingen vaskeutblåsning)	Amplified (Amplifisert)	Amplified (Amplifisert)	Positive (Positiv) med kvantifisering innenfor 0,2 Log ₁₀ IE/ml av kontroll

Krysskontaminering

Krysskontamineringsraten for NeuMoDx HBV Quant Assay ble bestemt ved testing av tre sett av HBV-prøver med vekslende høye positive og negative prøver. Samlet involverte dette testing av 144 replikater av en normal, HBV-negativ human EDTA-plasmaprøve og 144 replikater av en høytitret HBV-prøve ved 8,0 Log₁₀ IE/ml. Alle 144 replikater av den negative prøven var negative, noe som viser at ingen krysskontaminering skjedde under prøvebehandling på NeuMoDx System.

Prøvematriseekivalens

Testing ble utført for å bestemme tilsvarende resultater med plasmaprøver samlet inn i prøvetakingsrør med både etylenediamintetraeddiksyre (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) og syrcitratdektrose (Acid Citrate Dextrose, ACD). Dessuten ble testing for å bestemme ekvivalens mellom ferske og frysede prøver utført. Førti individuelle giverprøver fra BioIVT ble samlet inn i både EDTA- og ACD-prøvetakingsrør. Disse ferske prøvene ble tilsatt fire nivåer av HBV-genotype A eller C og testet for ekvivalens. Deretter ble prøvene fryst i minst 24 timer, tint og testet på nytt. Utmerket ekvivalens ble vist mellom ferske og frysede prøver og EDTA- og ACD-prøver ved regresjonsanalyse.

Tabell 14: Regresjonsanalyse av prøveekvivalensresultater

Parameter[Godkjenningskriterier]	Ferskt vs. fryst	ACD vs. K2EDTA
Helling [0,9–1,1]	1,002	0,996
Skjæringspunkt [$< 0,5$]	-0,031	0,018
Bestemmelseskoefisient [$R^2 > 0,95$]	0,995	0,993

Ytterligere testing ble utført for å vise ekvivalent NeuMoDx HBV Quant Assay-ytelse ved hjelp av prøver i primær- vs. sekundærprøvetakingsrør. Paneler med HBV-negative giverprøver tilsatt HBV-mål (AccuPlex™ HBV Control) ble først behandlet fra primærprøverørene. Gjenværende plasma fra hver prøve ble alikvotert i et sekundærprøverør og behandlet på nytt. Ingen signifikant forskjell ble funnet i rapporterte resultater mellom behandling av primær- og sekundærprøverør.

Ekvivalens for NeuMoDx HBV Quant Assay-ytelse i ferske vs. fryste serumprøver ble også evaluert ved hjelp av et panel av individuelle, ferske giverserumprøver tilsatt HBV ved konsentrasjoner i analysens lineære område. Etter behandling av de ferske prøvene ble serumprøvene fryst i minst 24 timer ved $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. De fryste prøvene ble deretter tint og testet på nytt. Lineær ekvivalens mellom identiske ferske og fryste prøver ble evaluert ved hjelp av både Passing-Bablok- og Deming-regresjonsanalyse. Passing-Bablok-regresjonens p-verdi på 0,329 (mer enn 0,05) og Deming-regresjonens korrelasjonskoefisient på 0,989 viser utmerket ekvivalens mellom prøver behandlet ferske og tidligere fryst. Skjevheten mellom fersk og fryst tilstand ble bestemt ved Bland-Altman til å være en ekstremt ubetydelig verdi på $-0,002\text{ Log}_{10}\text{ IE/ml}$ og viser videre ekvivalensen for fersk sammenlignet med fryst prøvebehandling. Korrelasjonen mellom systemrapporterte HBV-konsentrasjoner og forventede konsentrasjoner for både ferske og fryste prøver ble til slutt bestemt ved enkel lineær regresjon med rapporterte R^2 -verdier på henholdsvis 0,991 og 0,985.

Prøvestabilitet

HBV-negative EDTA-plasma- og serumprøver ble tilsatt HBV ved $3,7\text{ Log}_{10}\text{ IE/ml}$ og testet ved forskjellige tidspunkter mens de var lagret på NeuMoDx System – umiddelbart (tid 0), etter 4 timer, etter 8 timer og etter 24 timer. Ingen signifikant forskjell i ytelse ble observert mellom tidspunkter, noe som angir at en prøve kan være lastet inn på NeuMoDx System i opptil 24 timer uten påvirkning på analyseytelse.

Lignende testing ble også utført med plasma- og serumprøver oppbevart i et laboratoriekjøleskap (mellom $2\text{ og }8\text{ }^{\circ}\text{C}$) i opptil 7 dager før testing, og ingen signifikant forskjell i ytelse ble observert.

Til slutt ble prøver lagret ved $\leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ i opptil 6 måneder (plasma) og opptil 4 måneder (serum) før behandling ble testet og viste ingen signifikant forskjell i forhold til ferske prøver. Fryse-/tinesyklusen ble gjentatt og viste igjen ingen endring i ytelse etter 2 fryse-/tinesykluser (plasma) eller 4 fryse-/tinesykluser (serum).

Metodekorrelasjon

Plasmaprøver

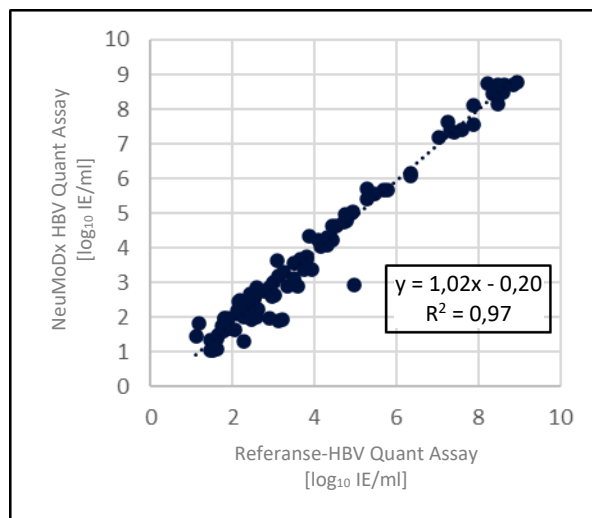
Kvalitativ og kvantitativ ytelse av NeuMoDx HBV Quant Assay ble vurdert mot FDA/CE-godkjente sammenligningsanalyser ved å teste uforynnede kliniske plasmaprøver fra HBV-infiserte pasienter. Testingen ble utført internt på NeuMoDx gjennom en enkeltblindet studie ved hjelp av kliniske prøver oppnådd fra tre uavhengige referanselaboratorier. Resultatene av i alt 308 HBV-positive og -negative prøver ble samlet i den kvalitative analysen for å beregne den kliniske sensitiviteten og spesifisiteten av NeuMoDx HBV Quant Assay. Kvalitativ analyse ble fullført, herunder og med unntak av de positive prøvene under LLoQ, som klassifisering på at slike lave prøver kan variere mellom tester. I alt 97 HBV-positive kliniske prøver innenfor det lineære området felles for begge tester ble brukt til å generere den lineære regresjonen for å definere den kvantitative ytelsen. I tillegg til å gi utmerket sensitivitet og spesifisitet viste NeuMoDx HBV Quant Test Strip utmerket kvantitativ korrelasjon med sammenligningsanalysen. Basert på disse resultatene ble sensitiviteten av NeuMoDx HBV Quant Assay anslått til å være 100 % (CI 96,4–100 %) og spesifisiteten ble anslått til å være 95,6 % (CI 91,9–97,7 %). Disse 95 % konfidensintervallene ble beregnet ved hjelp av 95 % resultatkonfidensintervallmetode iht. EP12-A2, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, Approved Guideline, Vol 28, No 3 (EP12-A2, Brukerprotokoll for evaluering av kvalitativ testytelse, Godkjent veiledning, bd. 28, nr. 3).⁶

Tabell 15: Klinisk sensitivets- og spesifisitetsstatistikk for NeuMoDx HBV Quant Assay for plasmaprøver på NeuMoDx 288 Molecular System

	Referanseanalyse (POS)	Referanseanalyse (NEG)	TOTALT
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	103	9	112
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
TOTALT	103	205	308
SENSITIVITET = 100 % 95 % CI (96,4–100 %) SPESIFISITET = 95,6 % 95 % CI (91,9–97,7 %)			

Tabell 16: Klinisk sensitivets- og spesifisitetsstatistikk av NeuMoDx HBV Quant Assay på NeuMoDx 288 Molecular System med plasmaprøver < LLoQ ekskludert

	Referanseanalyse (POS)	Referanseanalyse (NEG)	TOTALT
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	99	5	104
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
TOTALT	99	201	300
SENSITIVITET = 100 % 95 % CI (96,3–100 %) SPESIFISITET = 97,5 % 95 % CI (94,3–98,9 %)			


Figur 7: Korrelasjonsstudie for kvantitativ metode ved bruk av NeuMoDx HBV Quant Assay

Ytterligere testing ble utført på NeuMoDx 96 Molecular System ved hjelp av 159 resterende kliniske plasmaprøver. Som med forrige testing utført på NeuMoDx 288 ble resultater oppnådd fra NeuMoDx 96 sammenlignet med resultatene rapportert av FDA-godkjente og/eller CE-merkede analyser benyttet av kildelaboratorier for standardtesting. Resultater inkludert sannhetstabell med klinisk sensitivitet og spesifisitet presenteres med 95 % CI i tabell 17.

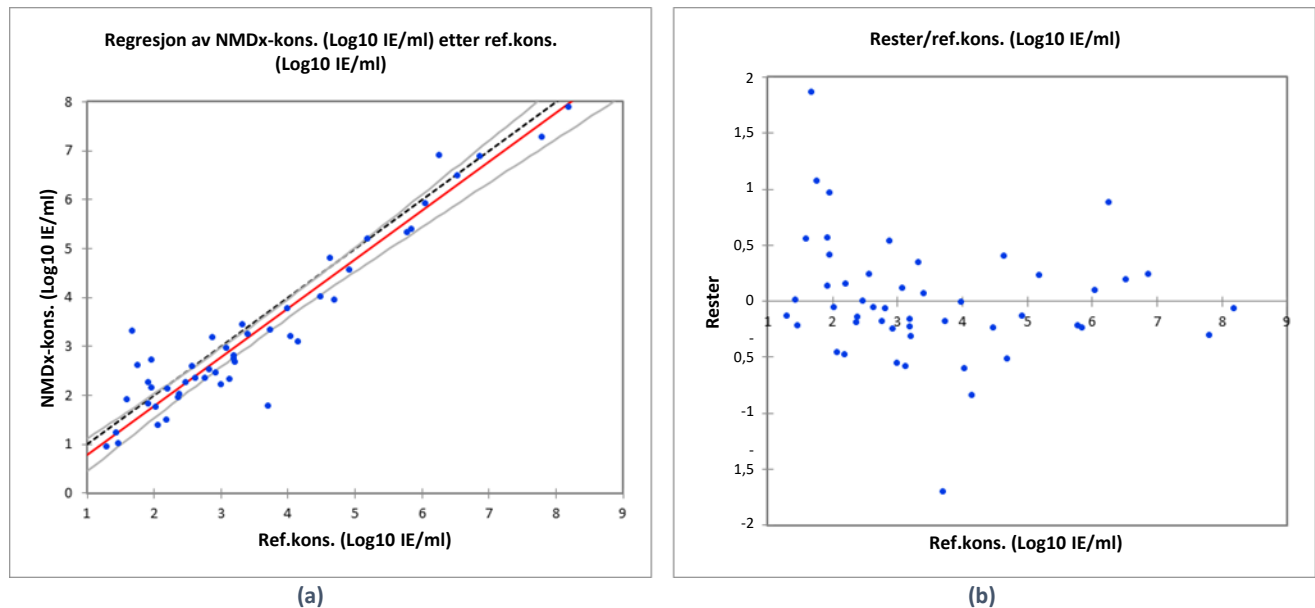
Tabell 17: Sammendrag av klinisk ytelse – NeuMoDx HBV Quant Assay på NeuMoDx 96 Molecular System

	Referanseanalyse (POS)	Referanseanalyse (NEG)	TOTALT
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	60	2	62
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	1	95	96
TOTALT	61	97	158
SENSITIVITET = 98 % 95 % CI (90–100 %) SPEFISITET = 98 % 95 % CI (92–100 %)			

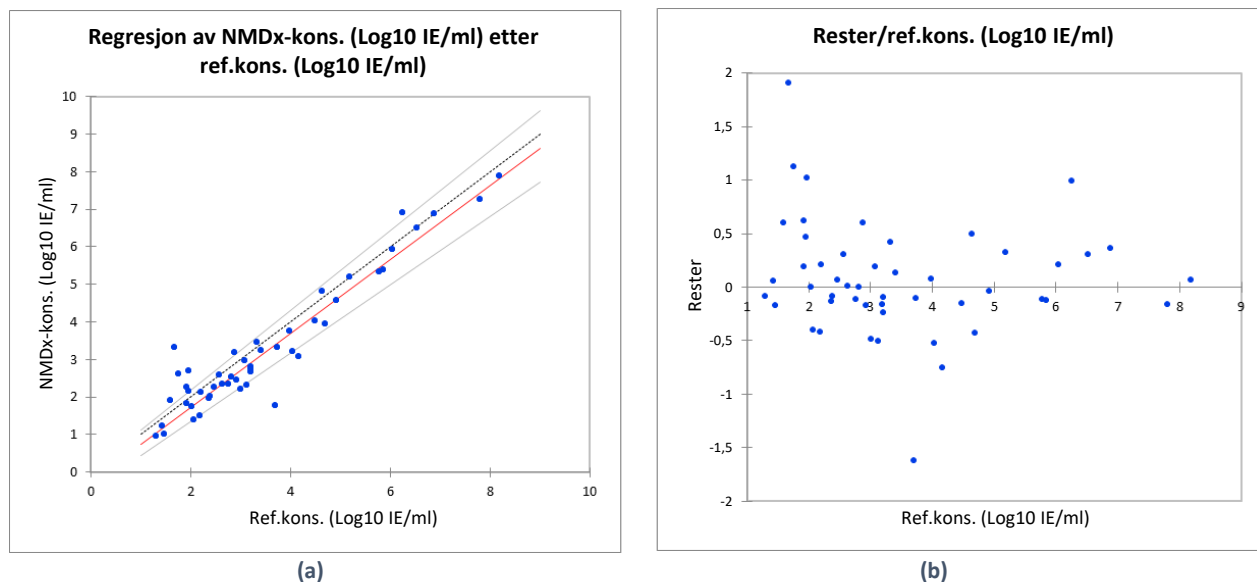
Serumprøver

Kvantitativ ytelse av NeuMoDx HBV Quant Assay ble vurdert mot FDA/CE-godkjente sammenligningsanalyser ved å teste aidentifiserte, resterende HBV-positive serumprøver fra HBV-infiserte pasienter. I alt 66 kliniske kjente HBV-positive serumprøver fra to uavhengige referanselaboratorier ble testet ved hjelp av NeuMoDx HBV Quant Assay, internt hos NeuMoDx. Av de kjente positive serumprøvene som ble testet, ble 58 identifisert som positive resultater, hvorav ni (9) resultater var under LLoQ og over ULQ for NeuMoDx HBV Quant Assay og/eller referansetesten. I alt 49 HBV-positive kliniske prøver innenfor det lineære området felles for begge tester ble brukt til å generere regresjonsanalysene for å definere den kvantitative ytelsen.

Ekvivalens- og restplotter ble generert for å representere korrelasjonen mellom NeuMoDx HBV Quant Assay-konsentrasjoner og referansetestkonsentrasjonsverdiene for alle prøver testet ved hjelp av Deming- og Passing-Bablok-regresjonsanalyse, som presentert på figur 8 og 9. Kvaliteten på Deming-regresjonstilpasningen illustreres av en hellingskoeffisient på 0,99 med en 95 % CI (0,93, 1,07) og et skjæringspunkt (skjevhet) på -0,22 med en 95 % CI (-0,56, 0,12), noe som viser at konsentrasjonsresultatene oppnådd mellom NeuMoDx HBV Quant Assay og referansetester er svært korrelert og med akseptabel skjevhet. Kvaliteten på Passing-Bablok-lineærtillpasningen illustreres av en hellingskoeffisient på 0,99 med en 95 % CI (0,91, 1,06) og et skjæringspunkt (skjevhet) på -0,25 med en 95 % CI (-0,48, 0,06), noe som viser at konsentrasjonsresultatene oppnådd mellom NeuMoDx HBV Quant Assay og referansetester er svært korrelert og med akseptabel skjevhet slik det fremgår av *tabell 18*.



Figur 8: Plott for ekvivalens (a) og rest (b) – kumulativ analyse av NeuMoDx HBV-testresultater sammenlignet med referansetester – Deming-analyse.



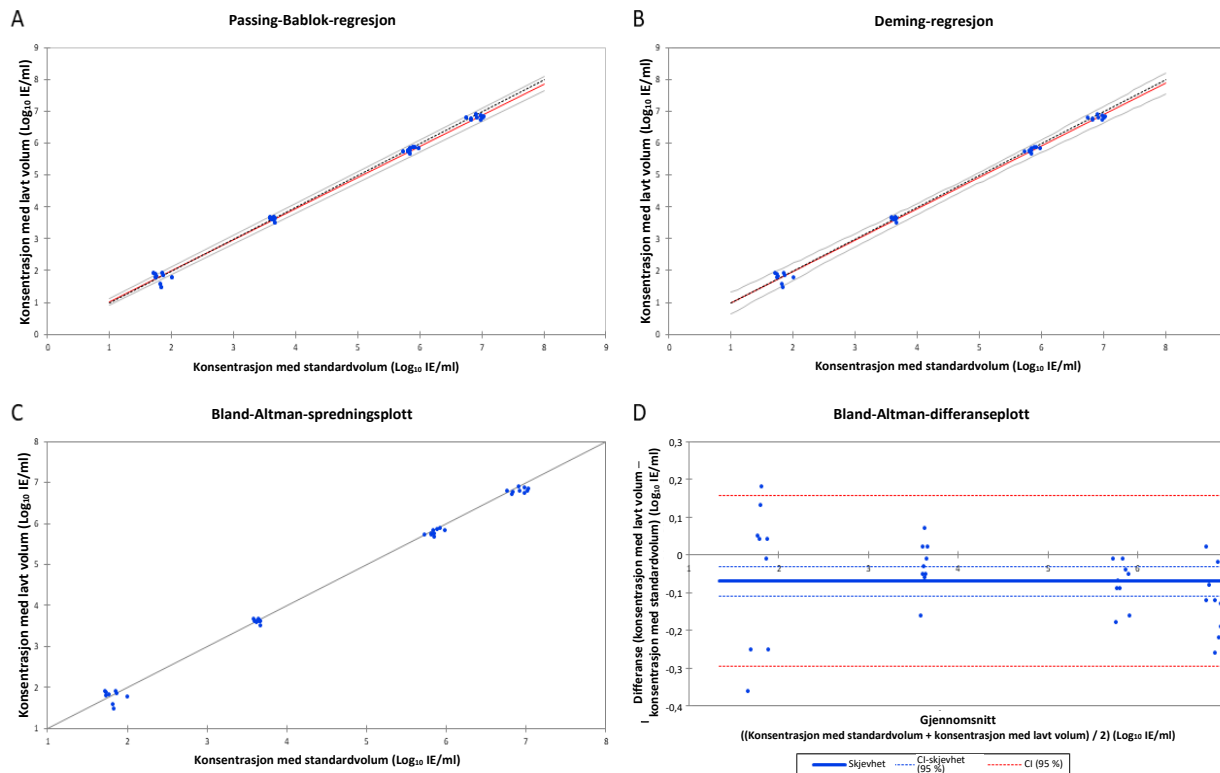
Figur 9: Plott for ekvivalens (a) og rest (b) – kumulativ analyse av NeuMoDx HBV Quant Assay-resultater sammenlignet med referansetester – Passing-Bablok-analyse.

Tabell 18. Sammendrag av Deming og Passing-Bablok lineær regresjonsanalyse for serumprøver

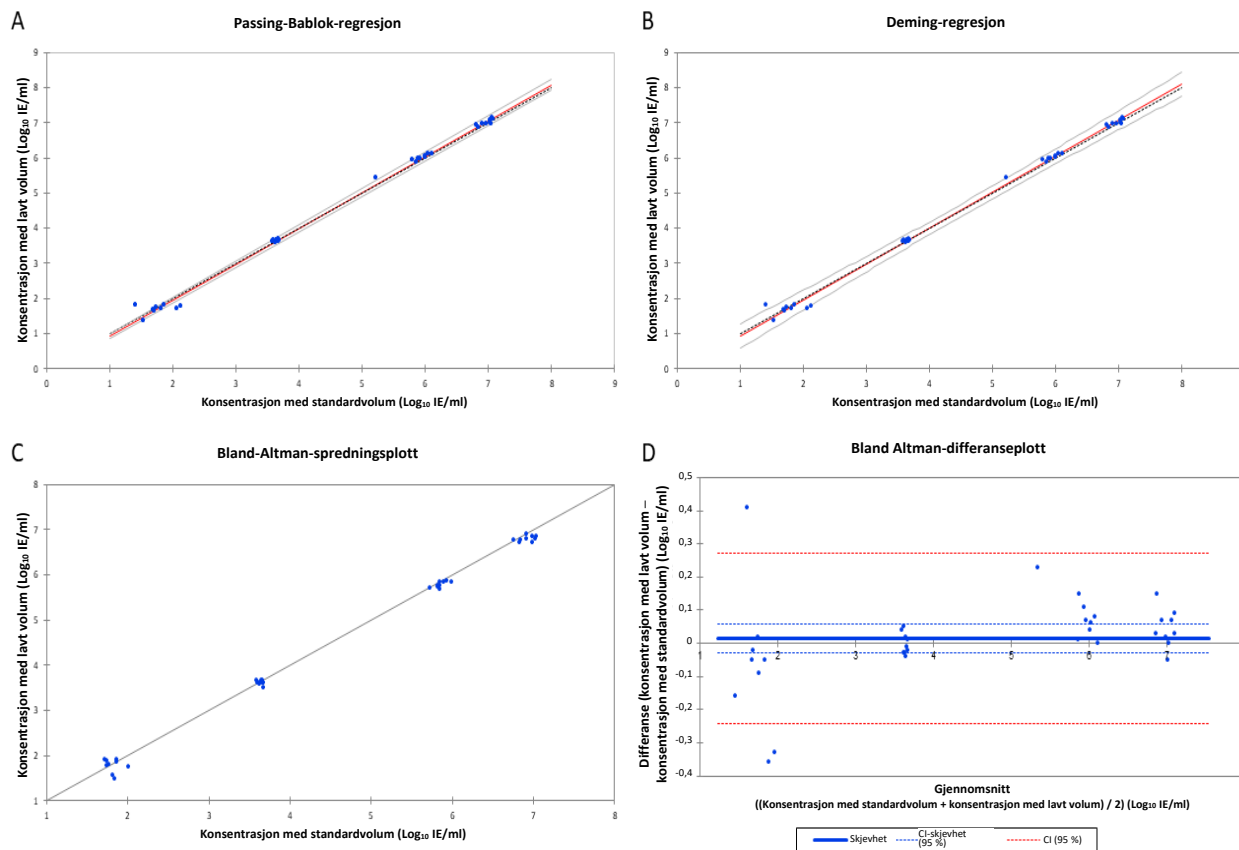
Deming-analyse			Passing-Bablok-analyse		
Skjæringspunkt	Hellingskoeffisient	R2	Skjæringspunkt	Hellingskoeffisient	p-verdi
-0,22 95 % CI (-0,56, 0,12)	0,99 95 % CI (0,93, 1,07)	0,95	-0,25 95 % CI (-0,48, 0,06)	0,99 95 % CI (0,91, 1,06)	0,89

Testing av konstruerte prøver – arbeidsflyt med 200 µl prøvevolum

Kvantitativ korrelasjon mellom arbeidsflyten med 200 µl og 550 µl prøvevolum ble bekreftet ved hjelp av et panel bestående av individuelle, HBV-negative plasma- og serumprøver tilsatt fire kjente nivåer med HBV-kontrollmateriale, som er sporbar til WHO's 4. internasjonale standard for HBV-DNA for nukleinsyrestester. Disse individuelle plasma- og serumprøvene ble behandlet ved hjelp av både arbeidsflyten med 550 µl og 200 µl prøvevolum for i alt 288 utførte tester. Ekvivalenssammenligninger mellom konsentrasjonen rapportert av NeuMoDx-programvaren for arbeidsflyten med 200 µl og 550 µl med det konstruerte panelet ble utført med individuelle prøver. Deming- og Passing-Bablok-regresjonsanalyse hadde en helling på 0,985 og 0,998 med skjæringspunkter på henholdsvis -0,001 og 0,053 i plasma og 1,024 og 1,018 med skjæringspunkter på henholdsvis 0,095 og 0,070 i serum og viste utmerket samsvar for HBV-quantifiseringer mellom de to behandlingvolumene. En Bland-Altman-sammenligning viste en minimal skjevhet mellom de to arbeidsflytene. Enkle lineære regresjonsanalyser med den forventede konsentrasjonen og den rapporterte konsentrasjonen for arbeidsflyten med 200 µl hadde dessuten en helling på 1,047 og en korrelasjonskoeffisient på 0,998 (plasma) og på 1,113 og 0,992 (serum), noe som videre støtter utmerket ytelse ved hjelp av arbeidsflyten med 200 µl prøvevolum for NeuMoDx HBV Quant Assay. Resultater av disse studiene er oppsummert nedenfor på figur 10 og figur 11.



Figur 10: Ekvivalensplottssammenligninger av rapporterte konsentrasjoner med lavt volum med rapporterte konsentrasjoner med standardvolum.
 A) Passing-Bablok-regresjon. B) Deming-regresjon. C) Bland-Altman-spredningsplott D) Bland-Altman-differanseplott – plasmaprøver



Figur 11: Ekvivalensplottssammenligninger av rapporterte konsentrasjoner med lavt volum med rapporterte konsentrasjoner med standardvolum. A) Passing-Bablok-regresjon. B) Deming-regresjon. C) Bland-Altman-spredningsplott D) Bland-Altman-differanseplott – serumprøver

REFERANSER

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.

VAREMERKER

NeuMoDx™ er et varemerke som tilhører NeuMoDx Molecular, Inc.
 NeuDry™ er et varemerke som tilhører NeuMoDx Molecular, Inc.
 TaqMan® er et registrert varemerke som tilhører Roche Molecular Systems, Inc.

Alle andre produktnavn, varemerker og registrerte varemerker som kan forekomme i dette dokumentet, tilhører respektive eiere.

SYMBOLFORKLARING

R only Reseptpliktig



Produsent



Medisinsk utstyr til *in vitro*-diagnostikk



Autorisert representant i EU



Katalognummer



Partinummer



Siste forbruksdato



Temperaturbegrensning



Må ikke gjenbrukes



Inneholder nok til <n> tester



Se bruksanvisningen



Forsiktig



Biologiske risikoer



CE-merke



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

Teknisk støtte / overvåkingsrapportering: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents