

REF 201300 NeuMoDx™ HBV Quant Test Strip

R only

ВНИМАНИЕ: Само за износ в САЩ

IVD За *инвитро* диагностика със системи NeuMoDx 288 и NeuMoDx 96 Molecular System

 За актуализации на листовката посетете: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Подробни указания ще намерите в Ръководството за оператора на NeuMoDx 288 Molecular System; ном. № 40600108

Подробни указания ще намерите в Ръководството за оператора на NeuMoDx 96 Molecular System; ном. № 40600317

ПРЕДВИДЕНА УПОТРЕБА

NeuMoDx HBV Quant Assay представлява автоматизиран, инвитро тест за амплификация на нуклеинови киселини за количественото определяне на ДНК на вирус на хепатит В (HBV) в проби от човешка плазма и серум за генотипове на HBV от А до Н на заразени с HBV лица. NeuMoDx HBV Quant Assay се изпълнява на NeuMoDx 288 Molecular System и NeuMoDx 96 Molecular System (система(и) NeuMoDx) и включва автоматизирано извличане на ДНК за изолиране на прицелна нуклеинова киселина от пробата и полимеразна верижна реакция в реално време (Quantitative Polymerase Chain Reaction, qPCR) с прицелване към силно консервираните секвенции в генома на вируса на хепатит В.

NeuMoDx HBV Quant Assay е предвиден за употреба като помощно средство при контрола на пациенти с HBV инфекции. Резултатите от NeuMoDx HBV Quant Assay трябва да се интерпретират в контекста на всички съответни клинични и лабораторни констатации. NeuMoDx HBV Quant Assay не е предвиден за употреба като тест за скрининг за кръв или кръвни продукти или като инструмент за диагностика на клиничното състояние на HBV инфекция.

РЕЗЮМЕ И ОПИСАНИЕ

Човешка цяла кръв, взета в стерилни епруветки за взимане на кръв, които съдържат етилендиаминететраоцетна киселина (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) или цитрат-декстроза (Acid Citrate-Dextrose, ACD) като антикоагулант, или в епруветки за подготовка на плазма (Plasma Preparation Tubes, PPT), може да се използва за подготовката на плазма, докато серум трябва да се взима в епруветки за взимане на серум или епруветки със серумен сепаратор (Serum Separation Tubes, SST). При подготовката за тестването плазма или серум във вторична епруветка за проба или фракционирана кръв в първична епруветка с проба, съвместими с NeuMoDx System, се зареждат на NeuMoDx System на определения носач за епруветки с проби. За всяка проба аликвотна част от плазма или серум се смесва NeuMoDx Lysis Buffer 1 и NeuMoDx System автоматично извършва всички необходими стъпки за извличането на прицелната нуклеинова киселина, подготовката на изолираната ДНК за амплификация с PCR в реално време и ако е налице, амплифицирането и откриването на продуктите на амплификацията (участъци от генома на HBV с прицелна нуклеинова киселина в силно консервирания регион, кодиращ *X протеин* и *preC протеин*). NeuMoDx HBV Quant Assay включва контрола за обработка на ДНК аликвотни части (Sample Process Control, SPC1), който помага при следенето за наличието на потенциално инхибиторни вещества или проблеми в NeuMoDx System или реактивите, евентуално възникнали по време на процедурите за извличане и амплификация.

Вирусът на хепатит В (Hepatitis B Virus, HBV) е причинителят на чернодробна инфекция с хепатит В и е проблем на здравеопазването в световен мащаб. Хепатит В може да причини остър хепатит или да прогресира до хронично заболяване, което води до цироза или рак на черния дроб. Рискът от развиване на хронично заболяване е свързан най-вече с възрастта; ако вирусът се предаде при раждането, има > 90% шанс от развитие на хронично заболяване, докато заразен възрастен има 2 – 6% шанс от развитие на хронично заболяване.¹ HBV се предава чрез контакт на кръв с кръв на заразено лице, по полов път, използване на една и съща игла със заразено лице при интравенозна употреба на наркотици или вертикално предаване от майка на новородено по време на раждане. В Съединените щати приблизително 850 000 души живеят с HBV инфекция, като повечето нови инфекции са предадени по полов път или чрез инжектиране на наркотици.² За Африка и Западния тихоокеански район е известно, че близо 5% от населението са заразени. През 2015 г. в световен мащаб HBV инфекция е причинила 885 000 смъртни случая – предимно от цироза или хепатоцелуларен карцином.³ Има ваксина с 95% ефективност при превенцията на HBV инфекция, поради което всяка година броят на диагностицираните случаи намалява.⁴

Текущият медицински стандарт за лечение на HBV инфекция е антивирусна терапия, която изисква постоянно следене на желателния ход на лечението. Следенето на лечението с NeuMoDx HBV Quant Assay може да осигури на лекарите необходимата информация за контрола на пациенти с HBV инфекции.

ПРИНЦИПИ НА ПРОЦЕДУРАТА

Анализът NeuMoDx HBV Quant Assay съчетава автоматизирано извличане, амплификация и откриване на ДНК с PCR в реално време. Проби от цяла кръв се взимат в епруветки с EDTA, ACD или епруветки PPT за подготовката на плазма и/или в епруветки SST за подготовката на серум. Първичната (фракционирана) кръвна проба или аликвотна част от плазма/серум в съвместима вторична епруветка за проба се етикетира с баркод и се поставя в NeuMoDx System. NeuMoDx System автоматично аспирира аликвотна част от плазмата/серума за смесване с NeuMoDx Lysis Buffer 1 и реактивите, съдържащи се в NeuMoDx Extraction Plate, за да започне обработката. NeuMoDx System автоматизира и интегрира извличането и концентрирането на ДНК, подготовката на реактивите, амплификацията на нуклеиновите киселини и откриването на прицелните секвенции с PCR в реално време. Включената контрола за обработка на аликвотни части (Sample Process Control, SPC1) подпомага следенето за наличие на инхибиращи вещества и проблеми, свързани със системата, процеса или реактивите. След зареждането на пробата в NeuMoDx System не е необходима намеса на оператора.

NeuMoDx System използва комбинация от топлина, литичен ензим и реактиви за извличане, за да извършва автоматично лизиране, извличане на ДНК и отстраняване на инхибитори. Отделените нуклеинови киселини се улавят от парамагнитни частици. Частиците със свързаната нуклеинова киселина се зареждат в NeuMoDx Cartridge, където несвързаните елементи се отмиват с NeuMoDx Wash Reagent. Свързаната ДНК след това се елуира с NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx System използва елуираната ДНК, за да рехидрира патентовани реактиви за амплификация NeuDry™, съдържащи всички необходими елементи за амплификация на прицелните нуклеинови киселини за HBV и SPC1. Това позволява едновременна амплификация и откриване както на прицелните, така и на контролните секвенции от ДНК. След разтварянето на сухите реактиви за PCR, NeuMoDx System накапва подготвената смес за PCR в една камера за PCR (за всяка отделна проба) на NeuMoDx Cartridge. Амплификацията и откриването на контролната и прицелната (ако има) секвенции от ДНК се извършват в камерата за PCR. NeuMoDx Cartridge е конструирана да задържа ампликона след PCR, с което на практика се елиминира рискът от контаминация след амплификацията.

Амплифицираните прицелни нуклеинови киселини се откриват в реално време посредством химични процеси с хидролизираща сонда (TaqMan®) с флуорогенни молекули от олигонуклеотидната сонда, специфични за ампликоните на съответните им прицелни нуклеинови киселини. Сондите TaqMan се състоят от флуорофор, ковалентно свързан с край 5' на олигонуклеотидната сонда, и гасител в край 3'. Докато сондата е цяла, флуорофорът и гасителят са близо един до друг, което позволява на молекулата на гасителя да потисне флуоресценцията, излъчвана от флуорофора чрез Резонансно предаване на енергия на Фьорстер (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Сондите TaqMan са конструирани, така че да хибридизират в определен участък от ДНК, амплифициран със специфичен набор от праймери. Докато Таq ДНК полимеразата изтегля праймера и синтезира новата верига, действието на екзонуклеазата от край 5' до край 3' на Таq ДНК полимеразата разгражда хибридизираната към образеца сонда. Разграждането на сондата отделя флуорофора и го отдалечава от гасителя, при което се преодолява гасящото действие поради FRET и се създава възможност за откриването на флуорофора. Полученият флуоресцентен сигнал, засечен от NeuMoDx System при количествена PCR чрез апарата за циклична топлинна обработка, е правопрпорционален на отделения флуорофор и е в корелация с наличното количество прицелна нуклеинова киселина.

Сонда TaqMan, обозначена с флуорофор (възбуждане: 490 nm и излъчване: 521 nm) в край 5' и гасител в край 3', се използва за откриване на ДНК на HBV. За откриването на SPC1 сондата TaqMan е белязана с друг флуоресцентен оцветител (възбуждане: 535 nm и излъчване: 556 nm) в край 5' и гасител в край 3'. Софтуерът на NeuMoDx System следи флуоресцентния сигнал, излъчван от сондите TaqMan в края на всеки амплификационен цикъл. Когато амплификацията приключи, софтуерът на NeuMoDx System анализира данните и съобщава окончателен резултат (POSITIVE (ПОЛОЖИТЕЛЕН)/NEGATIVE (ОТРИЦАТЕЛЕН)/INDETERMINATE (НЕОПРЕДЕЛЕН)/UNRESOLVED (НЕПОЛУЧЕН)/NO RESULT (НЯМА РЕЗУЛТАТ)). Ако резултатът е положителен и изчислената концентрация е в границите на количественото определяне, софтуерът на NeuMoDx System дава също така количествена стойност за аликвотната част.

РЕАКТИВИ/КОНСУМАТИВИ

Доставени материали

№	Съдържание	Единици на опаковка	Брой тестове на единица	Теста на опаковка
201300	NeuMoDx HBV Quant Test Strip <i>Сухи реактиви за PCR, съдържащи специфични за HBV и SPC1 сонда TaqMan и праймери</i>	6	16	96

Необходими, но непредоставени материали (предлагат се отделно от NeuMoDx)

№	Съдържание
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Сухи парамагнитни частици, литичен ензим и контроли за обработка на аликвотни части</i>
800100 ил и 800102	Калибратори NeuMoDx HBV Calibrator <i>Набори за еднократна употреба от високи и ниски калибратори за HBV за установяване на валидността на калибрационната крива</i>
900101 ил и 900102	Външни контроли NeuMoDx HBV External Control <i>Набори за еднократна употреба от положителни и отрицателни контроли</i>
400400	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton® CO-RE/CO-RE II връхчета (300 µL) с филтри
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II връхчета (1000 µL) с филтри

Необходима апаратура

NeuMoDx 288 Molecular System [№ 500100] или NeuMoDx 96 Molecular System [№ 500200]

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

- NeuMoDx HBV Quant Test Strip е само за *инвитро* диагностика със системи NeuMoDx System.
- Не използвайте реактивите и консумативите след посочения срок на годност.
- Не използвайте реактиви, ако защитният им печат е скъсан или опаковката е повредена при доставката им.
- Не използвайте консумативи или реактиви с отворен или повреден защитен плик при получаването.
- Трябва да има валидна калибрация на теста (генерирана от обработка на високи и ниски калибратори от калибратори NeuMoDx HBV Calibrator), преди да могат да се генерират резултати от тестовете за клинични аликвотните части.
- Външните контроли NeuMoDx HBV External Control трябва да се обработват на всеки 24 часа по време на тестването с NeuMoDx HBV Quant Assay.
- Минималният обем от пробата зависи от размера на епруветката, носача за епруветки с проби и обработката на обемите от проби, както е описано по-долу. Обем, по-малък от посочения минимум, може да доведе до грешка „Quantity Not Sufficient“ (Недостатъчно количество).
- Употребата на проби, съхранявани при неподходящи температури или след указаните срокове за съхранение, може да даде невалидни или грешни резултати.
- Замърсяване с микроорганизми и дезоксирибонуклеаза (ДНКаза) на всички реактиви и консумативи трябва да се предотвратява във всеки един момент. Употребата на несъдържащи ДНКаза стерилни преносни пипети е препоръчителна, ако се използват вторични епруветки. За всяка проба използвайте нова пипета.
- За да предотвратите замърсяване, не пипайте NeuMoDx Cartridge след амплификацията. В никакъв случай не изваждайте касетите NeuMoDx Cartridge от съда за биорискови отпадъци (NeuMoDx 288 Molecular System) или от кошчето за биорискови отпадъци (NeuMoDx 96 Molecular System). NeuMoDx Cartridge е конструирана за предотвратяване на замърсяване.
- В лабораториите, в които се извършват и тестове с PCR с отворени епруветки, трябва да се вземат мерки NeuMoDx HBV Quant Test Strip, допълнителните консумативи и реактиви, необходими за тестването, личните предпазни средства като ръкавиците и лабораторните престилки и NeuMoDx System да не се замърсяват.
- Чисти ръкавици от нитрилен каучук без талк следва да се носят при боравенето с реактиви и консумативи за NeuMoDx. Трябва да се внимава да не се докосва горната повърхност на NeuMoDx Cartridge, повърхността на запечатващото фолио на NeuMoDx HBV Quant Test Strip и NeuMoDx Extraction Plate или горната повърхност на NeuMoDx Lysis Buffer 1; при боравенето с консумативите и реактивите може да се докосват само страничните повърхности.
- Информационни листове за безопасност (ИЛБ) са предоставени за всеки съответен реактив (ако е необходимо) на www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- След извършване на теста измивайте грижливо ръцете си.
- Не пипетирайте с уста. Не пушете, не пийте и не се хранете на места, на които се борави с проби или реактиви.
- С пробите винаги трябва да се борави като с инфекциозни и в съответствие с процедурите за безопасност в лабораторията като описаните в *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁵ и в документ M29-A4 на CLSI.⁵
- Изхвърляйте неизползваните реактиви и отпадъците в съответствие с националните, федералните, регионалните, държавните и местните разпоредби.
- Само за еднократна употреба.

СЪХРАНЕНИЕ, БОРАВЕНЕ И СТАБИЛНОСТ НА ПРОДУКТЪТЕ

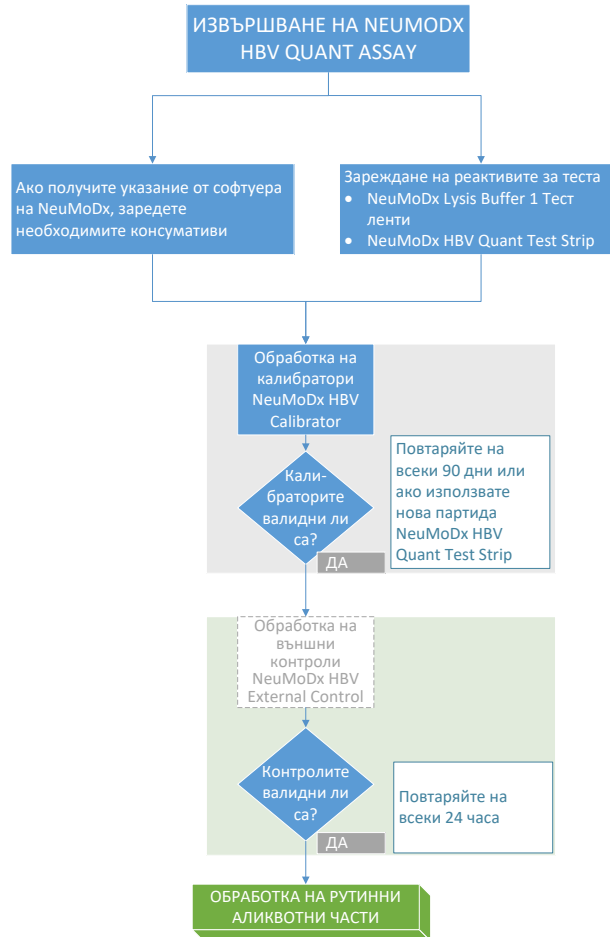
- Тест-лентите NeuMoDx HBV Quant Test Strip са стабилни в първичната опаковка до посочения срок на годност на фабричния етикет на продукта, когато се съхраняват при температури в диапазона от 4 до 28 °C.
- Не използвайте консумативи или реактиви след посочения срок на годност.
- Не използвайте за тестове продукт с видимо увредена първична или вторична опаковка.
- Не зареждайте отново продукт за тестове, който е бил зареден преди това в друга NeuMoDx System.
- След като бъде заредена, NeuMoDx HBV Quant Test Strip може да остане в NeuMoDx System 62 дни. Оставащият срок на годност на заредените тест-ленти се проследява от софтуера и се съобщава на потребителя в реално време. Системата ще съобщи, когато трябва да се извади тест-лента, използвана по-дълго от допустимия срок.

ВЗЕМАНЕ, ПРЕНАСЯНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИ

1. С всички проби, калибратори и контроли трябва да се борави като с материал, който може да предава инфекциозни агенти.
2. Не замразявайте цяла кръв или проби, съхранявани в първични епруветки.
3. За да се подготвят проби от плазма, цяла кръв трябва да се взема в стерилни епруветки с EDTA или ACD като антикоагуланти. Спазвайте инструкциите за подготовка и съхранение на производителя на епруветките за взимане на проби.

4. За да се подготвят проби от серум, цяла кръв трябва да се взима в епруветки SST. Спазвайте инструкциите за подготовка и съхранение на производителя на епруветките за взимане на проби.
5. Пробите могат да се тестват в първични епруветки за вземане на проби или вторични епруветки за проби. Препоръки за тестване в първични епруветки:
 - a. Проби от плазма: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD #368589) или BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
 - b. Проби от серум: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD #367820) или BD Vacutainer SST™ Tube (BD #367988).
6. Подготвените проби може да се съхраняват в NeuMoDx System до 8 часа за плазма и 24 часа за серум преди обработка. При необходимост от по-дълго време за съхранение се препоръчва пробите да бъдат поставени в хладилник или фризер като вторични аликвотни части.
7. Подготвените проби трябва да се съхраняват при температури в диапазона 2 – 8 °C не повече от 7 дни преди тестването и максимум 8 часа за плазма и 24 часа за серум при стайна температура.
8. Подготвените проби може да се съхраняват при ≤ -20 °C до 4 седмици (серум) или 6 месеца (плазма) преди обработка; замразени проби не трябва да се подлагат на повече от 2 цикъла замразяване/размразяване за плазма и 4 цикъла замразяване/размразяване за серум преди употреба.
 - a. Ако аликвотните части са замразени, ги оставете да се размразят напълно при стайна температура (15 – 30 °C); развъртете аликвотната част, за да се разпредели равномерно.
 - b. След като замразените аликвотни части се размразят, трябва да се тестват в рамките на 24 часа.
 - c. Замразяване на плазма/серум в първични епруветки за взимане на проби не е препоръчително.
9. Ако се налага транспортиране на проби, те трябва да бъдат опаковани и етикетирани в съответствие с действащите държавни и/или международни разпоредби.
10. Поставяйте ясни и четливи етикети на пробите, като посочите, че те са за тестване за HBV.
11. Преминете към раздел *Подготовка на теста*.

Общата процедура за извършването на NeuMoDx HBV Quant Assay е резюмирана по-долу на *Фигура 1*.



Фигура 1: Процедура за извършване на NeuMoDx HBV Quant Assay

ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

Подготовка на теста

NeuMoDx HBV Quant Assay може да се извършва директно от първични епруветки за взимане на кръв или аликвотни части от пробата във вторични епруветки. Обработката може да се извършва с една от двете процедури за обработка на обеми на проба – процедура за обработка на обем 550 μ L или процедура за обработка на обем 200 μ L. Поставете етикета с баркода за пробата на епруветка за проби, съвместима с NeuMoDx System.

1. Поставете етикета с баркода за пробата на епруветка за проби, съвместима с NeuMoDx System. Първичната епруветка за взимане на кръв може да се етикетира и постави директно в носача за епруветки с проби за 32 епруветки след центрофугиране съгласно указанията на производителя. Другият вариант е аликвотна част от плазмата/серума да се прехвърли във вторична епруветка за обработка на NeuMoDx System.
2. Ако тествате пробата в първичната епруветка за взимане на проба, поставете епруветката с баркода в носача за епруветки с проби и извадете запушалката преди зареждането в NeuMoDx System. Минималните обеми **над** гела/левкоцитния слой са дадени по-долу и ще бъдат спазени, ако пробите се взимат и обработват по инструкциите на производителя на епруветката. Работните характеристики не се гарантирани при неправилно взети проби.

Вид епруветка	Минимален необходим обем проба	
	Процедура за обем 550 mL	Процедура за обем 550 mL
SST – 3,5 mL	1550 mL	1550 mL
PPT/SST – 5,0 mL	1550 mL	1550 mL
PPT/SST – 8,5 mL	1550 mL	1550 mL
K ₂ EDTA/серум – 4,0 mL	1550 mL	1550 mL
K ₂ EDTA/серум – 6,0 mL	1550 mL	1550 mL
K ₂ EDTA/серум – 10,0 mL	1550 mL	1550 mL

3. Ако се използва вторична епруветка, прехвърлете алиquotна част от плазмата/серума в епруветката с баркод за проба, съвместима с NeuMoDx System, като спазвате посочените по-долу обеми:

Носач за епруветки с проби	Размер на епруветката	Минимален необходим обем проба	
		Процедура за обем 550 mL	Процедура за обем 550 mL
32-Tube Specimen Tube Carrier (Носач за епруветки с проби за 32 епруветки)	11 – 14 mm диаметър на 60 – 120 mm височина	1550 mL	1550 mL
24-Tube Specimen Tube Carrier (Носач за епруветки с проби за 24 епруветки)	14,5 – 18 mm диаметър на 60 – 120 mm височина	1550 mL	1550 mL
Low Volume Specimen Tube Carrier (Носач за епруветки с проби с малък обем)	1,5-mL епруветка с конично дъно за микроцентрофуга	1550 mL	1550 mL

Работа със системи NeuMoDx System

Подробни указания ще намерите в Ръководствата за оператора на NeuMoDx 288 и 96 Molecular System (ном. № 40600108 и 40600317)

- Заредете заявката за теста на NeuMoDx System според процедурата за обработка на съответния обем от пробата и типа на епруветката за проби:
 - 550 µL обем от пробата се тества, ако видът на пробата е дефиниран като „Plasma“ (Плазма) или „Serum“ (Серум)
 - 200 µL обем от пробата се тества, ако видът на пробата е дефиниран като „Plasma2“ (Плазма 2) или „Serum2“ (Серум 2)
 - Ако не е дефиниран в заявката за теста, по подразбиране ще се използва вид проба **Plasma** (Плазма) в **Secondary Tube** (Вторична епруветка).
- Заредете един или повече носачи на NeuMoDx System Test Strip с NeuMoDx HBV Quant Test Strip и използвайте сензорния екран, за да заредите носачите с тест-лентите в NeuMoDx System.
- Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, добавете необходимите консумативи в носачите за консумативи на NeuMoDx System и използвайте сензорния екран, за да заредите носачите в NeuMoDx System.
- Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, сменете NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, изпразнете бутилката с отпадъци от запълването, съда за биорискови отпадъци (само за система NeuMoDx 288 Molecular System), кошчето за отпадъци от връхчета (само за NeuMoDx 96 Molecular System) или кошчето за биорискови отпадъци (само за NeuMoDx 96 Molecular System), ако е необходимо.
- Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, обработете калибратори NeuMoDx HBV Calibrator и/или външни контроли NeuMoDx HBV External Control. Допълнителна информация за калибраторите и контролите може да намерите в раздела *Обработка на резултатите*.
- Заредете епруветките за проби/калибратори/контроли в носач за епруветки с проби и извадете запушалките от всички епруветки.
- Поставете носача за епруветки с проби на полицата на автоматичното зареждащо устройство и използвайте сензорния екран, за да заредите носача(ите) в NeuMoDx System. Това ще стартира обработката на заредените проби за посочените тестове, стига в системата да има валидна заявка за теста.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. NeuMoDx HBV Quant Test Strip може да се използва само на NeuMoDx System.
2. Работните характеристики на NeuMoDx HBV Quant Test Strip са установени за проби от плазма, подготвени с EDTA/ACD като антикоагуланти, или проби от серум, подготвени в епруветки със серумен сепаратор. Употребата на NeuMoDx HBV Quant Test Strip с други източници не е проверена и работните характеристики не са известни за други видове проби.
3. Работните характеристики на NeuMoDx HBV Quant Test Strip са установени за тестване с първични епруветки BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tube, BD Vacutainer PPT Plasma Preparation Tube, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube и BD SST Tube.
4. При използване на процедура за обработка на обем 200 µL от пробата е наблюдавано слабо повишение на границата на откриване и долната граница на количествено определяне на NeuMoDx HBV Quant Assay.
5. NeuMoDx HBV Quant Assay се използва само за количествено следене. Той не е предвиден за качествено откриване.
6. NeuMoDx HBV Quant Assay не трябва да се използва с алиquotни части от хепаринизирани човешки проби.
7. Тъй като откриването на HBV зависи от броя на частиците прицелна ДНК в алиquotната част, надеждните резултати зависят от правилното взимане, боравене и съхранение на пробите.
8. Калибраторите NeuMoDx HBV Calibrator и външните контроли NeuMoDx HBV External Control трябва да се обработват съгласно препоръките в листовките в опаковките при получаване на съответното указание от софтуера на NeuMoDx System преди обработката на рутинни клинични алиquotни части.
9. Грешни резултати от тестовете могат да се получат от неправилно взимане, боравене и съхранение на проби, техническа грешка или объркване на епруветки с проби. Освен това грешни отрицателни резултати може да се получат, защото броят на вирусните частици в алиquotната част е под границата на откриването на NeuMoDx HBV Quant Assay.
10. С NeuMoDx System може да работи само персонал, обучен да работи на NeuMoDx System.
11. Ако не се амплифицират прицелните нуклеинови киселини както за HBV, така и за SPC1, ще бъде съобщен невалиден резултат (Indeterminate (Неопределен), No Result (Няма резултат) или Unresolved (Неполучен)) и тестът трябва да се повтори.
12. Ако резултатът от NeuMoDx HBV Quant Assay е Positive (Положителен), но стойността на количественото определяне е извън границите, NeuMoDx System ще съобщи дали открият HBV и под долната граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ), или над горната граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
13. В случай че открият HBV е под LLoQ, анализът може да се повтори (ако е желателно) с друга алиquotна част от пробата.
14. В случай че открият HBV е над ULoQ, NeuMoDx HBV Quant Assay трябва да се повтори с разрежена алиquotна част от първоначалната проба. Препоръчителното разреждане е 1:1000 в HBV-отрицателна плазма или Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Концентрацията на първоначалната проба може да се изчисли по следния начин:
$$\text{концентрацията на първоначалната проба} = \text{Log}_{10}(\text{фактора на разреждане}) + \text{съобщената концентрация на разредената алиquotна част}$$
15. Инцидентното наличие на инхибитори на PCR в плазмата може да доведе до грешка в количественото определяне на системата. В този случай се препоръчва тестът да се повтори със същата проба, разрежена в Basematrix при съотношение 1:10 или 1:100.
16. Положителен резултат не означава непременно наличие на жизнеспособни организми. Положителен резултат обаче говори за вероятно наличие на ДНК на вируса на хепатит В.
17. Делеции или мутации в консервираните региони, в които се прицелва NeuMoDx HBV Quant Assay, може да повлияят на откриването или да доведат до грешен резултат с NeuMoDx HBV Quant Test Strip.
18. Резултатите от NeuMoDx HBV Quant Assay трябва да се използват в допълнение към клиничните наблюдения и останалата информация, с която лекарят разполага; анализът не е предвиден за диагностика на инфекция.
19. За да се предотврати замърсяване, се препоръчва спазване на добрата лабораторна практика, включително смяната на ръкавиците преди боравене с проба от пациент.

ОБРАБОТКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Достъпните резултати може да се разглеждат и отпечатват от раздела „Results“ (Резултати) в прозореца „Results“ (Резултати) на сензорния екран на NeuMoDx System. Резултатите от NeuMoDx HBV Quant Assay се генерират автоматично от софтуера на NeuMoDx System с алгоритъм за взимане на решение и параметри за обработка на резултатите, посочени във файла с дефиниция за анализа на NeuMoDx HBV Quant Assay (HBV ADF). Един резултат може да бъде съобщен като Negative (Отрицателен), Positive (Положителен) със съобщена концентрация на HBV, Positive (Положителен) над ULoQ, Positive (Положителен) под LLoQ, Indeterminate (Неопределен) (IND), Unresolved (Неполучен) (UNR) или No Result (Няма резултат) (NR) в зависимост от състоянието на амплификацията на прицелната нуклеинова киселина и контрола за обработката на алиquotните части. Резултати се съобщават според алгоритъма за взимане на решение във файла с дефиниция за анализа (Assay Definition File, ADF), резюмиран в *Таблица 1 по-долу*.

Таблица 1: Резюме на алгоритъма за взимане на решение на HBV Quant Assay

РЕЗУЛТАТ	Прицелна HBV	Контрола за обработката на аликвотни части (Sample Process Control, SPC1)	Интерпретация на резултатите
Positive (Положителен) със съобщена концентрация	Amplified (Има амплификация) $0,9 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ (процедура 550 mL) $1,4 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ (процедура 200 mL)	Amplified (Има амплификация) или Not Amplified (Няма амплификация)	HBV DNA detected within quantitative range (ДНК на HBV е открита в количествения диапазон)
Positive (Положителен), над ULoQ	Amplified (Има амплификация) [HBV] > 9,0 Log ₁₀ IU/mL	Amplified (Има амплификация) или Not Amplified (Няма амплификация)	HBV DNA detected above quantitative range (ДНК на HBV е открита над количествения диапазон)
Positive (Положителен), под LLoQ	Amplified (Има амплификация) [HBV] < 0,9 Log ₁₀ IU/mL (процедура 550 mL) [HBV] < 1,4 Log ₁₀ IU/mL (процедура 200 mL)	Amplified (Има амплификация) или Not Amplified (Няма амплификация)	HBV DNA detected below quantitative range (ДНК на HBV е открита под количествения диапазон)
Negative (Отрицателен)	Not Amplified (Няма амплификация)	Amplified (Има амплификация)	HBV DNA not detected (ДНК на HBV не е открита)
Indeterminate (Неопределен)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Няма амплификация, Установена е грешка в системата, Обработката на аликвотни части е приключена)		All target results were invalid; retest sample (Всички резултати за прицелната нуклеинова киселина са невалидни; тествайте аликвотната част отново)†
No Result (Няма резултат)*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Няма амплификация, Установена е грешка в системата, Обработката на аликвотни части е прекратена)		Sample processing was aborted; retest sample (Обработката на аликвотните части е прекратена; тествайте аликвотната част отново)†
Unresolved (Неполучен)	Not Amplified, No System Error Detected (Няма амплификация, Не е установена грешка в системата)		All target results were invalid; retest sample (Всички резултати за прицелната нуклеинова киселина са невалидни; тествайте аликвотната част отново)†

* Флаг No Result (Няма резултат) се съобщава само при софтуер на NeuMoDx System с версия от 1.8 и по-висока

† NeuMoDx System има възможност за автоматично изпълнение на Rerun (Повторна обработка)/Repeat (Повторение), която крайният потребител може да избере, за да бъде сигурно, че при IND (Неопределен)/UNR (Неполучен)/NR (Няма резултат) автоматично ще се извърши повторна обработка за минимално забавяне на съобщаването на резултатите.

Изчисляване на теста

- За аликвотни части в рамките на диапазона на количествено определяне на NeuMoDx HBV Quant Assay концентрацията на ДНК на HBV в аликвотните части се изчислява със съхранената стандартна крива заедно с коефициента на калибрация и обема от пробата.
 - Коефициент на калибрация се изчислява според резултатите от обработените калибратори NeuMoDx HBV Calibrator, за да се установи валидността на стандартната крива за конкретна партида NeuMoDx HBV Quant Test Strip на дадена NeuMoDx System.
 - Коефициентът на калибрация се включва в окончателното определяне на концентрацията на ДНК на HBV.
 - Софтуерът на NeuMoDx отчита входния обем от пробата при определянето на концентрацията на ДНК на HBV на един mL проба.
- Резултатите от NeuMoDx HBV Quant Assay се съобщават в Log₁₀ IU/mL.
- Полученото количествено определяне на неизвестните аликвотни части е проследимо по 4th Международен стандарт за HBV на Световната здравна организация (СЗО).

Калибрация на теста

Валидна калибрация според стандартната крива е необходима за количественото определяне на ДНК на HBV в пробите. За генерирането на валидни резултати трябва да се извърши калибрация на теста с външни калибратори, предоставени от NeuMoDx Molecular, Inc.

Калибратори

1. Набор калибратори NeuMoDx HBV Calibrator трябва да се обработят с всяка нова партида тест-ленти NeuMoDx HBV Quant Test Strip при зареждане на нов файл с дефиниция за анализа (HBV Assay Definition File) в NeuMoDx System, ако текущият набор калибратори е с изтекъл срок на валидност (за момента – 90 дни) или ако софтуерът на NeuMoDx System бъде променен.
2. Софтуерът на NeuMoDx System ще уведоми потребителя кога трябва да се обработят калибраторите. Нова партида тест-ленти не може да се използва за тестването, докато калибраторите не бъдат успешно обработени.
3. Валидността на калибрацията се установява по следния начин:
 - a) Набор от два калибратора – един (1) висок и един (1) нисък – трябва да се обработи, за да се установи валидността.
 - b) Поне два (2) от трите (3) реплика трябва да дадат резултати в рамките на предварително дефинирани параметри. Номиналната прицелна стойност на нисък калибратор е $3,7 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$, а тази на висок калибратор – $5,7 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$.
 - c) Изчислява се коефициент на калибрация за отчитане на очакваната вариация между партидите тест-ленти. Този коефициент на калибрация се използва при определянето на окончателната концентрация на HBV.
4. Ако единият или двата калибратора не издържат проверката за валидност, обработката на неиздържалите проверката калибратори трябва да се повтори с ново шише. В случай че единият калибратор не издържи проверката за валидност, може да се повтори само неиздържаният калибратор – системата не изисква от потребителя да обработва повторно и двата калибратора.
5. Ако калибраторите не издържат проверката за валидност за пореден път, се обърнете към NeuMoDx Molecular, Inc.

Контрол на качеството

В местните разпоредби обикновено се посочва, че лабораторията отговаря за процедурите за вътрешен качествен контрол, чрез които се следи точността и прецизността на цялостния аналитичен процес, и трябва да установи броя, вида и честотата на тестването на контролните материали с проверени спецификации за работни характеристики за немодифицирана одобрена тестова система.

Външни контроли

1. Положителни и отрицателни външни контроли трябва да се обработват на всеки 24 часа по време на тестването с NeuMoDx HBV Quant Assay. Ако няма резултати от набор валидни външни контроли, софтуерът на NeuMoDx System ще уведоми потребителя, че контролите трябва да се обработят, преди да могат да се съобщават резултати за аликвотните части.
2. Валидността на външните контроли ще бъде оценена от NeuMoDx System според очаквания резултат. Положителната контрола трябва да даде Positive (положителен) резултат за HBV, а отрицателната трябва да даде Negative (отрицателен) резултат за HBV.
3. Обработката на несъответстващи резултати за външни контроли трябва да се извърши по следния начин:
 - a) Positive (Положителен) резултат от теста, съобщен за аликвотна част с отрицателна контрола, означава проблем с контаминация на пробата.
 - b) Negative (отрицателен) резултат от теста, съобщен за аликвотна част с положителна контрола, може да означава проблем с реактив или апарата.
 - c) Във всеки от описаните по-горе случаи или ако резултатът е Indeterminate (Неопределен) (IND) или No Result (Няма резултат) (NR), обработката на външни контроли NeuMoDx HBV External Control трябва да се повтори с пресни шишета от контролите, които не са издържали проверката за валидност.
 - d) Ако положителна външна контрола NeuMoDx HBV External Control продължава да дава Negative (Отрицателен) резултат, се обърнете към отдела за техническо обслужване на NeuMoDx.
 - e) Ако отрицателна външна контрола NeuMoDx HBV External Control продължава да дава Positive (Положителен) резултат, се опитайте да отстраните всички потенциални източници на замърсяване, включително като смените всички реактиви, преди да се обърнете към отдела за техническо обслужване на NeuMoDx.

Контроли (вътрешни) за обработката на аликвотните части

Екзогенен контрол за обработката на аликвотните части (Sample Process Control, SPC1) е включен в NeuMoDx Extraction Plate и преминава по целия процес за извличане и амплификация на нуклеинови киселини с PCR в реално време с всяка аликвотна част. Специфичните за SPC1 праймери и сонда също са включени във всяка NeuMoDx HBV Quant Test Strip, за да позволят откриването на SPC1 с прицелната ДНК на HBV (ако има) чрез мултиплексна PCR. Откриването на амплификация на SPC1 позволява на софтуера на NeuMoDx System да следи ефективността на процедурите за извличане и амплификация с PCR на ДНК.

Невалидни резултати

Ако NeuMoDx HBV Quant Assay, извършен на NeuMoDx System, не даде валиден резултат след приключването на обработката на аликвотните части, резултатът ще се съобщи като Indeterminate (Неопределен) (IND), No Result (Няма резултат) (NR) или Unresolved (Неполучен) (UNR) според вида на възникналата грешка.

Резултат IND ще се съобщи, ако бъде установена грешка в NeuMoDx System по време на обработката на аликвотната част. Ако бъде съобщен резултат IND, се препоръчва повторно тестване.

Неполучен резултат (UNR) ще се съобщи, ако не бъде открита валидна амплификация на ДНК на HBV или SPC1, без да има грешки в системата, което означава евентуален проблем в реактивите или наличие на инхибитори. Ако бъде съобщен неполучен резултат (UNR), повторното тестване е препоръчителната първа стъпка. Ако и повторното тестване е неуспешно, разреждане на пробата може да се използва за смекчаване на ефектите от евентуално инхибиране на аликвотната част.

Ако NeuMoDx HBV Quant Assay, извършен на NeuMoDx System, не даде валиден резултат и обработката на аликвотни части бъде прекратена преждевременно, резултатът ще се съобщи като No Result (Няма резултат) (NR). Ако бъде съобщен резултат NR, се препоръчва повторно тестване.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

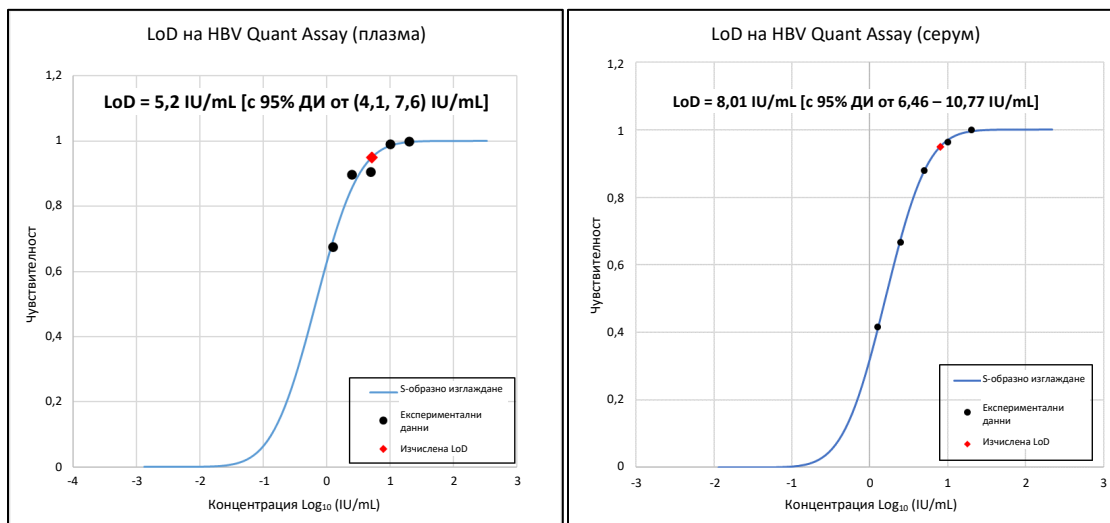
Аналитична чувствителност – граница на откриване по стандарта на СЗО

Аналитичната чувствителност на NeuMoDx HBV Quant Assay е характеризирана с тестване на отрицателни проби и серия разреждания по 4^{та} Международен стандарт на СЗО в подобрени отрицателни човешки плазма и серум за определяне на границата на откриване (Limit of Detection, LoD) на NeuMoDx System. LoD се дефинира като най-ниското прицелно ниво, откривано в 95% от случаите по анализ тип Probit. Изследванията са извършени в продължение на 3 дни с различни системи NeuMoDx System с различни партии реактиви NeuMoDx. Извършено е допълнително проучване за потвърждаване на LoD на NeuMoDx HBV Quant Assay, когато се използва процедурата за обработка на 200 µL обем от пробата. Процентите на откриване от двете проучвания са представени в Таблица 2.

Таблица 2: Проценти на откриване на положителен резултат за определяне на LoD на NeuMoDx HBV Quant Assay

	Прицелна концентрация [IU/mL]	Прицелна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	ПЛАЗМА			СЕРУМ		
			Брой валидни тестове	Брой положителни	Процент откриване	Брой валидни тестове	Брой положителни	Процент откриване
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 (Отр.)	N/A (Не е приложимо)	108	0	0%	107	0	0%
200 µL	25	1,40	43	43	100%	44	44	100%

LoD на анализа NeuMoDx HBV Quant Assay за HBV генотип A (4^{та} Международен стандарт на СЗО) в плазма е определена като 5,2 IU/mL (95% CI 4,1 – 7,6 IU/mL) [(0,72 Log₁₀ IU/mL) (95% CI 0,61 – 0,88 Log₁₀ IU/mL)] с процедурата за 550 µL обем от пробата (Фигура 2). LoD на анализа NeuMoDx HBV Quant Assay за аликвотни части от серум е определена като 8,0 IU/mL (95% CI 6,5 – 10,8 IU/mL) [(0,9 Log₁₀ IU/mL) (95% CI 0,8 – 1,0 Log₁₀ IU/mL)] с процедурата за 550 µL обем от пробата (Фигура 2).



Фигура 2: Анализ тип Probit, използван за определяне на LoD на NeuMoDx HBV Quant Assay, плазма (вляво) и серум (вдясно)

Аналитична чувствителност – граница на количествено определяне – долна граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) по стандарта на СЗО

Долната граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) се дефинира като най-ниското прицелно ниво, при което се постига > 95% откриване и TAE ≤ 1,0. За определянето на LLoQ общата аналитична грешка (Total Analytical Error, TAE) е изчислена за всяко ниво на прицелната нуклеинова киселина на HBV, при което се съобщава > 95% откриване като част от изчислението за LoD. TAE се дефинира по следния начин:

$$TAE = \text{отклонение} + 2 \times SD \quad [\text{статистика на Westgard}]$$

Отклонението е абсолютната стойност на разликата между средната изчислена концентрация и очакваната концентрация. SD е стандартното отклонение на количествено определената стойност на аликвотната част.

Съкупните резултати за 5 нива на проби с HBV, използвани в проучването за LLoQ по 4TH Международен стандарт на СЗО, са представени в Таблица 3. Определената LLoQ в плазма, с анализа NeuMoDx HBV Quant Assay (550 µL обем на пробата), съгласно 4TH Международен стандарт на СЗО, е 5,5 IU/mL (0,74 Log₁₀ IU/mL). Извършено е отделно проучване за потвърждаване на LLoQ при използване на процедурата за 200 µL обем от пробата, резултатите от което показват LLoQ от 25 IU/mL, което също е представено в Таблица 3.

LLoQ на NeuMoDx HBV Quant Assay за проби от серум е определена като 6,0 IU/mL с използване на процедурата за 550 µL обем от пробата и 25 IU/mL при използване на процедурата за проби с по-малък обем (200 µL), както е показано в Таблица 3.

Таблица 3: LLoQ на NeuMoDx HBV Quant Assay, с отклонението и TAE

	Прицелна концентрация [IU/mL]	Прицелна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Плазма					Серум				
			Средна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Откриване (%)	SD	Отклонение	TAE	Средна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Откриване (%)	SD	Отклонение	TAE
550 µL	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 µL	25	1,40	1,61	100	0,35	0,21	0,91	1,81	100	0,18	0,41	0,78

Аналитична чувствителност – LoD и LLoQ по всички генотипове на HBV

LoD е първоначално установена за генотип А (4th Международен стандарт на СЗО) и след това е извършено допълнително тестване около установената LoD с всеки от останалите 7 генотипа. Тридесет и шест (36) репликата при нива, съответстващи на 2X, 1X и 0,5X горната граница на LoD в 95% ДИ (~ 7 IU/mL), са тествани с NeuMoDx HBV Quant Assay за проби от плазма, с използване на процедура за 550 µL от проба. Процентът на положителните резултати за всеки генотип при всяко от тези тествани нива е нанесен в таблица и използван за изчисляването на LoD с анализ тип Probit.

Общата аналитична грешка при тези тествани нива също е изчислена. Най-ниското ниво с 95% откриване на положителни резултати и изчислена TAE ≤ 1,0 отново се счита за LLoQ за генотипа. За всички генотипове бе демонстрирано, че границата на откриване (Limit of Detection, LoD) на количествения анализ NeuMoDx HBV Quant Assay за проби от плазма, с използване на процедура за 550 µL от проба, е 6,2 IU/mL (0,79 Log₁₀ IU/mL) а LLoQ е 7,6 IU/mL (0,88 Log₁₀ IU/mL), както е показано в Таблица 4.

Таблица 4. Генотипове HBV изпитани в плазма с използване на процедура за 550 µL обем от проба

Генотип	LoD [IU/mL]	LLoQ [IU/mL]
Генотип А	5,2	5,2
Генотип В	6,2	6,2
Генотип С	3,5	6,2
Генотип D	5,2	5,7
Генотип Е	3,5	3,5
Генотип F	5,1	6,2
Генотип G	3,5	3,5
Генотип H	5,2	7,6

Въз основа на резултата от тези изследвания, NeuMoDx обявява **LoD и LLoQ от 25 IU/mL (1,4 Log₁₀ IU/mL)** за количествен анализ NeuMoDx HBV Quant Assay в **плазма и серум** с процедурата за **200 µL обем от пробата**.

NeuMoDx обявява **LoD и LLoQ 8,0 IU/mL (0,9 Log₁₀ IU/mL)** за количествен анализ NeuMoDx HBV Quant Assay в **плазма и серум** с процедурата за **550 µL обем от пробата**.

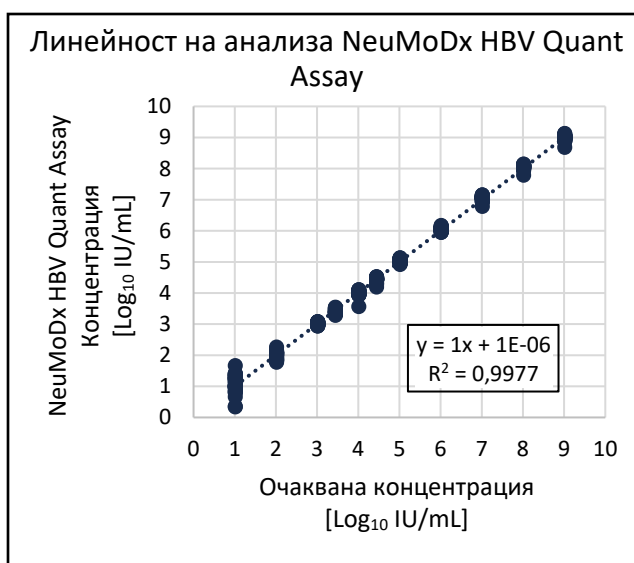
Аналитична чувствителност – линейност и определяне на горна граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)

Линейността и горната граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) на NeuMoDx HBV Quant Assay са установени в плазма с подготовка на серия разреждания с висока HBV-положителна клинична аликвотна част (Access Biologicals, Vista, CA) с установена проследимост по 4th Международен стандарт на СЗО. Панел от 11 елемента е подготвен в групирана HBV-отрицателна плазма за създаване на тестов панел с концентрации в диапазона 9,02 – 1,02 Log₁₀ IU/mL. Тестовият панел е обработен с 6 репликата при всяко ниво на 2 системи NeuMoDx System и 3 партиди критични реактиви. NeuMoDx HBV Quant Assay демонстрира способност за количествено определяне на HBV в целия линеен диапазон 8 Log₁₀ (включващ критичните точки за взимане на медицинско решение) с отклонение ±0,22 Log₁₀ IU/mL. Няма съществени ползи при регресионно изглаждане от 2-ри и 3-ти ред. ULoQ е определена с данни от това проучване като 9,02 Log₁₀ IU/mL [Таблица 5 и Фигура 3].

Таблица 5: Линеиност на NeuMoDx HBV Quant Assay (проверена с генотип A)

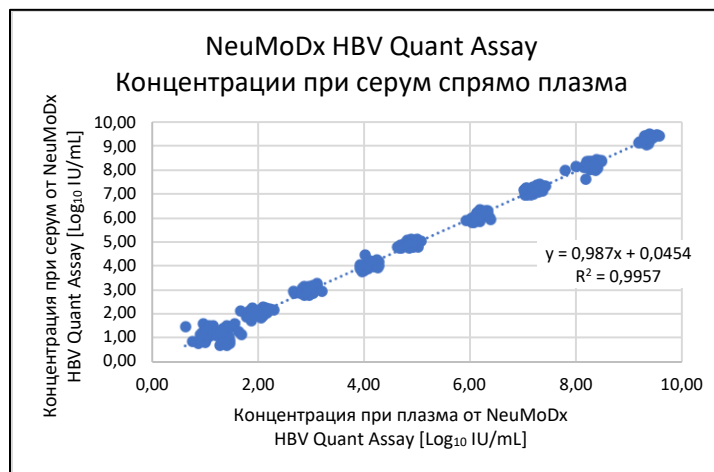
Прицелна концентрация (IU/mL)	Прицелна концентрация (Log ₁₀ IU/mL)	Средна концентрация (Log ₁₀ IU/mL)	Стандартно отклонение	Отклонение	Прогнозно линейно изглаждане	Отклонение от нелинейно изглаждане
1,05E+09	9,02	8,99	0,08	0,06	9,02	-0,04
1,05E+08	8,02	8,05	0,07	0,05	8,02	0,03
1,05E+07	7,02	7,05	0,07	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

* Близо до точките за взимане на медицинско решение



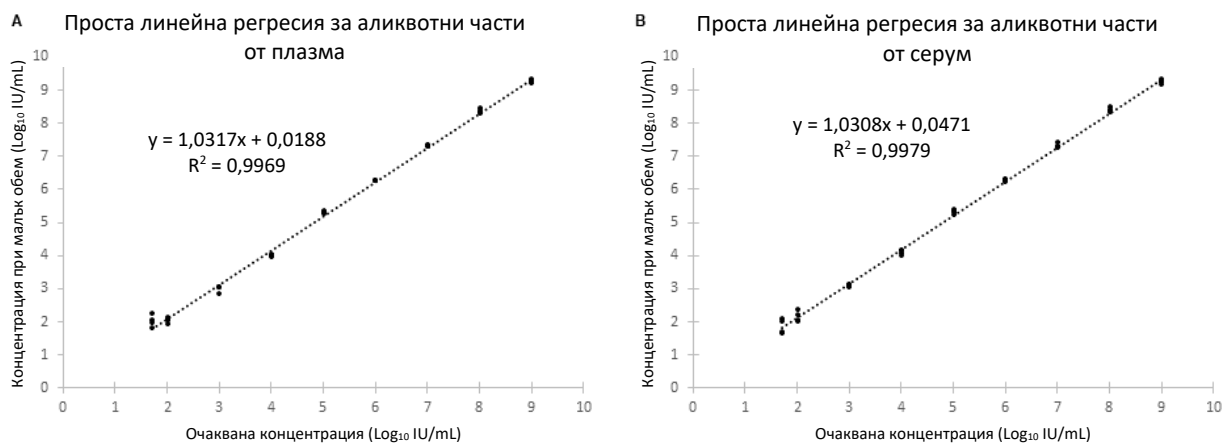
Фигура 3: Линеен диапазон на NeuMoDx HBV Quant Assay в плазма

Последващо проучване е извършено за демонстриране на равностойността на матриците, като анализът сравнява количествените резултати от NeuMoDx HBV за аликвотни части, подготвени с плазма и серум, с два различни модела на регресионно изглаждане – инструментът за регресия в MS Excel и Passing-Bablok. Резултатите показват силна корелация със стойности на слоуп и интерсепт, много близки до 1,00 и 0,00, съответно, и стойност R² 0,99 (инструмент за регресия в MS Excel) или стойност P 0,270 (Passing-Bablok). Концентрациите от количествения анализ за HBV, съобщени от NeuMoDx System за матрикс плазма в сравнение със съответните аликвотни части от серум, са представени на *Фигура 4*.



Фигура 4: Линеен диапазон на NeuMoDx HBV Quant Assay при различни матрикси

Линейността и ULoQ след това са потвърдени за процедурата за 200 µL обем от пробата в диапазон 9,31 – 1,71 Log₁₀ IU/mL. Извършени са сравнения за равностойност между концентрациите, съобщени от софтуера NeuMoDx за процедурите за 200 µL и 550 µL. Регресионният анализ по Deming и по Passing-Bablok показва отлична корелация и слонп близо до 1 и минимални интерсепти (отклонение) на съобщените концентрации за двете алиquotни части – от плазма и серум – в целия линеен диапазон. Сравнение по Bland-Altman на съобщената концентрация за процедурата за 200 µL обем от пробата спрямо средната съобщена концентрация за двете процедури – за 200 µL и 550 µL обем от пробата – показва минимално отклонение, придаващо точност на алгоритъма, използван за генерирането на резултатите от процедурата за 200 µL. Освен това, проста линейна регресия, сравняваща очакваната спрямо съобщената концентрация за процедурата за 200 µL, дава слонп близо до 1, демонстриращ отлична корелация [Фигура 5]. Взети заедно, тези сравнения демонстрират точно количествено определяне на HBV в целия линеен диапазон на NeuMoDx HBV Quant Assay с процедурата за 200 µL обем от пробата.



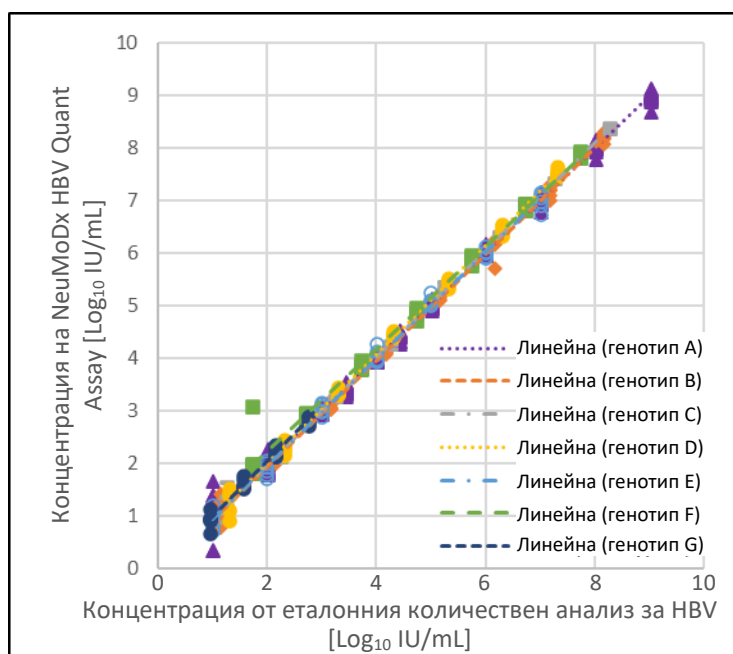
Фигура 5: Линеен зависимост между очакваните и съобщените от NeuMoDx концентрации за процедурата за 200 µL в а) плазма и б) серум

Линейност по всички генотипове

Линейността на NeuMoDx HBV Quant Assay при проби от плазма за генотиповете на HBV е характеризирана с тестване на поне четири (4) различни концентрации от всеки генотип на HBV, подготвени в групирана HBV-отрицателна плазма. Тестваните нива на прицелната нуклеинова киселина на HBV, използвани в това проучване, зависят от концентрацията на изходната проба и затова се различават при различните генотипове. Проучването е извършено с всеки генотип с 6 репликацията при всяко ниво. Линейността при всички генотипове на HBV е представена в Таблица 6 и Фигура 6.

Таблица 6: Линеиност на NeuMoDx HBV Quant Assay по всички генотипове

Генотип	Уравнение за линеиност y = количественото определяне от NeuMoDx HBV Quant Assay x = очакваното количествено определяне	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



Фигура 6: Линеиност на NeuMoDx HBV Quant Assay по всички генотипове

Аналитична специфичност и кръстосана реактивност

Аналитичната специфичност е демонстрирана със скрининг на 32 организма, често срещани в проби от кръв/плазма, както и видове, филогенетично сходни с HBV, за кръстосана реактивност. Организмите са подготвени в групи по 4 – 6 организма и са тествани при висока концентрация. Тестваните организми са дадени в Таблица 7. Не се наблюдава кръстосана реактивност с нито един от тестваните организми, което потвърждава 100% аналитична специфичност на NeuMoDx HBV Quant Assay.

Таблица 7: Използвани патогени за демонстриране на аналитична специфичност – кръстосана реактивност

Аденовирус 2	Денге V1	Хепатит А	HPV 16	Илеус (ILHV)	Жълта треска
Аденовирус 5	Денге V2	Хепатит С	HPV 18	Грипен вирус А	Вирус Зика
Вирус Банзи	Денге V3	Човешки вирус херпес 6а	HSV1	Парво В19	
ВК вирус	Денге V4	Човешки вирус херпес 8	HSV 2	Рубеола	
Цитомегаловирус	Вирус на Epstein-Barr	HIV 1	HTLV 1	Енцефалит Сейнт Луис	
VZV	Вирус Вакциния	HIV 2	HTLV 2	Вирус „Западен Нил“	

Интерфериращи вещества – коменсални организми

NeuMoDx HBV Quant Assay е оценен за интерференция в присъствието на неприцелни организми със същите групи организми като подготвените за тестването на аналитичната специфичност. Организмите са тествани поотделно или в групи по 4 – 6 организма в подбрана отрицателна за HBV плазма с добавени HBV контроли при концентрация 3,7 Log₁₀ IU/mL. Не се наблюдава съществена интерференция в присъствието на тези коменсални организми, за което свидетелства минималното отклонение на количественото определяне от контролните проби, които не съдържат интерфериращ агент [Таблица 8].

Таблица 8: Тестване за интерференция – коменсални организми

Неприцелни организми	Средна концентрация (Log ₁₀ IU/mL)	Отклонение (Log ₁₀ IU/mL)
Група 1 [ВК вирус, цитомегаловирус, вирус на Epstein-Barr, човешки вирус херпес 6а, човешки вирус херпес 8]	3,51	0,10
Група 2 [Аденовирус 2, аденовирус 5, Денге V2, Денге V3, Денге V4]	3,38	0,22
Група 3 [Парво В19, HTLV 1, HTLV 2, илеус (ILHV), жълта треска, вирус Зика]	3,62	0,06
Група 4 [HPV 16, HPV 18, HSV 1, HSV 2, Денге V1]	3,57	0,04
Група 5 [Енцефалит Сейнт Луис, VZV, вирус Вакциния, вирус „Западен Нил“]	3,57	0,03
HAV	3,58	0,05
Вирус Банзи	3,41	0,19
HIV-1	3,47	0,15
HIV-2	3,56	0,05
Рубеола	3,16	0,44
Грипен вирус А	3,60	0,03
HCV	3,58	0,04

Интерфериращи вещества – ендогенни и екзогенни вещества

Работните характеристики на NeuMoDx HBV Quant Test Strip са оценени в присъствието на типични екзогенни и ендогенни интерфериращи вещества, срещани в клинични проби от плазма с HBV. Те включват абнормно високи нива на кръвни компоненти, както и обичайни антивирусни лекарства, класифицирани в Таблица 9. Всяко от ендогенните и екзогенните вещества, изброени по-долу в Таблица 10, е добавено към подбрана HBV-отрицателна човешка плазма с добавени 3,7 Log₁₀ IU/mL HBV и данните са наблюдавани за интерференция. Освен това плазма от обичайно болестно състояние, свързано с инфекция с хепатит В, също е тествана за потенциална интерференция.

Таблица 9: Тестване за интерференция – екзогенни агенти (класификации на лекарствата)

Група	Лекарство	Класифициране
1	Зидовудин (ZDV)	Инхибитор на обратната транскриптаза
	Саквинавир	Инхибитор на HIV протеаза
	Ритонавир	Инхибитор на HIV протеаза
	Кларитромицин	Антибиотик
	Интерферон алфа-2a	Имуномодулатор
	Интерферон алфа-2b	Имуномодулатор
2	Абакавир сулфат	Инхибитор на обратната транскриптаза
	Ампренавир	Инхибитор на протеаза
	Рибавирин	Имуномодулатор
	Ентекавир	Антивирусно лекарство против HBV
	Флуоксетин	Антидепресант SSRI
	Валацикловир хидрохлорид	Антивирусно лекарство
3	Тенофовир дисопроксил	Антивирусно лекарство против HBV/HIV
	Ламивудин	Антивирусно лекарство против HBV/HIV
	Ганцикловир	Антивирусно лекарство против CMV
	Валганцикловир	Антивирусно лекарство против CMV
	Невирапин	Инхибитор на обратната транскриптаза
4	Ефавиренц	Инхибитор на обратната транскриптаза
	Лопинавир	Инхибитор на протеаза
	Енфувиртид	Фузионен инхибитор на HIV
	Ципрофлоксацин	Антибиотик
	Пароксетин	Антидепресант SSRI
5	Адефовир (дипивоксил)	Антивирусно лекарство
	Азитромицин	Антибиотик
	Индинавир сулфат	Инхибитор на HIV протеаза
	Сертралин	Антидепресант SSRI

Таблица 10: Тестване за интерференция – екзогенни и ендогенни агенти

Ендогенни	Средна концентрация (Log ₁₀ IU/mL)	Отклонение (Log ₁₀ IU/mL)
Хемоглобин	3,50	0,20
Триглицериди	3,51	0,09
Билирубин	3,56	0,13
Албумин	3,51	0,17
Екзогенни (лекарства)	Средна концентрация (Log ₁₀ IU/mL)	Отклонение (Log ₁₀ IU/mL)
Група 1: Зидовудин (Zidovudine, ZDV), саквинавир, ритонавир, кларитромицин, интерферон алфа-2а, интерферон алфа-2b	3,58	0,08
Група 2: Абакавир сулфат, ампренавир, рибавирин, ентекавир, флуоксетин, валацикловир хидрохлорид	3,56	0,04
Група 3: Тенофовир дисопроксил, ламивудин, ганцикловир, валганцикловир, невирапин	3,59	0,06
Група 4: Ефавиренц, лопинавир, енфувиртид, ципрофлоксацин, пароксетин,	3,60	0,07
Група 5: Адефовир (дипивоксил), азитромицин, индинавир сулфат, сертралин	3,56	0,19
Болестно състояние	Средна концентрация (Log ₁₀ IU/mL)	Отклонение (Log ₁₀ IU/mL)
Антинуклеарно антитяло (Antinuclear Antibody, ANA)	3,61	0,10
Системен лупус еритематодес (Systemic Lupus Erythematosus, SLE)	3,63	0,10
Ревматоиден артрит (Rheumatoid Arthritis, RA)	3,57	0,09
Антитела срещу HCV	3,58	0,07
Антитела срещу HBV	3,64	0,11
Алкохолна цироза	3,68	0,15
Ревматоиден фактор (Rheumatoid Factor, RF)	3,63	0,10
Неалкохолен стеатохепатит (Non-Alcoholic Steatohepatitis, NASH)	3,49	0,06

Вътрешнолабораторна прецизност

Прецизността на NeuMoDx HBV Quant Test Strip е определена с тестване на панел от 8 проби с HBV, обхващащ генотипове А и С, с три апарата NeuMoDx Systems в продължение на 12 дни. Характеризирани са прецизността в рамките на обработка, в рамките на деня и в рамките на системата и общото стандартно отклонение е определено като $\leq 0,22 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$. Прецизността между различните оператори не е характеризирана, защото операторът не играе съществена роля при обработката на аликвотни части с NeuMoDx System. Резултатите за вътрешнолабораторна прецизност са представени в *Таблица 11*.

Таблица 11: Резултати от проучването на вътрешнолабораторната прецизност

ЕЛЕМЕНТ ОТ ПАНЕЛА	ПРИЦЕЛНА КОНЦЕНТРАЦИЯ [Log ₁₀ IU/mL]	СРЕДНА КОНЦЕНТРАЦИЯ [Log ₁₀ IU/mL]	N	Отклонение	SD в рамките на обработката	SD в рамките на деня	SD в рамките на системата	Общо SD
Генотип А	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
Генотип С	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

Възпроизводимост на резултатите от различни партиди

Възпроизводимостта на резултатите от различни партиди NeuMoDx HBV Quant Test Strip е определена с три различни партиди основни реактиви – NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plate и NeuMoDx HBV Quant Test Strip. Панел от 8 HBV-генотипа А и С е използван за оценка на работните характеристики. Тестването е извършено с три партиди реактиви на три системи NeuMoDx System в продължение на 6 дни. Анализирани са вариациите в рамките на една партида и между различните партиди. Максималното общо отклонение е 0,12 Log₁₀ IU/mL, а максималното общо SD е 0,24 Log₁₀ IU/mL. Не е установена съществена разлика в работните характеристики между различните партиди, като количественото определяне на всички елементи от панела е в рамките на допустимото отклонение по спецификация. Резултатите за възпроизводимост между отделните партиди са представени по-долу в Таблица 12.

Таблица 12: Резултати от проучването на възпроизводимостта на резултатите от различни партиди

ЕЛЕМЕНТ ОТ ПАНЕЛА	ПРИЦЕЛНА КОНЦЕНТРАЦИЯ [Log ₁₀ IU/mL]	СРЕДНА КОНЦЕНТРАЦИЯ [Log ₁₀ IU/mL]	N	Отклонение	В рамките на партидата SD	Между различните партиди SD	Общо SD
Генотип А	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
Генотип С	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

Ефективност на контролата

Ефективността на SPC1, включен в NeuMoDx HBV Quant Assay за съобщаване на проблеми при технологичните стъпки или инхибиране, влошаващо работните характеристики на NeuMoDx HBV Quant Assay, е оценена с два обичайни генотипа на HBV (А и С). Тестваните условия са представителни за критични проблеми при технологичните стъпки, които биха могли да възникнат по време на обработката на аликвотната част и може да не бъдат засечени от датчиците, които следят работните характеристики на NeuMoDx System. Ефективността на SPC1 е проверена чрез симулиране на подобни проблемни условия. Неефективна обработка с отрицателно отражение върху откриването/количественото определяне на HBV се следи паралелно с работните характеристики при прицелната нуклеинова киселина на SPC1 (стъпка наличие на инхибитор и липса на промивка). При условия, които не оказват отражение върху амплификацията на SPC1, прицелната нуклеинова киселина на HBV също се амплифицира в рамките на съобщено количествено определяне 0,2 Log₁₀ IU/mL от контролните аликвотни части.

Таблица 13: Ефективност на контролата за обработка на аликвотните части

Тестван проблем при технологичните стъпки	Състояние на амплификацията на контролата за обработка на аликвотните части	Състояние на амплификацията на прицелната нуклеинова киселина на HBV	Резултат от анализа
Presence of Inhibitor (Наличие на инхибитор)	Not Amplified (Няма амплификация)	Not Amplified (Няма амплификация)	Unresolved (Неполучен)
No Wash Delivered (Няма накапана промивка)	Not Amplified (Няма амплификация)	Not Amplified (Няма амплификация)	Unresolved (Неполучен)
No Wash Blowout (Няма издухване на промивката)	Amplified (Има амплификация)	Amplified (Има амплификация)	Positive (Положителен) с количествено определяне в рамките на 0,2 Log ₁₀ IU/mL от контролата

Кръстосана контаминация

Процентът кръстосана контаминация на NeuMoDx HBV Quant Assay е определен с тестване на три набора от проби с HBV с редуващи се високи положителни и отрицателни проби. Като цяло това включва тестване на 144 репликата на нормална, HBV-отрицателна проба от човешка плазма с EDTA и 144 репликата от високо титрувана проба с HBV при 8,0 Log₁₀ IU/mL. Всичките 144 репликата на отрицателната проба са съобщени като отрицателни, което демонстрира, че няма кръстосана контаминация по време на обработката на аликвотните части на NeuMoDx System.

Равностойност на резултатите от проби в различни матрикси

Извършено е тестване за демонстриране на равностойността на резултатите от проби от плазма, взети в епруветки с етилендиаминтетраоцетна киселина (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) и епруветки с цитрат-декстроза (Acid Citrate Dextrose, ACD). Освен това е извършено тестване за демонстриране на равностойността между пресните и замразените проби. Четиридесет проби от различни донори, набавени от BioIVT, са взети в епруветки с EDTA и епруветки с ACD. Към тези пресни аликвотни части са добавени четири нива на HBV генотип А или С и са тествани за равностойност. Аликвотните части след това са замразени за минимум 24 часа, размразени и тествани отново. Отлична равностойност е демонстрирана между пресните и замразените проби и пробите с EDTA и с ACD посредством регресионен анализ.

Таблица 14: Резултати от регресионния анализ на равностойността на резултатите от пробите

Параметър [критерии за приемане]	Пресни спрямо замразени	ACD спрямо K2EDTA
Слоуп [0,9 – 1,1]	1,002	0,996
Интерсепт [< 0,5]	-0,031	0,018
Коефициент на определяне [$R^2 > 0,95$]	0,995	0,993

Извършено е допълнително тестване за демонстриране на равностойността на работните характеристики на NeuMoDx HBV Quant Assay при проби от първични и вторични епруветки. Панели от проби от отрицателни за HBV донори с добавка от прицелна нуклеинова киселина за HBV (AccuPlex™ HBV Control) са обработени първо от първичните епруветки за проби. От останалата от всяка проба плазма е отделена аликвотна част във вторична епруветка за проби и е обработена отново. Не е установена съществена разлика в съобщените резултати между обработката на първичните и вторичните епруветки с проби.

Равностойността на работните характеристики на NeuMoDx HBV Quant Assay при пресни спрямо замразени проби от серум също е оценена с панел пресни проби от серум от различни донори с добавка от HBV при концентрации в целия линейен диапазон на анализа. След обработката на пресните проби аликвотните части от серум са замразени за поне 24 часа при -20 °C. Замразените аликвотни части след това са размразени и тествани отново. Линейната равностойност между пресни и замразени аликвотни части от една и съща проба е оценена с регресионни анализи по Passing-Bablok и по Deming. Стойността P 0,329 (по-голяма от 0,05) при регресия по Passing-Bablok и коефициентът на корелация 0,989 при регресия по Deming показват отлична равностойност между обработката на пресни и обработката на замразени преди това аликвотни части. Отклонението между аликвотните части в пряно и замразено състояние е определено по Bland-Altman и е с пренебрежимо малка стойност – 0,002 Log₁₀ IU/mL, – което допълнително демонстрира равностойността на обработката на пресни и на замразени проби. И накрая, корелацията между съобщените от системата и очакваните концентрации на HBV за пресните и замразените аликвотни части е определена с проста линейна регресия с отчетени съответни стойности R² 0,991 и 0,985.

Стабилност на пробите

Към отрицателни за HBV проби от плазма и серум с EDTA е добавен HBV при 3,7 Log₁₀ IU/mL и пробите са тествани в различни моменти от времето, докато са заредени в NeuMoDx System – незабавно (момент 0), след 4 часа, след 8 часа и след 24 часа. Не се наблюдава съществена разлика в работните характеристики в различните моменти от времето, което показва, че една проба може да остане заредена в NeuMoDx System до 24 часа, без това да се отрази на работните характеристики на анализа.

Подобно тестване е извършено и с проби от плазма и серум, съхранявани в лабораторен хладилник (между 2 и 8 °C) до 7 дни преди тестването, и не се наблюдава съществена разлика в работните характеристики.

И накрая, проби, съхранявани при ≤ -20 °C до 6 месеца (плазма) и до 4 месеца (серум) преди обработката, са тествани и не демонстрират съществена разлика в сравнение с пресните проби. Цикълът замразяване/размразяване е повторен и отново не се наблюдава промяна в работните характеристики след 2 цикъла замразяване/размразяване (плазма) или 4 цикъла замразяване/размразяване (серум).

Корелация на методите

Проби от плазма

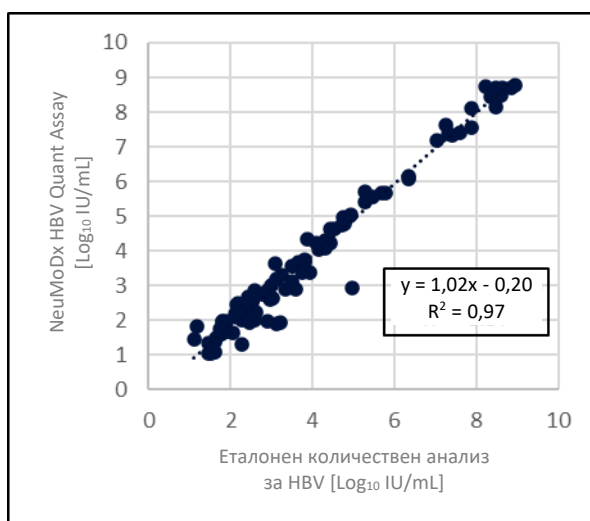
Качествените и количествените работни характеристики на NeuMoDx HBV Quant Assay са оценени спрямо одобрени от FDA/CE анализи за сравнение с тестване на неразредени клинични проби от плазма на заразени с HBV пациенти. Тестването е извършено вътрешно в NeuMoDx чрез „едностранно заслепено“ проучване с клинични проби, получени от три независими референтни лаборатории. Резултатите от общо 308 HBV-положителни и отрицателни аликвотни части са събрани в качествения анализ, за да се изчисли клиничната чувствителност и специфичност на NeuMoDx HBV Quant Assay. Качественият анализ е извършен с включване и изключване на положителните аликвотни части под LLoQ, тъй като класифицирането на подобни ниски аликвотни части може да се различава при различните тестове. Общо 97 HBV-положителни клинични проби в рамките на линейния диапазон, общ за двата теста, са използвани за генерирането на линейната регресия за дефиниране на количествените работни характеристики. Освен демонстрираната отлична чувствителност и специфичност, NeuMoDx HBV Quant Test Strip демонстрира отлична количествена корелация с анализа за сравнение. Според тези резултати чувствителността на NeuMoDx HBV Quant Assay е около 100% (ДИ 96,4% – 100%), а специфичността е около 95,6% (ДИ 91,9% – 97,7%). Тези 95% доверителни интервали са изчислени с метод за оценка на 95% доверителен интервал съгласно EP12-A2, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, Approved Guideline, Vol 28, No 3.⁶

Таблица 15: Показатели за клиничната чувствителност и специфичност на NeuMoDx HBV Quant Assay за проби от плазма на NeuMoDx 288 Molecular System

	Еталонен анализ (Положителен)	Еталонен анализ (Отрицателен)	ОБЩО
NeuMoDx HBV Quant Assay (Положителен)	103	9	112
NeuMoDx HBV Quant Assay (Отрицателен)	0	196	196
ОБЩО	103	205	308
ЧУВСТВИТЕЛНОСТ = 100% 95% ДИ (96,4% – 100%) СПЕЦИФИЧНОСТ = 95,6% 95% ДИ (91,9% – 97,7%)			

Таблица 16: Показатели за клиничната чувствителност и специфичност на NeuMoDx HBV Quant Assay на NeuMoDx 288 Molecular System с аликвотни части от плазма (< LLoQ са изключени)

	Еталонен анализ (Положителен)	Еталонен анализ (Отрицателен)	ОБЩО
NeuMoDx HBV Quant Assay (Положителен)	99	5	104
NeuMoDx HBV Quant Assay (Отрицателен)	0	196	196
ОБЩО	99	201	300
ЧУВСТВИТЕЛНОСТ = 100% 95% ДИ (96,3% – 100%) СПЕЦИФИЧНОСТ = 97,5% 95% ДИ (94,3% – 98,9%)			



Фигура 7: Проучване на корелацията на количествените методите с NeuMoDx HBV Quant Assay

Допълнително тестване е извършено на NeuMoDx 96 Molecular System със 159 остатъчни клинични проби от плазма. Както при предишното тестване, извършено на NeuMoDx 288, получените от NeuMoDx 96 резултати са сравнени с резултатите, съобщени от анализите с одобрение от FDA и/или маркировка CE, използвани от лабораториите-източници за тестването по медицинските стандарти. Резултатите, включително таблицата на истинността с клинична чувствителност и специфичност, са представени с 95% ДИ в Таблица 17.

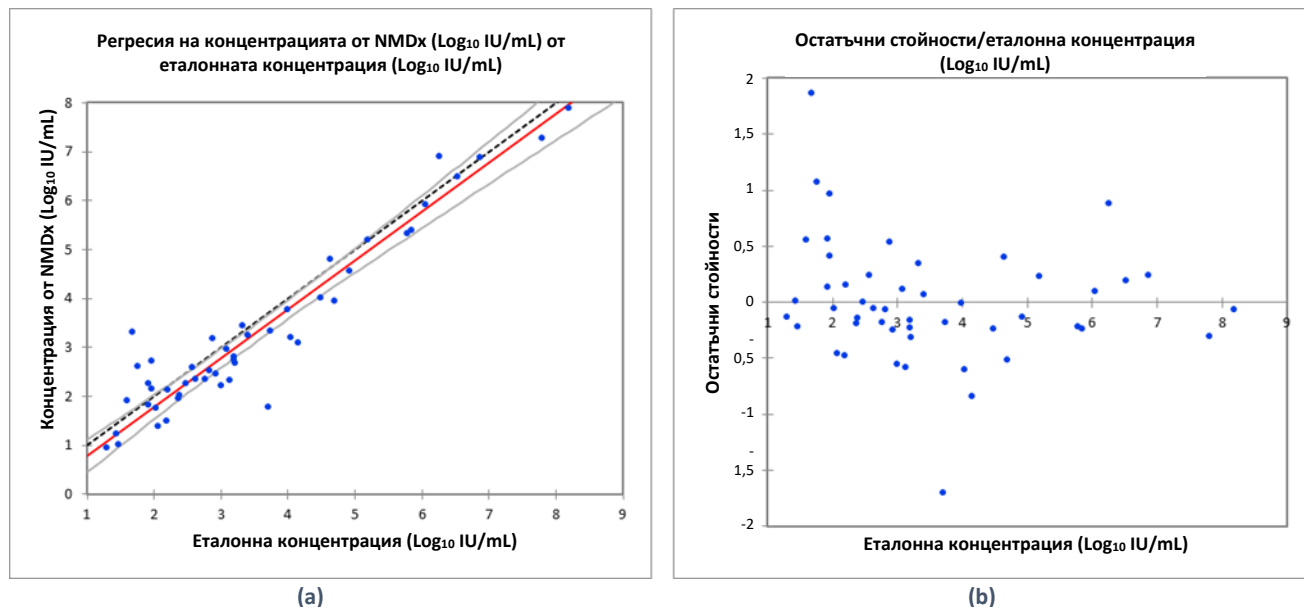
Таблица 17: Резюме на клиничните работни характеристики – NeuMoDx HBV Quant Assay на NeuMoDx 96 Molecular System

	Еталонен анализ (Положителен)	Еталонен анализ (Отрицателен)	ОБЩО
NeuMoDx HBV Quant Assay (Положителен)	60	2	62
NeuMoDx HBV Quant Assay (Отрицателен)	1	95	96
ОБЩО	61	97	158
ЧУВСТВИТЕЛНОСТ = 98% 95% ДИ (90% – 100%)			
СПЕЦИФИЧНОСТ = 98% 95% ДИ (92% – 100%)			

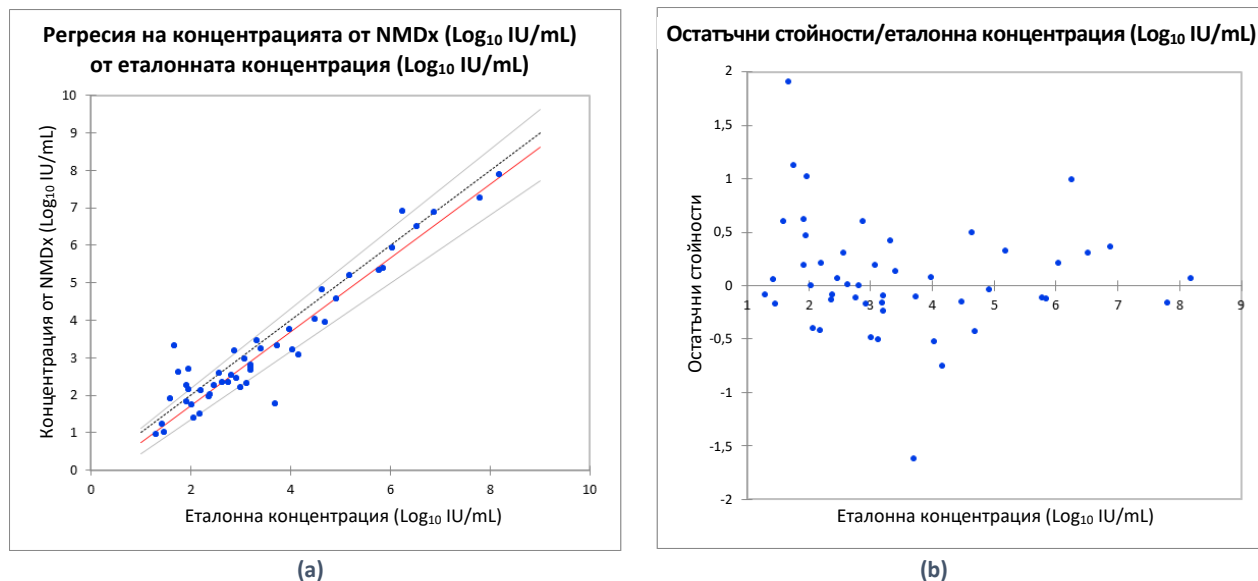
Проби от серум

Количествените работни характеристики на NeuMoDx HBV Quant Assay са оценени спрямо одобрени от FDA/CE анализи за сравнение с тестване на анонимизирани, остатъчни положителни за HBV проби от серум от заразени с HBV пациенти. Тествани вътрешно в NeuMoDx с NeuMoDx HBV Quant Assay са общо 66 клинични, известни като положителни за HBV проби от серум, получени от две независими референтни лаборатории. От тестваните известни като положителни проби от серум, 58 са идентифицирани с положителни резултати, от които девет (9) резултата са под LLoQ и над ULoQ за NeuMoDx HBV Quant Assay и/или еталонния тест. Общо 49 HBV-положителни клинични проби в рамките на линейния диапазон, общ за двата теста, са използвани за генерирането на регресионния анализ за дефиниране на количествените работни характеристики.

Генерирани са графики на равностойността и остатъчните стойности за демонстриране на корелацията между стойностите на концентрацията от NeuMoDx HBV Quant Assay и тези от еталонния тест за всички тествани аликвотни части с регресионен анализ по Deming и по Passing-Bablok. Графиките са представени на Фигури 8 и 9. Качеството на регресионното изглаждане по Deming е илюстрирано с коефициент на слоуп 0,99 с 95% ДИ (0,93 – 1,07) и интерсепт (отклонение) -0,22 с 95% ДИ (-0,56 – 0,12), с което се демонстрира, че резултатите за концентрацията, получени от NeuMoDx HBV Quant Assay и еталонните тестове, са с висока корелация и допустимо отклонение. Качеството на линейното изглаждане по Passing-Bablok е илюстрирано с коефициент на слоуп 0,99 с 95% ДИ (0,91 – 1,06) и интерсепт (отклонение) -0,25 с 95% ДИ (-0,48 – 0,06), с което се демонстрира, че резултатите за концентрацията, получени от NeuMoDx HBV Quant Assay и еталонните тестове, са с висока корелация и допустимо отклонение, както се вижда от Таблица 18.



Фигура 8: Графики на равностойността (a) и остатъчните стойности (b) – кумулативен анализ на резултатите от NeuMoDx HBV Test спрямо тези от еталонните тестове – анализ по Deming.



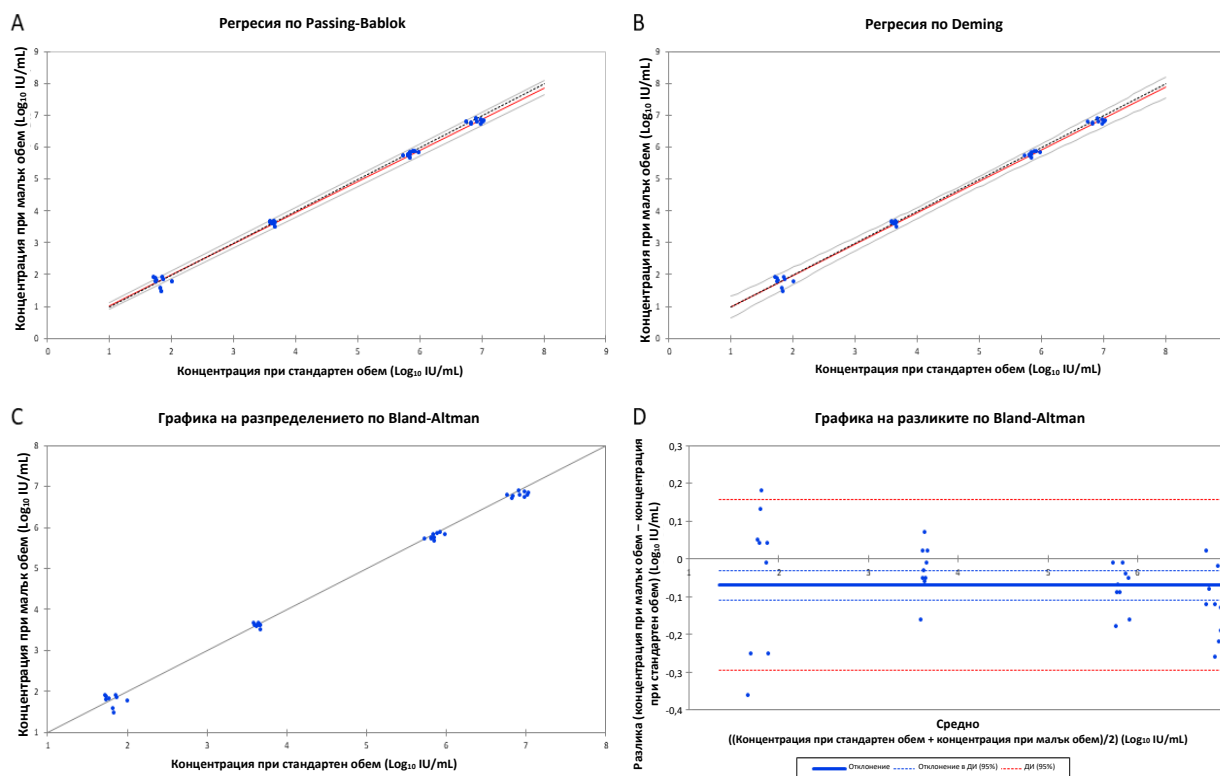
Фигура 9: Графики на равностойността (a) и остатъчните стойности (b) – кумулативен анализ на резултатите от NeuMoDx HBV Quant Assay Test спрямо тези от еталонните тестове – анализ по Passing-Bablok.

Таблица 18. Резюме на линейния регресионен анализ по Деминг и Пасинг-Баблок за проби от серум

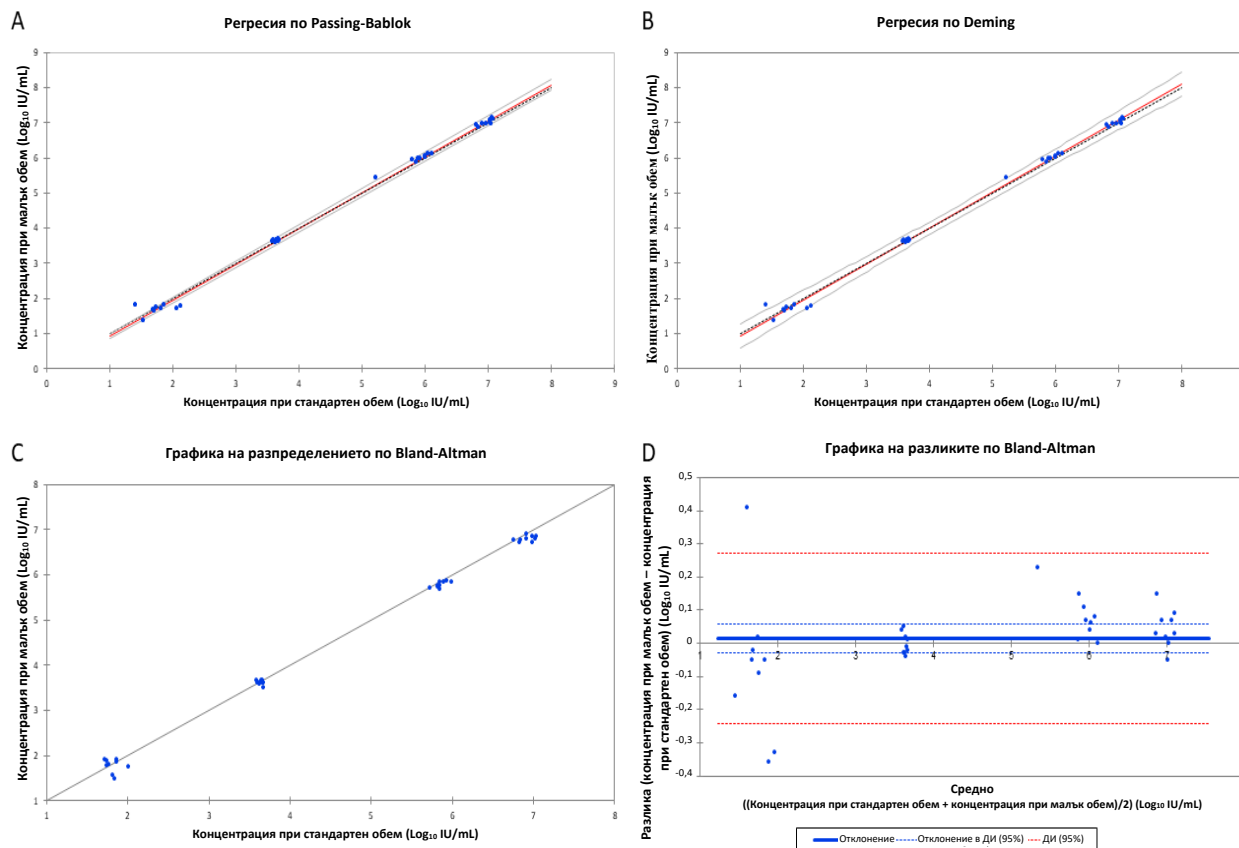
Анализ по Deming			Анализ по Passing-Bablok		
Интерсепт	Коефициент на слоуп	R2	Интерсепт	Коефициент на слоуп	Стойност P
-0,22 95% ДИ (-0,56; 0,12)	0,99 95% ДИ (0,93; 1,07)	0,95	-0,25 95% ДИ (-0,48; 0,06)	0,99 95% ДИ (0,91; 1,06)	0,89

Тестване на фабрикувани проби – процедура за 200 µL обем от пробата

Количествената корелация между процедурите за 200 µL и 550 µL обем от пробата е потвърдена с панел, включващ отделни HBV-отрицателни алиquotни части от плазма и серум с добавка от четири известна нива на материал HBV Control, с проследимост по 4-тия Международен стандарт на СЗО за ДНК на HBV за тестове за нуклеинови киселини. Тези отделни проби от плазма и серум са обработени по двете процедури – за 550 µL и 200 µL обем от пробата – с общо 288 извършени теста. Сравненията за равностойност между концентрацията, съобщена от софтуера NeuMoDx при процедурите за 200 µL и 550 µL обем от пробата, с тази от фабрикувания панел са извършени за всяка отделна алиquotна част. Регресионните анализи по Deming и по Passing-Bablok имат съответно slope 0,985 и 0,998 с интерсепт -0,001 и 0,053 за плазма и 1,024 и 1,018 с интерсепт 0,095 и 0,070 за серум, което демонстрира отлична съгласуваност на количествените определяния на HBV между двата обработвани обема. Сравнение по Bland-Altman показва минимално отклонение между двете процедури. Освен това прости линейни регресионни анализи на очакваната спрямо съобщената концентрация за процедурата за 200 µL дават slope 1,047 и корелационен коефициент 0,998 (плазма) и 1,113 и 0,992 (серум), което потвърждава отличните работни характеристики при използването на процедурата за 200 µL обем от пробата за NeuMoDx HBV Quant Assay. Резултатите от тези изследвания са обобщени по-долу на *Фигура 10* и *Фигура 11*.



Фигура 10: Графика на равностойността – сравнения на съобщените концентрации при малък обем спрямо тези при стандартен обем от пробата. А) Регресия по Passing-Bablok. В) Регресия по Deming. С) Графика на разпределението по Bland-Altman
 D) Графика на разликите по Bland-Altman – проби от плазма



Фигура 11: Графика на равностойността – сравнения на съобщените концентрации при малък обем спрямо тези при стандартен обем от пробата. А) Регресия по Passing-Bablok. В) Регресия по Deming. С) Графика на разпределението по Bland-Altman
 Д) Графика на разликите по Bland-Altman – проби от серум

ЦИТИРАНИ ИЗТОЧНИЦИ















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.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ

NeuMoDx™ е търговска марка на NeuMoDx Molecular, Inc.
 NeuDry™ е търговска марка на NeuMoDx Molecular, Inc.
 TaqMan® е регистрирана търговска марка на Roche Molecular Systems, Inc.

Всички останали наименования на продукти, търговски марки и регистрирани търговски марки, фигуриращи в настоящия документ, са собственост на съответните им притежатели.

ЛЕГЕНДА НА СИМВОЛИТЕ

 R only	За употреба само по лекарско предписание		Ограничение за температура
	Производител		Само за еднократна употреба
	Медицинско изделие за <i>инвитро</i> диагностика		Съдържанието е достатъчно за n теста
	Упълномощен представител в Европейската общност		Вижте инструкциите за употреба
	Каталожен номер		Внимание
	Код на партида		Биологични рискове
	Срок на годност		Маркировка CE



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

Възложител (АВСТРАЛИЯ):
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



Техническа поддръжка/Докладване на бдителност: support@qiagen.com

Патент: www.neumodx.com/patents