

REF 201300 NeuMoDx™ HBV Quant Test Strip

R only

FORSIGTIG: Kun til eksport fra USA

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

 Opdateringer til indlægssedler kan findes på: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Der står flere oplysninger i brugervejledningen til NeuMoDx 288 Molecular System, P/N 40600108

Der står flere oplysninger i brugervejledningen til NeuMoDx 96 Molecular System, P/N 40600317

TILSIGTET ANVENDELSE

NeuMoDx HBV Quant Assay er en automatiseret, *in vitro*-nukleinsyreamplifikation til kvantitering af hepatitis B-virus (HBV)-DNA i humane plasma- og serumprøver til test for HBV-genotype A til og med genotype H hos HBV-inficerede personer. NeuMoDx HBV Quant Assay er implementeret i NeuMoDx 288 Molecular System og NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)) og indeholder automatiseret DNA-ekstraktion for at isolere målnukleinsyren fra prøven og realtids-polymerasekædereaktion (Polymerase Chain Reaction, qPCR) til målsøgning af de højt bevarede sekvenser i hepatitis B-virusgenomet.

NeuMoDx HBV Quant Assay er beregnet til at blive anvendt som en hjælp til behandling af patienter med HBV-infektion. Resultaterne fra NeuMoDx HBV Quant Assay skal fortolkes i sammenhæng med alle relevante kliniske fund og laboratoriefund. NeuMoDx HBV Quant Assay er ikke beregnet til brug som screeningstest af blod eller blodprodukter eller som diagnostisk værktøj til diagnosticering af den kliniske status af HBV-infektion.

OVERSIGT OG FORKLARING

Humant fuldblod opsamles i sterile blodprøvetagningsrør, der enten indeholder ethylendiaminetetra-eddikesyre (Ethylendiaminetetraacetic acid, EDTA) eller acid-citrate-dextrose (ACD) som antikoagulationsmiddel, eller i rør til klargøring af plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT), kan bruges til klargøring af plasma, mens serum skal opsamles i serumseparatorrør eller opsamlingsrør (Serum Separation Tubes, SST). For at forberede til testning sættes plasma eller serum i et rør til sekundære prøver eller fraktioneret blod i et rør til primære prøver, der er kompatibelt med NeuMoDx System, på NeuMoDx System ved hjælp af en dertil beregnet prøverørholder. Bland for hver prøve en alikvot af plasma- eller serumprøven med NeuMoDx Lysis Buffer 1 og NeuMoDx System udfører automatisk alle de trin, der er nødvendige for at ekstrahere målnukleinsyren. Klargør det isolerede DNA til realtids-PCR-amplifikation, og amplificer og påvis amplifikationsprodukterne, hvis de er til stede (sektioner af HBV-genommet i højt bevarede regioner, der koder for et *X-protein* og *preC-protein*). NeuMoDx HBV Quant Assay indeholder en DNA-prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1) til hjælp til monitorering for forekomst af potentielle inhibitoriske stoffer såvel som NeuMoDx System- eller reagensfejl, der kan opstå under ekstraktions- og amplifikationsprocesser.

Hepatitis B-virus (HBV) er det kausale stof i hepatitis B-leverinfektion og er et globalt sundhedsproblem. Hepatitis B-kan forårsage enten akut hepatitis eller kan progrediere til en kronisk sygdom, der medfører levercirrose eller levercancer. Risikoen for at udvikle en kronisk sygdom er primært aldersrelateret. Hvis vira overføres ved fødslen, er sandsynligheden for at udvikle en kronisk sygdom >90 %; en voksen, der inficeres, har derimod en sandsynlighed på 2 %-6 % for at udvikle en kronisk sygdom.¹ HBV overføres enten gennem blod til blod-kontakt med en inficeret person, ved seksuel overførsel, ved at dele kanyler med en inficeret person, der får intravenøs medicin, eller gennem vertikal overførsel fra mor til barn under fødslen. I USA lever ca. 850.000 mennesker med en HBV-infektion, hvoraf størstedelen af de nye infektioner skyldes seksuel overførsel eller overførsel via injektion.² I Afrika og det vestlige Stillehavsområde har hele 5 % af befolkningen en kendt infektion. I 2015 forårsagede HBV-infektion 885.000 dødsfald verden over, især som følge af cirrose eller levercellekarcinom.³ Der findes en vaccine, der er 95 % effektiv til forebyggelse af HBV-infektion, så der er færre diagnosticerede tilfælde hvert år.⁴

Den aktuelle standardbehandling til HBV-infektion er antiviral behandling, som kræver konstant monitorering for at sikre, at behandlingen skrider frem som ønsket. Monitorering af behandlingen ved hjælp af NeuMoDx HBV Quant Assay kan give lægerne de nødvendige oplysninger til håndtering af patienter med HBV-infektioner.

PROCEDUREPRINCIPPER

NeuMoDx HBV Quant Assay kombinerer automatiseret DNA-ekstraktion, amplifikation og påvisning med realtids-PCR. Prøver af fuldblod opsamles i EDTA-, ACD- eller PPT-rør til klargøring af plasma og/eller i SST-rør til klargøring af serum. Den primære (fraktionerede) blodprøve eller en plasma-/serumaliquot i et kompatibelt rør med sekundær prøve forsynes med stregkode og sættes på NeuMoDx System. NeuMoDx System aspirerer automatisk en alikvot af plasmaet/serummet til opblanding med NeuMoDx Lysis Buffer 1 og de reagenser, der er indeholdt i NeuMoDx Extraction Plate, for at starte behandlingen. NeuMoDx System automatiserer og integrerer DNA-ekstraktion og -koncentration, reagensklargøring og nukleinsyreamplifikation/påvisning af målsekvenser ved hjælp af realtids-PCR. Den indeholdte prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1) hjælper med at monitorere for forekomst af hæmmende stoffer og system-, proces- eller reagensfejl. Ingen operatørintervention er nødvendig, når prøven er isat i NeuMoDx System.

NeuMoDx System anvender en kombination af varme, lytisk enzym og ekstraktionsreagenser til automatisk at udføre lysis, DNA-ekstraktion og fjernelse af hæmmere. De frigrivne nukleinsyrer fanges af paramagnetiske partikler. Partiklerne og bundet nukleinsyre sættes i NeuMoDx Cartridge, hvor de ubundne elementer vaskes væk med NeuMoDx Wash Reagent. Det bundne DNA elueres derefter med NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx System anvender det eluerede DNA til at rehydrere egne NeuDry™-amplifikationsreagenser med alle de elementer, der er nødvendige for amplifikation af HBV- og SPC1-målene. Dette muliggør samtidig amplifikation og påvisning af både mål- og kontrol-DNA sekvenserne. Efter rekonstitution af de tørrede PCR-reagenser dispenserer NeuMoDx System den klargjorte PCR-klare blanding ind i ét PCR-kammer (pr. prøve) i NeuMoDx Cartridge. Amplifikation og påvisning af kontrol- og mål-DNA-sekvenserne (hvis til stede) sker i PCR-kammeret. NeuMoDx Cartridge er designet til at indeholde amplikonet efter PCR, så risikoen for kontaminering efter amplifikation praktisk talt elimineres.

De amplificerede mål påvises i realtid med hydrolyseprobekemi (almindeligvis omtalt som TaqMan®-kemi) ved hjælp af fluorogene oligonukleotidprobemolekyler, der er specifikke for amplikonerne for deres respektive mål. TaqMan-prober består af en fluorofor, der er kovalent sat på 5'-enden af oligonukleotidproben, og en quencher i 3'-enden. Mens proben er intakt, er fluoroforen og quencheren i nærheden af hinanden, hvilket gør quenchemolekylet i stand til at undertrykke den fluorescens, der udsendes af fluoroforen via Förster Resonance Energy Transfer (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan-prober er designet således, at de afhælder inden for en DNA-region, der er amplificeret af et specifikt sæt primere. Efterhånden som Taq DNA-polymerasen forlænger primeren og syntetiserer den nye streng, nedbryder Taq DNA-polymerasens 5' til 3'-eksonukleaseaktivitet den probe, der har afhærdet til skabelonen. Nedbrydning af proben frigiver fluoroforen og bryder nærheden til quencheren, hvorved den quenchingeffekt, der skyldes FRET, ophæves, så det er muligt at påvise fluoroforen. Det resulterende fluorescerende signal, der registreres i NeuMoDx Systems kvantitative PCR-termocycler, er direkte proportionelt med den frigivne fluorofor og kan korreleres til den mængde af målet, der er til stede.

En TaqMan-probe mærket med en fluorofor (Excitation: 490 nm og emission: 521 nm) ved 5'-enden og en mørk quencher ved 3'-enden anvendes til at påvise HBV-DNA. Til påvisning af SPC1 mærkes TaqMan-proben med en anden fluorescerende farve (Excitation: 535 nm og emission: 556 nm) ved 5'-enden og en mørk quencher ved 3'-enden. NeuMoDx System-software monitorerer fluorescenssignalet, der udsendes af TaqMan-proberne ved slutningen af hver amplifikationscyklus. Når amplifikationen er færdig, analyserer NeuMoDx System-softwaren dataene og rapporterer et endeligt resultat (POSITIVE (positivt)/NEGATIVE (negativt)/INDETERMINATE (ubestemmeligt)/UNRESOLVED (uafklaret)/NO RESULT (intet resultat)). Hvis et resultat er positivt, og den beregnede koncentration er inden for kvantiteringsgrænserne, viser NeuMoDx System-softwaren også en kvantitativ værdi, der er forbundet med prøven.

REAGENSER/FORBRUGSVARER

Medfølgende materiale

REF	Indhold	Enheder pr. pakke	Tests pr. enhed	Tests pr. pakke
201300	NeuMoDx HBV Quant Test Strip <i>Tørrede PCR-reagenser med HBV- og SPC1-specifikke TaqMan-prober og primere</i>	6	16	96

Nødvendige materialer, der ikke medfølger (kan fås separat hos NeuMoDx)

REF	Indhold
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Tørrede paramagnetiske partikler, lytisk enzym og prøveproceskontroller</i>
800100 eller 800102	NeuMoDx HBV Calibrators <i>Høje og lave HBV-kalibratorsæt til engangsbrug til at fastlægge kalibreringskurvens gyldighed</i>
900101 eller 900102	NeuMoDx HBV External Controls <i>Positive og negative kontrolsæt til engangsbrug</i>
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 kun til *in vitro*-diagnostisk brug med NeuMoDx Systems.
- Brug ikke reagenserne eller forbrugsvarerne efter den angivne udløbsdato.
- Brug ikke reagenserne, hvis sikkerhedsforseglingen er brudt, eller hvis emballagen er beskadiget ved modtagelsen.
- Anvend ikke forbrugsvarerne eller reagenserne, hvis den beskyttende pose er åben eller brudt ved modtagelsen.
- En gyldig testkalibrering (genereret ved at behandle høje og lave kalibratorer fra NeuMoDx HBV Calibrators) skal være tilgængelig, inden testresultaterne kan genereres for kliniske prøver.
- NeuMoDx HBV External Controls skal behandles med 24 timers mellemrum under testningen med NeuMoDx HBV Quant Assay.

- Mindste prøveløbet afhænger af rørstørrelses-/prøverørholder- og prøveløbetbehandling som defineret nedenfor. Et løbet under den anførte minimumsværdi kan resultere i fejlen "Quantity Not Sufficient" (Kvantitet ikke tilstrækkelig).
- Anvendelse af prøver, der har været opbevaret ved forkert temperatur eller i længere tid end den anførte opbevaringstid, kan resultere i ugyldige eller fejlbehæftede resultater.
- Undgå altid mikrobiel kontaminering og kontaminering med deoxyribonuklease (DNase) af alle reagenser og forbrugsvarer. Det anbefales at bruge sterile DNase-fri overførselspipetter til engangsbrug, hvis der anvendes sekundære rør. Anvend en ny pipette for hver prøve.
- Undgå at håndtere eller adskille en NeuMoDx Cartridge efter amplifikation for at undgå kontaminering. Opsaml under ingen omstændigheder NeuMoDx Cartridges fra opsamlingsbeholderen til biologisk farligt affald (NeuMoDx 288 Molecular System) eller beholderen til biologisk farligt affald (NeuMoDx 96 Molecular System). NeuMoDx Cartridge er designet til at forhindre kontaminering.
- I tilfælde, hvor laboratoriet også udfører PCR-tests på åbne rør, skal der udvises forsigtighed for at sikre, at NeuMoDx HBV Quant Test Strip, de yderligere forbrugsvarer og reagenser, der skal bruges til testning, personligt beskyttelsesudstyr som f.eks. handsker og laboratoriekitler og NeuMoDx System ikke er kontaminerede.
- Der skal bruges rene, pulverfri nitrilhandsker ved håndtering af NeuMoDx-reagenser og -forbrugsvarer. Der skal udvises forsigtighed, så den øverste flade i NeuMoDx Cartridge, den folieforseglede flade i NeuMoDx HBV Quant Test Strip eller NeuMoDx Extraction Plate eller den øverste flade i NeuMoDx Lysis Buffer 1 ikke berøres. Håndtering af forbrugsvarerne og reagenserne må kun foregå ved at berøre sidefladerne.
- Sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) for hvert reagens (efter relevans) findes på www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Vask hænderne grundigt, når testen er udført.
- Der må ikke pipetteres med munden. Der må ikke ryges, drikkes eller spises på områder, hvor der håndteres prøver eller reagenser.
- Prøver skal altid behandles som værende smittefarlige og i overensstemmelse med sikre laboratorieprocedurer som dem, der er beskrevet i *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁵ og i CLSI-dokument M29-A4.⁶
- Bortskaf ubrugte reagenser og affald i overensstemmelse med nationale, provinsielle, statslige og lokale bestemmelser.
- Må ikke genbruges.



PRODUKTOPBEVARING, -HÅNDBETING OG -STABILITET

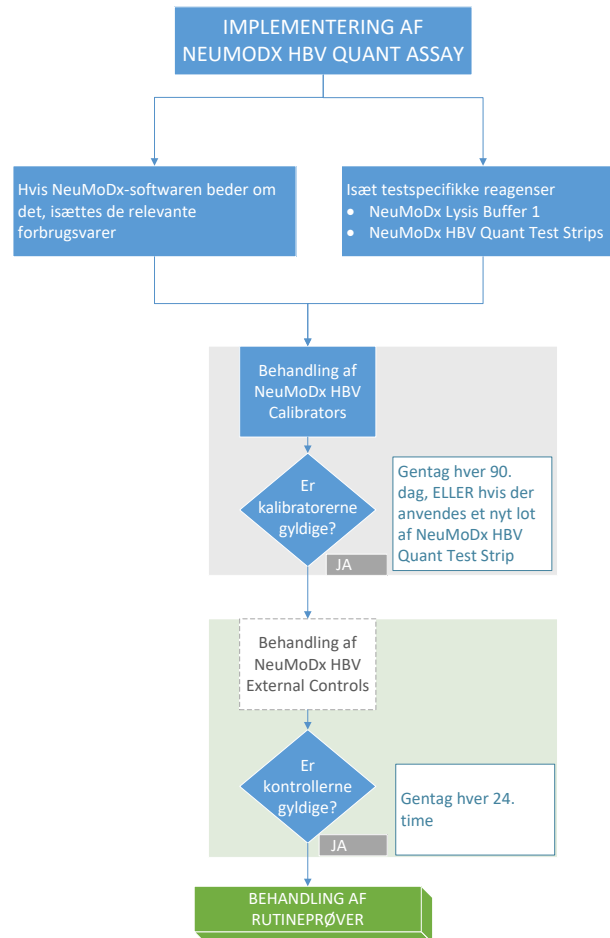
- NeuMoDx HBV Quant Test Strips er stabile i den primære emballage indtil den angivne udløbsdato på den umiddelbare produktetiket, når de opbevares ved 4-28 °C.
- Ingen forbrugsvarer og reagenser må anvendes efter den angivne udløbsdato.
- Et testprodukt må ikke anvendes, hvis den primære eller sekundære emballage er blevet synligt kompromitteret.
- Hvis et testprodukt tidligere har været sat i et andet NeuMoDx System, må produktet ikke anvendes igen.
- Når NeuMoDx HBV Quant Test Strip er isat, kan den forblive i NeuMoDx System i 62 dage. Den resterende holdbarhed for isatte teststrimler spores af softwaren og rapporteres til brugeren i realtid. Systemet beder brugeren om at fjerne en eventuel teststrimmel, der har været i brug ud over den tilladte periode.

PRØVEINDSAMLING, TRANSPORT OG OPBEVARING

1. Håndter alle prøver, kalibratorer og kontroller, som om de kan overføre smitstoffer.
2. Fuldblod eller prøver, der opbevares i primære rør, må ikke nedfryses.
3. Fuldblod skal opsamles i sterile rør, der indeholder EDTA eller ACD til antikoagulation, til klargøring af plasmaprøver. Følg instruktionerne fra producenten af prøvetagningsrøret om klargøring og opbevaring.
4. Fuldblod skal opsamles i SST-rør ved klargøring af serumprøver. Følg instruktionerne fra producenten af prøvetagningsrøret om klargøring og opbevaring.
5. Prøver kan testes i primære prøvetagningsrør eller sekundære prøverør. Anbefales ved testning af rør med primær prøve:
 - 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 opbevares i NeuMoDx System i hhv. op til 8 timer (plasmaprøver) og 24 timer (serumprøver) inden behandling. Hvis yderligere opbevaringstid er påkrævet, anbefales det, at prøverne enten nedkøles eller nedfryses som sekundære alikvoter.
7. Klargjorte prøver kan opbevares ved mellem 2 og 8 °C i maksimalt 7 dage før testning og i maksimalt 8 timer (plasma) eller 24 timer (serum) ved stuetemperatur.
8. Forberedte prøver kan opbevares ved ≤ -20 °C i op til 4 uger (serum) eller 6 måneder (plasma) inden behandling; frosne prøver må gennemgå mere end 2 nedfrysningsoptøningscyklusser (plasma) og 4 nedfrysningsoptøningscyklusser (serum) inden anvendelse.
 - a. Hvis prøverne fryses, skal de tøjelt op ved stuetemperatur (15-30 °C). Bland dem i vortexer for at få en ensartet fordeling i prøverne.
 - b. Når de frosne prøvet er tøjelt, skal testen udføres inden for 24 timer.
 - c. Det er ikke anbefalet at nedfryse plasma/serum i primære prøvetagningsrør.

9. Hvis prøverne sendes, skal de pakkes og mærkes i overensstemmelse med de gældende regler i landet og/eller internationale regler.
10. Mærk prøverne tydeligt, og angiv, at prøverne er til HBV-testning.
11. Fortsæt med afsnittet *Testklargøring*.

Den samlede proces for implementering af NeuMoDx HBV Quant Assay opsummeres nedenfor i *figur 1*.



Figur 1: Arbejdsgang for implementering af NeuMoDx HBV Quant Assay

BRUGSANVISNING

Testklargøring

NeuMoDx HBV Quant Assay kan køres direkte fra primære blodprøvetagningsrør eller fra prøvealiquoter i sekundære rør. Behandling kan foregå med et af to behandlingsworkflow for prøvevolumener – workflow for 550 µl prøvevolumen eller workflow for 200 µl prøvevolumen. Sæt prøvestregkodeetiket på et prøverør, der er kompatibelt med NeuMoDx System.

1. Sæt prøvestregkodeetiket på et prøverør, der er kompatibelt med NeuMoDx System. Det primære blodprøvetagningsrør kan forsynes med etiket og sættes direkte i en prøverørsholder med plads til 32 rør efterfulgt af centrifugering i henhold til producentens vejledning. Alternativt kan der overføres en aliquot af plasmaet/serummet til et sekundært rør med henblik på behandling på NeuMoDx System.
2. Hvis prøven skal testes i det primære prøvetagningsrør, skal du sætte røret med stregkode i en prøverørsholder og sørge for, at hættten er taget af, inden røret sættes i NeuMoDx System. Mindstevolumener **over** gel/buffylag er defineret herunder og vil være opfyldt, hvis prøver opsamles og behandles i henhold til rørproducentens vejledning. Ydeevnen kan ikke garanteres for prøver, der er opsamlet ukorrekt.

Rørtype	Mindste nødvendige prøvevolumen	
	550 µl-workflow	200 µl-workflow
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 der anvendes et sekundært rør, skal du overføre en alikvot af plasmaet/serummet til et prøverør med strekcode, der er kompatibelt med NeuMoDx System, i henhold til nedenstående mængder:

Prøverørsholder	Rørstørrelse	Mindste nødvendige prøvevolumen	
		550 µl-workflow	200 µl-workflow
32-Tube Specimen Tube Carrier	11-14 mm diameter gange 60-120 mm højde	700 µl	400 µl
24-Tube Specimen Tube Carrier	14,5-18 mm diameter gange 60-120 mm højde	1100 µl	800 µl
Low Volume Specimen Tube Carrier (prøverørsholder med lavt volumen)	1,5 ml mikrocenrifugerør med konisk bund	650 µl	300 µl

Betjening af NeuMoDx System

Der står flere oplysninger i brugervejledningerne til NeuMoDx 288 og 96 Molecular System (P/N 40600108 og 40600317)

- Indtast testbestillingen i NeuMoDx System i henhold til det ønskede behandlingsworkflow for prøvevolumen og den ønskede type af prøverør:
 - 550 µl prøvevolumen testes ved at definere prøvetypen som "**Plasma**" eller "**Serum**"
 - 200 µl prøvevolumen testes ved at definere prøvetypen som "**Plasma2**" eller "**Serum2**"
 - Medmindre andet defineres i testbestillingen, bliver prøvetypen **Plasma** i et **Secondary Tube** (sekundært rør) anvendt som standard.
- Sæt NeuMoDx HBV Quant Test Strip(s) i ét eller flere NeuMoDx System Test Strip-holder(e) og brug berøringsskærmen til at sætte teststrimmelholde(e) i NeuMoDx System.
- Hvis NeuMoDx System-softwaren beder om det, tilsættes de nødvendige påkrævede forbrugsvarer til NeuMoDx Systems holdere til forbrugsvarer, og berøringsskærmen bruges til at sætte holderen/holderne i NeuMoDx System.
- Hvis NeuMoDx System-softwaren beder om det, skal du udskifte NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent. Primingaffaldet, opsamlingsbeholderen til biologisk farligt affald (kun NeuMoDx 288 Molecular System), beholderen til biologisk farligt spidsaffald (kun NeuMoDx 96 Molecular System) eller beholderen til biologisk farligt affald (kun NeuMoDx 96 Molecular System) tømmes efter behov.
- Hvis NeuMoDx System-softwaren beder om det, skal NeuMoDx HBV Calibrators og/eller NeuMoDx HBV External Controls behandles. Der er yderligere oplysninger vedrørende kalibratorer og kontroller i afsnittet *Resultatbehandling*.
- Sæt prøve-/kalibrator-/kontrolrør/-ne ind i en prøverørsholder, og sørg for, at hæfterne er taget af alle rør.
- Anbring prøverørsholderen/-ne på hylden til automatisk isætning, og brug berøringsskærmen til at isætte holderen/-ne i NeuMoDx System. Derved startes behandlingen af de isatte prøver for de identificerede tests, forudsat at der er en gyldig testbestilling i systemet.

BEGRÆNSNINGER

- NeuMoDx HBV Quant Test Strip kan kun anvendes på NeuMoDx System.
- Ydeevnen for NeuMoDx HBV Quant Test Strip er blevet fastlagt for plasmaprøver, der blev klargjort med EDTA/ACD som antikoagulerende middel eller serumprøver, der blev klargjort i serumseparatorrør. Anvendelsen af NeuMoDx HBV Quant Test Strip sammen med andre kilder er ikke vurderet, og ydelseskarakteristika kendes ikke for andre prøvetyper.
- Ydeevnen for NeuMoDx HBV Quant Test Strip er blevet fastlagt for testning af rør med primær prøve ved brug af BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tubes og BD PPT Plasma Preparation Tube, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube og BD Vacutainer SST Tube.
- En svag stigning i påvisningsgrænsen og den laveste grænse for kvantitering af NeuMoDx HBV Quant Assay er blevet observeret, når workflowet for 200 µl prøvevolumen anvendes.

5. NeuMoDx HBV Quant Assay anvendes kun til kvantitativ overvågning. Kvalitativ påvisning er ikke tiltænkt anvendelse.
6. NeuMoDx HBV Quant Assay må ikke anvendes med prøver fra personer, der har fået blodfortyndende medicin.
7. Da påvisningen af HBV afhænger af antallet af mål-DNA-partikler, der er til stede i prøven, afhænger pålidelige resultater af korrekt prøveindsamling, håndtering og opbevaring.
8. NeuMoDx HBV Calibrators og NeuMoDx HBV External Controls skal behandles i henhold til anbefalingen i indlægsedlerne, når det angives af NeuMoDx System-softwaren, inden behandling af rutinemæssige kliniske prøver.
9. Der kan forekomme fejlbehæftede resultater fra forkert prøveindsamling, håndtering, opbevaring, tekniske fejl eller forveksling af prøverør. Desuden kan der forekomme falske negative resultater, fordi antallet af viruspartikler i prøven er lavere end påvisningsgrænsen i NeuMoDx HBV Quant Assay.
10. Kun personale, der er uddannet i brugen af NeuMoDx System, må betjene NeuMoDx System.
11. Hvis både HBV-målet og SPC1-målet ikke amplificeres, vil resultatet blive rapporteret som ugyldigt (Indeterminate (ubestemmeligt), No Result (intet resultat) eller Unresolved (uafklaret)), og testen skal gentages.
12. Hvis resultatet fra NeuMoDx HBV Quant Assay er Positive (positivt), men kvantiteringsværdien er under grænserne for kvantitering, vil NeuMoDx System rapportere, om det påviste HBV var *under* den nederste grænse for kvantitering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) eller *over* den øverste grænse for kvantitering (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
13. Hvis det påviste HBV var *under* LLoQ, kan analysen gentages (hvis det ønskes) med en anden alikvot af prøven.
14. Hvis det påviste HBV var over ULoQ, skal NeuMoDx HBV Quant Assay gentages med en fortyndet alikvot af den oprindelige prøve. Det anbefales at anvende en fortynding på 1:1000 i HBV-negativ plasma eller Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Koncentrationen af den oprindelige prøve kan beregnes som følger:

$$\text{koncentration af oprindelig prøve} = \log_{10}(\text{fortyndingsfaktor}) + \text{rapporteret koncentration af den fortyndede prøve}$$
15. Der kan af og til være en forekomst af PCR-hæmmere i plasma, som kan føre til en kvantiteringsfejl i systemet. Hvis det sker, anbefales det at gentage testen med samme prøve fortyndet i Basematrix med 1:10 eller 1:100.
16. Et positivt resultat indikerer ikke nødvendigvis forekomsten af levedygtige organismer. Men et positivt resultat angiver, at det er sandsynligt, at der er hepatitis B-virus-DNA.
17. Deletioner eller mutationer i de bevarede regioner, som NeuMoDx HBV Quant Assay er målrettet mod, kan få indflydelse på påvisningen eller føre til et fejlbehæftet resultat ved brug af NeuMoDx HBV Quant Test Strip.
18. Resultater fra NeuMoDx HBV Quant Assay skal anvendes som et supplement til kliniske observationer og andre oplysninger, der er tilgængelige for lægen. Analysen er ikke beregnet til diagnosticering af infektion.
19. God laboratoriepraksis anbefales, herunder handskeskift mellem håndtering af patientprøver for at undgå kontaminering.

RESULTATBEHANDLING

Tilgængelige resultater kan vises eller udskrives fra fanen 'Results' (Resultater) i vinduet Results (Resultater) på NeuMoDx Systems berøringsskærm. NeuMoDx HBV Quant Assay-resultater genereres automatisk af NeuMoDx System-softwaren ved hjælp af beslutningsalgoritmen og de parametre for resultatbehandling, der er angivet i NeuMoDx HBV Quant Assay-definitionsfil (HBV ADF). Et resultat kan rapporteres som Negative (negativt), Positive (positivt) med en rapporteret HBV-koncentration, Positive (positivt) over ULoQ, Positive (positivt) under LLoQ, Indeterminate (ubestemmeligt), No Result (intet resultat) eller Unresolved (uafklaret) baseret på målets og prøveproceskontrollens amplifikationsstatus. Resultater rapporteres ud fra ADF-beslutningsalgoritmen, som er opsummeret nedenfor i *Table 1*.

Tabel 1: Opsummering af beslutningsalgoritme for HBV Quant Assay

RESULTAT	HBV-mål	Prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1)	Fortolkning af resultat
Positive (positivt) med rapporteret koncentration	Amplified (amplificeret) $0,9 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (550 μl workflow) $1,4 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (200 μl workflow)	Amplified (amplificeret) eller Not Amplified (ikke amplificeret)	HBV-DNA påvist inden for kvantitativt område
Positive (positivt), over ULoQ	Amplified (amplificeret) $[\text{HBV}] > 9,0 \log_{10} \text{ IE/ml}$	Amplified (amplificeret) eller Not Amplified (ikke amplificeret)	HBV-DNA påvist over kvantitativt område
Positive (positivt), under LLoQ	Amplified (amplificeret) $[\text{HBV}] < 0,9 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (550 μl workflow) $[\text{HBV}] < 1,4 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (200 μl workflow)	Amplified (amplificeret) eller Not Amplified (ikke amplificeret)	HBV-DNA påvist under kvantitativt område
Negative (Negativt)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Amplified (amplificeret)	HBV DNA ikke påvist
Indeterminate (ubestemmelig)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (ikke amplificeret, systemfejl registreret, prøvebehandling fuldført)		Alle målresultater var ugyldige – test prøven igen†
No Result* (Intet resultat)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (ikke amplificeret, systemfejl registreret, prøvebehandling afbrudt)		Prøvebehandling blev afbrudt – test prøven igen†
Unresolved (uafklaret)	Not Amplified, No System Error Detected (Ikke amplificeret, Ingen systemfejl registreret)		Alle målresultater var ugyldige – test prøven igen†

* Flagmarkeringen No Result (intet resultat) rapporteres kun på NeuMoDx System softwareversion 1.8 og højere.

†NeuMoDx System har en automatisk funktion til Rerun (ny kørsel)/Repeat (gentag), som slutbrugeren kan vælge for at sikre, at et IND (UBEST.)/UNR (UAFKL.)/NR (INTET RES.) resultat automatisk genbehandles for at sikre så hurtige resultater som muligt.

Testberegning

- For prøver, der ligger inden for kvantiteringsområdet for NeuMoDx HBV Quant Assay, beregnes koncentrationen af HBV-DNA i prøverne ved hjælp af den gemte standardkurve sammen med kalibreringskoefficienten og prøvevolumenen.
 - Der beregnes en kalibreringskoefficient ud fra resultaterne fra de behandlede NeuMoDx HBV Calibrators for at fastlægge gyldigheden af standardkurven for et givet lot af NeuMoDx HBV Quant Test Strip på et bestemt NeuMoDx System.
 - Kalibreringskoefficienten indgår i den endelige bestemmelse af koncentrationen af HBV-DNA.
 - NeuMoDx Software tager højde for anvendt prøvevolumen ved bestemmelse af koncentrationen af HBV-DNA pr. ml prøve.
- NeuMoDx HBV Quant Assay-resultaterne rapporteres i \log_{10} IE/ml.
- Den deraf følgende kvantitering af de ukendte prøver er sporbar i henhold til WHO 4th HBV International Standard.

Testkalibrering

En gyldig kalibrering baseret på standardkurven er nødvendig for at kvantitere HBV-DNA i prøverne. For at generere gyldige resultater skal der gennemføres en testkalibrering med de eksterne kalibratorer, der er leveret af NeuMoDx Molecular, Inc.

Kalibratorer

- Der skal behandles et sæt NeuMoDx HBV Calibrators med hvert nyt lot af NeuMoDx HBV Quant Test Strips, hvis en ny HBV Quant Assay-definitionsfil uploades i NeuMoDx System, hvis det aktuelle kalibratorsæt har overskredet gyldighedstiden (i øjeblikket indstillet til 90 dage), eller hvis NeuMoDx System-softwaren ændres.
- NeuMoDx System-softwaren vil informere brugeren om, hvornår kalibratorerne skal behandles. Et nyt lot teststrimler kan ikke bruges til testning, før behandlingen af kalibratorerne er gennemført.
- Kalibreringens gyldighed fastlægges efter følgende metode:
 - Et sæt med to kalibratorer – én (1) høj og én (1) lav – skal behandles for at fastlægge gyldigheden.
 - Mindst to (2) ud af de tre (3) replikater skal give resultater inden for på forhånd definerede parametre. Det nominelle mål for den lave kalibrator er $3,7 \log_{10} \text{ IE/ml}$, og det nominelle mål for den høje kalibrator er $5,7 \log_{10} \text{ IE/ml}$.
 - Der beregnes en kalibreringskoefficient for at tage højde for forventet variation mellem teststrimmellot. Denne kalibreringskoefficient bruges til bestemmelse af den endelige HBV-koncentration.

4. Hvis gyldighedskontrollen ikke lykkes for den ene eller begge kalibratorer, skal behandlingen af den eller disse kalibrator(er) gentages med et nyt hætteglas. Hvis gyldigheden ikke er som ønsket for en kalibrator, er det muligt kun at gentage denne kalibrator, da systemet ikke kræver, at brugeren skal køre begge kalibratorer igen.
5. Hvis gyldighedskontrollen gentagne gange i træk ikke lykkes for kalibratoren/kalibratorerne, skal du kontakte NeuMoDx Molecular, Inc.

Kvalitetskontrol

Lokale bestemmelser angiver typisk, at laboratoriet er ansvarligt for kontrolprocedurer, der monitorerer nøjagtighed og præcision for hele den analytiske proces og skal dokumentere antal, type og hyppighed for testkontrolmaterialer ved hjælp af verificerede ydelsesspecifikationer for et umodificeret, godkendt testsystem.

Eksterne kontroller

1. Der skal behandles positive og negative eksterne kontroller med 24 timers mellemrum under testningen med NeuMoDx HBV Quant Assay. Hvis resultaterne for et sæt gyldige eksterne kontroller ikke findes, vil NeuMoDx System-softwaren bede brugeren om, at behandle kontroller, inden prøveresultaterne kan rapporteres.
2. Gyldigheden af eksterne kontroller vil blive vurderet af NeuMoDx System baseret på det forventede resultat. Den positive kontrol bør give et HBV Positive (positivt) resultat, og den negative kontrol bør give et HBV Negative (negativt) resultat.
3. Et afvigende resultat for eksterne kontroller håndteres som følger:
 - a) Et Positive (positivt) testresultat, der rapporteres for en negativ kontrolprøve, angiver et problem med kontamination af en prøve.
 - b) Et Negative (negativt) testresultat, der rapporteres for en positiv kontrolprøve, kan indikere, at der er et problem i forbindelse med et reagens eller et instrument.
 - c) I begge ovenstående tilfælde eller i tilfælde af et Indeterminate (IND) (ubestemmeligt) eller No Result (NR) (intet resultat) skal NeuMoDx HBV External Controls gentages med friske hætteglas for den/de kontrol(ler), hvor gyldighedstesten ikke lykkedes.
 - d) Hvis der fortsat rapporteres et Negative (negativt) resultat for en positiv NeuMoDx HBV External Control, skal du kontakte teknisk service hos NeuMoDx.
 - e) Hvis der fortsat rapporteres et Positive (positivt) resultat for en negativ NeuMoDx HBV External Control, skal du forsøge at eliminere alle kilder til en mulig kontaminering, herunder at udskifte alle reagenser, inden du kontakter teknisk service hos NeuMoDx.

(Interne) prøveproceskontroller

Der er indbygget en eksogen prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC1) i NeuMoDx Extraction Plate, og denne bliver udsat for hele processen med nukleinsyre-ekstraktion og realtids-PCR-amplifikation sammen med hver prøve. Desuden indeholder hver NeuMoDx HBV Quant Test Strip primere og prober, der er specifikke for SPC1, så SPC1 kan påvises med mål-HBV-DNA (hvis dette er til stede) via multiplex-PCR. Påvisning af SPC1-amplifikation gør det muligt for NeuMoDx System-softwaren at monitorere effekten af DNA-ekstraktions- og PCR-amplifikationsprocesserne.

Ugyldige resultater

Hvis en NeuMoDx HBV Quant Assay, der er udført i NeuMoDx System, ikke leverer et gyldigt resultat efter afsluttet prøvebehandling, rapporteres den som enten Indeterminate (IND) (ubestemmeligt), No Result (NR) (intet resultat) eller Unresolved (UNR) (uafklaret) baseret på den fejltipe, der fandt sted.

IND (ubestemmeligt) rapporteres som resultat, hvis der registreres en NeuMoDx System-fejl under prøvebehandling. Hvis IND (ubestemmeligt) rapporteres som resultat, anbefales en omtest.

UNR (uafklaret) vil blive rapporteret som resultat, hvis der ikke påvises en gyldig amplifikation af HBV-DNA eller SPC1, og der ikke samtidig er systemfejl, hvilket angiver en mulig reagensfejl eller forekomst af hæmmere. Hvis UNR (uafklaret) rapporteres som resultat, anbefales en omtest som første trin. Hvis omtesten ikke lykkes, kan der anvendes en prøvafortynding for at dæmpe virkningen af en eventuel prøveinhibering.

Hvis en NeuMoDx HBV Quant Assay foretaget på NeuMoDx System ikke giver et gyldigt resultat, og prøvebehandlingen afbrydes inden færdiggørelse, rapporteres der et No Result (NR) (intet resultat). Hvis NR (intet resultat) rapporteres som resultat, anbefales en omtest.

YDELSKARAKTERISTIKA

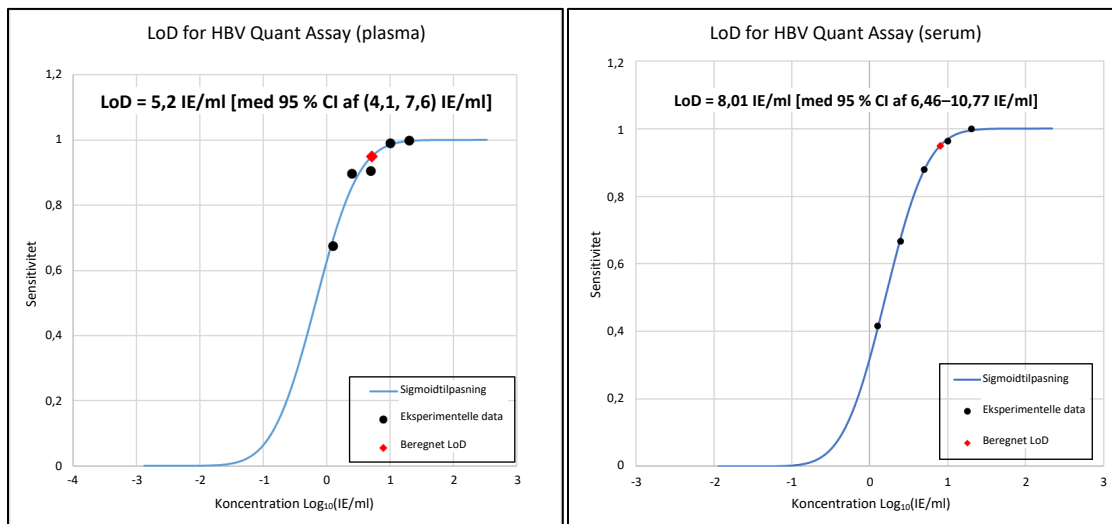
Analytisk sensitivitet – påvisningsgrænse i henhold til standarden fra WHO

Den analytiske sensitivitet i NeuMoDx HBV Quant Assay blev beskrevet gennem test af negative prøver og en fortyndingsserie af WHO 4th International Standard i screenet negativt humant plasma og serum for at bestemme påvisningsgrænsen (Limit of Detection, LoD) i NeuMoDx System. LoD blev defineret som det laveste målniveau, der blev påvist ved 95 % som bestemt ved probitanalyse. Studierne blev foretaget i løbet af 3 dage i flere NeuMoDx Systemer med flere lot af NeuMoDx-reagenser. Et supplerende studie blev foretaget for at bekræfte LoD for NeuMoDx HBV Quant Assay ved anvendelse af workflow for 200 µl prøvevolumen. Påvisningsrater fra begge studier er vist i *tabel 2*.

Tabel 2: Positive påvisningsrater til LoD-bestemmelse af NeuMoDx HBV Quant Assay

	Målkonzentration [IE/ml]	Målkonzentration [\log_{10} IE/ml]	PLASMA			SERUM		
			Antal gyldige tests	Antal positive	Påvisningsrate	Antal gyldige tests	Antal positive	Påvisningsrate
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	ikke relevant	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 (4th WHO International Standard) i plasma blev påvist til at være 5,2,2 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)] med brug af workflow for 550 μ l prøvevolumen (figur 2). LoD for NeuMoDx HBV Quant Assay for serumprøver blev påvist til at være 8,0 IE/ml (95 % CI 6,5–10,8 IE/ml) [(0,9 \log_{10} IE/ml) (95 % CI 0,8–1,0 \log_{10} IE/ml)] med brug af workflow for 550 μ l prøvevolumen (figur 2).



Figur 2: Probitanalyse anvendt til bestemmelse af LoD for NeuMoDx HBV Quant Assay, plasma (venstre) og serum (højre)

Analytisk sensitivitet – kvantiteringsgrænse – nederste grænse for kvantitering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) i henhold til standarden fra WHO

Den nederste grænse for kvantitering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) defineres som det laveste målniveau, hvor >95 % påvisning opnås OG TAE \leq 1,0. For at bestemme LLoQ blev analytiske fejl i alt (Total Analytical Error, TAE) beregnet for hver af de HBV-målniveauer, der var vist i rapporterne med > 95 % påvisning som en del af LoD-beregningen. TAE defineres som følger:

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

Biasen er den absolutte værdi af differencen mellem den beregnede koncentration og den forventede koncentration. SD refererer til standardafvigelsen af den kvantificerede værdi af prøven.

En samlet præsentation af resultaterne for de 5 niveauer af HBV-prøver, som blev brugt i LLoQ-studiet med brug af 4th WHO International Standard, er vist i tabel 3. LLoQ for 4th WHO International Standard i plasma med brug af NeuMoDx HBV Quant Assay (med brug af workflow for 550 μ l prøvevolumen) blev påvist til at være 5,5 IE/ml (0,74 \log_{10} IE/ml). Et separat studie blev foretaget for at bekræfte LLoQ med brug af workflow for 200 μ l prøvevolumen, og disse resultater viste en LLoQ på 25 IE/ml, hvilket også er vist i tabel 3.

LLoQ for NeuMoDx HBV Quant Assay for serumprøver blev påvist til at være 6,0 IE/ml med brug af workflow for 550 μ l prøvevolumen og 25 IE/ml for workflow med lavt prøvevolumen (200 μ l) som vist i tabel 3.

Tabel 3: NeuMoDx HBV Quant Assay LLoQ, med bias and TAE

	Målkonc. [IE/ml]	Målkonc. [log ₁₀ IE/ml]	Plasma					Serum				
			Gennemsnitlig konc. [log ₁₀ IE/ml]	Påvisning (%)	SD	Bias	TAE	Gennemsnitlig konc. [log ₁₀ IE/ml]	Påvisning (%)	SD	Bias	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

Analytisk sensitivitet – LoD og LLoQ for alle HBV-genotyper

LoD blev først fastlagt for genotype A (4th WHO International Standard), og derefter blev der udført yderligere tests omkring den fastlagte LoD, hvor hver enkelt af de andre 7 genotyper blev anvendt. Seksogtredive (36) replikater på niveauer svarende til 2, 1 og 0,5 gange den øverste grænse med 95 % CI for LoD (~7 IE/ml) blev testet ved hjælp af NeuMoDx HBV Quant Assay med brug af workflow for 550 µl prøvevolumen. Den positive procentdel for hver genotype på hver af disse testede niveauer blev opstillet i tabeller og brugt til at beregne LoD ved hjælp af en probitanalyse.

Analytisk fejl i al på disse testede niveauer blev ligeledes beregnet. Det laveste niveau med 95 % positiv påvisning og beregnet TAE på ≤ 1,0 blev igen betragtet som LLoQ for genotypen. På tværs af genotyper blev påvisningsgrænsen for NeuMoDx HBV Quant Assay for plasma-prøver med brug af workflow for 550 µl prøvevolumen påvist til at være 6,2 IE/ml (0,79 log₁₀ IE/ml), og LLoQ blev påvist til at være 7,6 IE/ml (0,88 log₁₀ IE/ml) som vist i tabel 4.

Tabel 4. HBV-genotyper testet i plasma med brug af workflow for 550 µl prøvevolumen

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

Baseret på resultatet af disse studier hævder NeuMoDx en **LoD og LLoQ på 25 IE/ml (1,4 log₁₀ IE/ml)** for the NeuMoDx HBV Quant Assay med brug af workflow for **200 µl prøvevolumen i plasma og serum**.

NeuMoDx hævder en **LoD og en LLoQ på 8,0 IE/ml (0,9 log₁₀ IE/ml)** for NeuMoDx HBV Quant Assay med brug af workflow for **550 µl prøvevolumen i plasma og serum**.

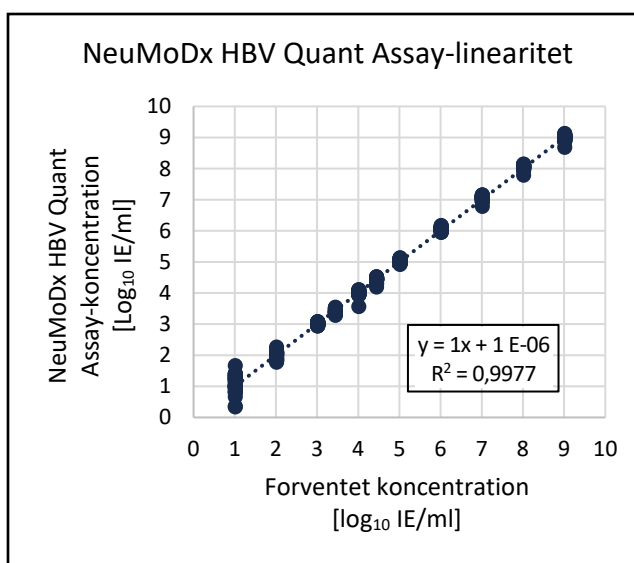
Analytisk sensitivitet – Linearitet og bestemmelse af øverste grænse for kvantitering (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)

Linearitet og bestemmelse af øverste grænse for kvantitering (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) for NeuMoDx HBV Quant Assay blev fastlagt i plasma ved at klargøre en fortyndingsserie med brug af en klinisk prøve med høj positiv HBV (Access Biologicals, Vista, CA) med etableret sporbarhed jf. 4th WHO International Standard. Et panel med 11 elementer blev klargjort i poollet HBV-negativ plasma for at oprette et panel, der ville dække et koncentrationsområde på 9,02-1,02 log₁₀ IE/ml. Testpanelet blev behandlet med 6 replikater på hvert niveau på 2 NeuMoDx Systems og 3 lot med kritiske reagenser. NeuMoDx HBV Quant Assay påviste evnen til at kvantitere HBV for alle 8 log₁₀ lineære områder (inklusive kritiske medicinske beslutningspunkter) med en afvigelse på ±0,22 log₁₀ IE/ml. Der blev ikke opnået en fordel ved at bruge regressionstilpasninger i 2. og 3. række. ULoQ blev ved hjælp af dataene fra dette studie bestemt til at være 9,02 log₁₀ IE/ml [tabel 5 og figur 3].

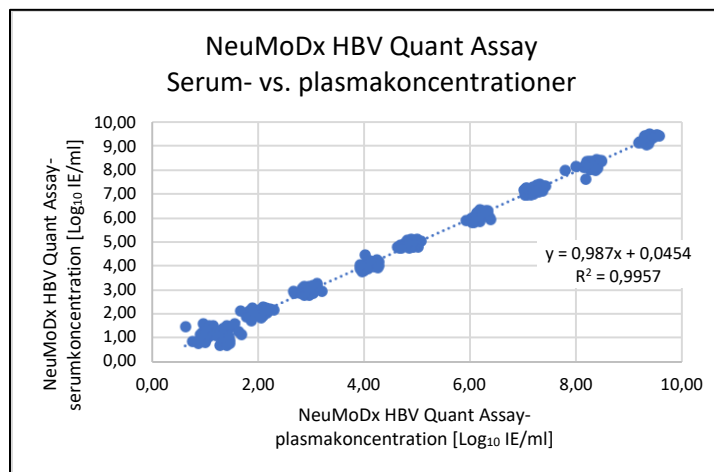
Tabel 5: Linearitet for NeuMoDx HBV Quant Assay (evalueret med genotype A)

Målkonc. (IE/ml)	Målkonc. (log ₁₀ IE/ml)	Middelværdi for konc. (log ₁₀ IE/ml)	Standardafvigelse	Bias	Forudsagt lineær tilpasning	Afvigelse fra ikke-lineær tilpasning
1,05 E+09	9,02	8,99	0,08	0,06	9,02	-0,04
1,05 E+08	8,02	8,05	0,07	0,05	8,02	0,03
1,05 E+07	7,02	7,05	0,07	0,06	7,02	0,04
1,05 E+06*	6,02	6,05	0,05	0,05	6,02	0,03
1,05 E+05	5,02	5,04	0,05	0,04	5,02	0,00
2,82 E+04*	4,45	4,43	0,07	0,05	4,45	-0,01
1,05 E+04	4,02	3,99	0,09	0,05	4,02	-0,02
2,82 E+03*	3,45	3,41	0,07	0,06	3,45	-0,03
1,05 E+03	3,02	3,00	0,04	0,04	3,02	-0,03
1,05 E+02	2,02	1,99	0,11	0,09	2,02	-0,01
1,05 E+01	1,02	1,09	0,29	0,23	1,02	0,06

*Nær medicinske beslutningspunkter

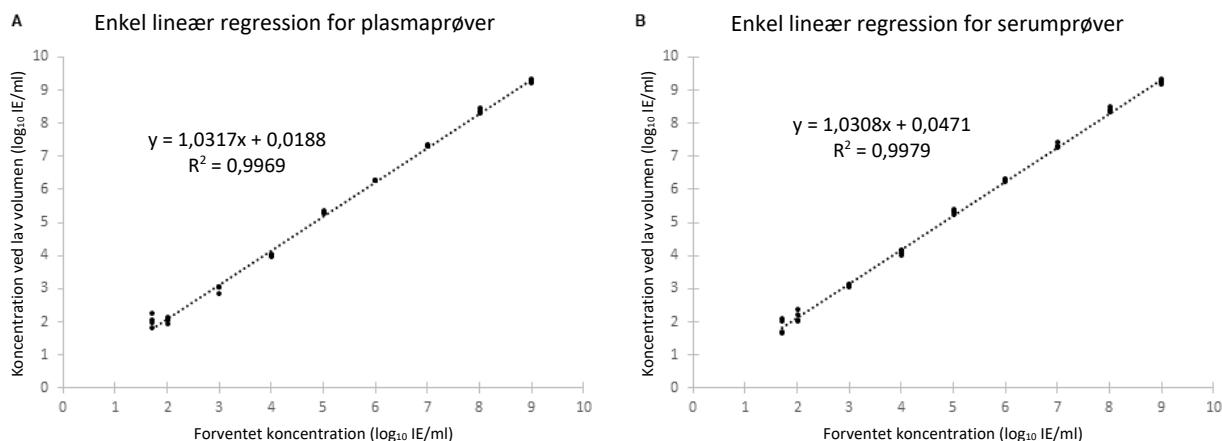

Figur 3: Lineært område for NeuMoDx HBV Quant Assay i plasma

Et efterfølgende studie blev udført for at påvise matrixækvivalensen, og analysen sammenlignede de kvantitative resultater fra NeuMoDx HBV for prøver, der var klargjort i plasma og serum, ved hjælp af to forskellige regressionstilpasningsmodeller, blandt andet regressionsværktøjet i MS Excel og Passing-Bablok. Resultaterne viste en tydelig korrelation, der var angivet med hældnings- og interceptværdier, der lå meget tæt på henholdsvis 1,00 og 0,00, og en R²-værdi på 0,99 (regressionsværktøj i MS Excel) eller en p-værdi på 0,270 (Passing-Bablok). De HBV Quant-analysekoncentrationer, der blev rapporteret fra NeuMoDx System for plasmamatrix, sammenlignet med de tilsvarende serumprøver, er vist i figur 4.



Figur 4: Lineært område for NeuMoDx HBV Quant Assay mellem matrixer

Linearitet og ULoQ blev efterfølgende bekræftet for workflow for 200 µl prøvevolumen over et område fra 9,31-1,71 log₁₀ IE/ml. Ækvivalenssammenligninger blev udført mellem de koncentrationer, der blev rapporteret fra NeuMoDx Software for workflows for 200 µl og 550 µl. Deming- og Passing-Bablok-regressionsanalysen viste fremragende korrelation og en hældning tæt på 1 og mindsteskæringspunkter (bias) for de rapporterede koncentrationer af både plasma- og serumprøver i det lineære område. En Bland-Altman-sammenligning af den rapporterede koncentration for workflowet for 200 µl prøvevolumen med den rapporterede middelværdikoncentration for workflows for både 200 µl og 550 µl prøvevolumen viste minimal bias, idet nøjagtigheden tilskrives den anvendte algoritme til at generere resultater fra workflowet for 200 µl. Derudover havde en enkel lineær regression med sammenligning af den forventede koncentration med den rapporterede koncentration for workflowet for 200 µl en hældning tæt på 1, hvilket viser fremragende korrelation [figur 5]. Samlet set viser disse sammenligninger nøjagtig kvantitering af HBV over det lineære område for NeuMoDx HBV Quant Assay med brug af workflowet for 200 µl prøvevolumen.



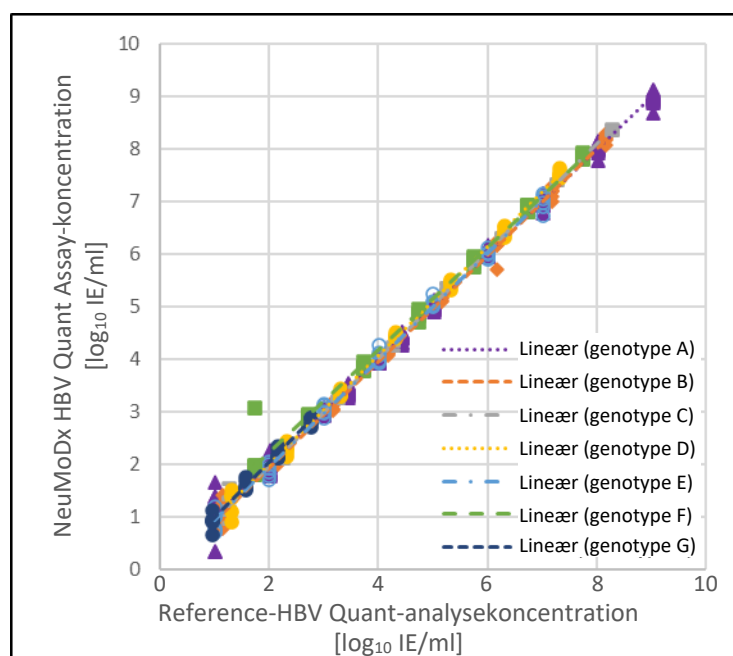
Figur 5: Lineært forhold mellem forventede og NeuMoDx-rapporterede koncentrationer for workflow med 200 µl i a) plasma og b) serum

Linearitet for alle genotyper

Lineariteten for NeuMoDx HBV Quant Assay i plasma til HBV-genotyper blev beskrevet gennem testning af mindst fire (4) forskellige koncentrationer af hver genotype af HBV, der var klargjort i poollet HBV-negativ plasma. De testede niveauer af HBV-målet, der blev brugt i dette studie, afhang af koncentrationen af kildeprøven og varierede derfor for de forskellige genotyper. Studiet blev udført med hver genotype, hvor der blev brugt 6 replikater på hvert niveau. Linearitet over HBV-genotyper er vist i tabel 6 og figur 6.

Tabel 6: Linearitet for NeuMoDx HBV Quant Assay for alle genotyper

Genotype	Linearitetsligning y = kvantitering i NeuMoDx HBV Quant Assay x = forventet kvantitering	R ²
A	$y = 1x + 1 \text{ E-}06$	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 for NeuMoDx HBV Quant Assay for alle genotyper

Analytisk specificitet og krydsreaktivitet

Der blev påvist analytisk specificitet gennem screening af 32 organismer, der er almindeligt forekommende i blod-/plasmaprøver, samt arter, der fylogenetisk svarer til HBV med hensyn til krydsreaktivitet. Organismene blev klargjort i pools af 4 til 6 organismer hver og testet ved en høj koncentration. De testede organismer er vist i *tabel 7*. Der sås ingen krydsreaktivitet med nogen af de testede organismer, hvilket bekræfter 100 % analytisk specificitet for NeuMoDx HBV Quant Assay.

Tabel 7: Patogener, der blev anvendt til at påvise analytisk specificitet – krydsreaktivitet

Adenovirus 2	Dengue V1	Hepatitis A	HPV 16	Ilheus (ILHV)	Gul feber
Adenovirus 5	Dengue V2	Hepatitis C	HPV 18	Influenza A	Zikavirus
Banzi-virus	Dengue V3	Humant herpesvirus 6a	HSV1	Parvo B19	
BK-virus	Dengue V4	Humant herpesvirus 8	HSV 2	Rubella	
Cytomegalovirus	Epstein Barr-virus	HIV 1	HTLV 1	St. Louis-encefalitisvirus	
VZV	Vaccinia-virus	HIV 2	HTLV 2	Vestnilvirus	

Interfererende stoffer – Kommensale organismer

NeuMoDx HBV Quant Assay blev evalueret for interferens ved forekomst af ikke-målorganismer, hvor de samme organismepools blev brugt som dem, der blev klargjort til test for analytisk specificitet. Organismerne blev enten testet individuelt eller pooleet i grupper med 4-6 organismer i screenet HBV-negativt plasma og fik tilsat HBV-kontroller i en koncentration på 3,7 log₁₀ IE/ml. Der sås ingen signifikant interferens ved forekomst af disse kommensale organismer, som angivet i kraft af den minimale afvigelse i kvantiteringen i forhold til kontrolprøverne, som ikke indeholdt interfererende stoffer [tabel 8].

Tabel 8: Test af interferens – kommensale organismer

Ikke-målorganismer	Gennemsnitlig konc. (log ₁₀ IE/ml)	Bias (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-virus (ILHV), gul feber, 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, vaccinia-virus, Vestnilvirus]	3,57	0,03
HAV	3,58	0,05
Banzi-virus	3,41	0,19
HIV-1	3,47	0,15
HIV-2	3,56	0,05
Rubella	3,16	0,44
Influenza A	3,60	0,03
HCV	3,58	0,04

Interfererende stoffer – endogene og eksogene stoffer

Ydeevnen for NeuMoDx HBV Quant Test Strip blev vurderet ved forekomst af typiske eksogene og endogene interfererende stoffer, der findes i kliniske HBV-plasma prøver. Disse omfattede unormalt høje niveauer af blodkomponenter samt almindelige antivirale lægemidler, som blev klassificeret i *tabel 9*. Hvert af de endogene og eksogene stoffer, der er anført på listen nedenfor i *Table 10*, blev tilføjet i screenet HBV-negativt humant plasma, der havde fået tilsat $3,7 \log_{10}$ IE/ml HBV, og data under observation for interferens. Desuden blev plasma i almindelige sygdomsstadier, der blev forbundet med hepatitis B-infektion, også testet for mulig interferens.

Table 9: Interferenstest – eksogene midler (klassificeret som lægemidler)

Pool	Lægemiddel	Klassifikation
1	Zidovudin (ZDV)	Revers transkriptasehæmmer
	Saquinavir	HIV-proteasehæmmer
	Ritonavir	HIV-proteasehæmmer
	Clarithromycin	Antibiotika
	Interferon alfa-2a	Immunmodulator
	Interferon alfa-2b	Immunmodulator
2	Abacavirsulfat	Revers transkriptasehæmmer
	Amprenavir	Proteasehæmmer
	Ribavirin	Immunmodulator
	Entecavir	HBV-antiviralt middel
	Fluoxetin	SSRI, antidepressivum
	Valacyclovirhydrochlorid	Antiviralt middel
3	Tenofovirdisoproxil	HBV/HIV-antiviralt middel
	Lamivudin	HBV/HIV-antiviralt middel
	Ganciclovir	CMV-antiviralt middel
	Valganciclovir	CMV-antiviralt middel
	Nevirapin	Revers transkriptasehæmmer
4	Efavirenz	Revers transkriptasehæmmer
	Lopinavir	Proteasehæmmer
	Enfuvirtid	HIV-fusionshæmmer
	Ciprofloxacin	Antibiotika
	Paroxetin	SSRI, antidepressivum
5	Adefovir (dipivoxil)	Antiviralt middel
	Azithromycin	Antibiotika
	Indinavirsulfat	HIV-proteasehæmmer
	Sertralin	SSRI, antidepressivum

Tabel 10: Interferenstest – eksogene og endogene midler

Endogene	Gennemsnitlig konc. (log ₁₀ IE/ml)	Bias (log ₁₀ IE/ml)
Hæmoglobin	3,50	0,20
Triglycerider	3,51	0,09
Bilirubin	3,56	0,13
Albumin	3,51	0,17
Eksogene (lægemidler)	Gennemsnitlig konc. (log ₁₀ IE/ml)	Bias (log ₁₀ IE/ml)
Pool 1: Zidovudin (ZDV), saquinavir, ritonavir, clarithromycin, interferon alfa-2a, interferon alfa-2b	3,58	0,08
Pool 2: Abacavirsulfat, amprenavir, ribavirin, entecavir, fluoxetin, valacyclovirhydrochlorid	3,56	0,04
Pool 3: Tenofovirdisoproxil, lamivudin, ganciclovir, valganciclovir, nevirapin	3,59	0,06
Pool 4: Efavirenz, lopinavir, enfuvirtid, ciprofloxacin, paroxetin	3,60	0,07
Pool 5: Adefovir (dipivoxil), azithromycin, indinavirsulfat, sertralin	3,56	0,19
Sygdomsstadie	Gennemsnitlig konc. (log ₁₀ IE/ml)	Bias (log ₁₀ IE/ml)
Antinukleært antistof (ANA)	3,61	0,10
Systemisk lupus erythematosus (SLE)	3,63	0,10
Rheumatoid arthritis (RA)	3,57	0,09
HCV-antistoffer	3,58	0,07
HBV-antistoffer	3,64	0,11
Alkoholisk cirrose	3,68	0,15
Rheumatoid faktor (RF)	3,63	0,10
Ikke-alkoholisk steatohepatitis (Non-Alcoholic Steatohepatitis, NASH)	3,49	0,06

Præcision i laboratoriet

Præcisionen for NeuMoDx HBV Quant Test Strip blev bestemt ved at teste et panel med 8 elementer med HBV-prøver, der dækker genotyperne A og C, og tre NeuMoDx Systems blev anvendt i 12 dage. Præcisionen inden for samme analyse, inden for samme dag og med samme system blev beskrevet, og den samlede standardafvigelse blev bestemt til at være $\leq 0,22 \log_{10}$ IE/ml. Præcisionen fra operatør til operatør blev ikke beskrevet, da operatøren ikke har nogen særlig indflydelse på behandlingen af prøver i NeuMoDx System. Præcisionsresultater fra laboratoriet er vist i *tabel 11*.

Tabel 11: Resultater af præcisionsstudie på samme laboratorium

PANELEMENT	MÅLKONC. [Log ₁₀ IE/ml]	MIDDELVÆRDI FOR KONC. [Log ₁₀ IE/ml]	N	Bias	SD inden for kørsel	SD i løbet af en dag	SD inden for systemet	Samlet standardafvigelse
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

Lot til lot-reproducerbarhed

Lot til lot-reproducerbarhed for NeuMoDx HBV Quant Test Strip blev bestemt ved at anvende tre forskellige lot med vigtige reagenser – NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plate og NeuMoDx HBV Quant Test Strip. Et panel med 8 elementer med HBV-genotyperne A og C blev anvendt til vurdering af ydeevnen. Der blev udført test med tre reagenslot på tre NeuMoDx Systems i løbet af 6 dage. Variationen fra lot til lot og for alle lot blev analyseret. Maksimal samlet bias var 0,12 \log_{10} IE/ml, og maksimal samlet standardafvigelse var 0,24 \log_{10} IE/ml. Der blev ikke fundet nogen signifikant forskel i ydeevnen i alle lot, da kvantiteringen af alle panelementer var inden for specifikationen for tolerancen. Lot til lot-reproducerbarhedsresultater vises nedenfor i *tabel 12*.

Tabel 12: Studieresultater for reproducerbarhed fra lot til lot

PANELEMENT	MÅLKONC. [\log_{10} IE/ml]	MIDDELVÆRDI FOR KONC. [\log_{10} IE/ml]	N	Bias	Inden for LOT SD	På tværs af LOTS SD	Samlet 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

Effektivitet for kontrol

Effekten af den SPC1, der indgik i NeuMoDx HBV Quant Assay, for at rapportere eventuelle fejl i procestrin eller hæmning, der påvirker ydeevnen af NeuMoDx HBV Quant Assay, blev vurderet ved hjælp af to almindelige HBV-genotyper (A og C). De testede forhold er repræsentative for kritiske procestrinfejl, der muligvis kunne opstå under prøvebehandlingen, og som *måske ikke blev påvist* af de sensorer, der monitorerer NeuMoDx Systems ydeevne. Effekten af SPC1 blev evalueret ved at simulere disse fejltilstande. Ineffektivitet i processen, der havde en negativ indvirkning på påvisningen/kvantiteringen af HBV, blev reflekteret i resultaterne for SPC1-målet (forekomst af hæmmer og manglende vasketrin). For de forhold, hvorunder amplifikationen af SPC1 ikke blev påvirket, fremgik det også, at HBV-målet blev amplificeret inden for en rapporteret kvantitering på 0,2 \log_{10} IE/ml af kontrolprøverne.

Tabel 13: Effekt af proceskontrol af prøve

Testet fejl i procestrin	Status for amplifikation af proceskontrol af prøve	Status for amplifikation af HBV-mål	Analyseresultat
Presence of Inhibitor (forekomst af hæmmer)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Unresolved (uafklaret)
No Wash Delivered (ingen vasketilsætning)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Unresolved (uafklaret)
No Wash Blowout (ingen vaskeudblæsning)	Amplified (amplificeret)	Amplified (amplificeret)	Positive (positiv) med kvantificering inden for 0,2 \log_{10} IE/ml af kontrol

Krydskontaminering

Krydskontamineringen for NeuMoDx HBV Quant Assay blev bestemt ved at teste tre sæt HBV-prøver, der havde skiftevis høje positive og negative prøver. I alt involverede dette test af 144 replikater af en normal, HBV-negativ EDTA-plasmaprøve og 144 replikater af en HBV-prøve med høj titer på 8,0 \log_{10} IE/ml. Alle 144 replikater af den negative prøve var negative, hvilket viser at der ikke var nogen krydskontaminering under behandlingen af prøverne i NeuMoDx System.

Ækivalens af prøvematrix

Testningen blev udført for at bestemme ækvivalente resultater med plasmaprøver, der blev opsamlet i både opsamlingsrør med ethylendiaminetetra-eddikesyre (Ethylendiaminetetraacetic acid, EDTA) og med acid-citrate-dextrose (ACD). Desuden blev der udført test for at bestemme ækivalensen mellem friske og frosne prøver. Fyrrer individuelle donorprøver fra BioIVT blev opsamlet i opsamlingsrør med både EDTA og ACD. Disse friske prøver fik tilsat fire niveauer af HBV-genotype A eller C og blev testet for ækivalens. Prøverne blev herefter nedfrosset i mindst 24 timer, derefter optøet og testet på ny. Der blev påvist fremragende ækivalens mellem friske og frosne prøver og EDTA- og ACD-prøver efter regressionsanalyse.

Tabel 14: Regressionsanalyse af resultater fra test af prøvernes ækvivalens

Parameter [godkendelseskriterier]	Frisk vs. frosset	ACD vs. K2EDTA
Hældning [0,9-1,1]	1,002	0,996
Intercept [<0,5]	-0,031	0,018
Koefficient for bestemmelse [$R^2 > 0,95$]	0,995	0,993

Der blev foretaget yderligere testning for at påvise ækvivalens af NeuMoDx HBV Quant Assay-ydeevnen med rør til hhv. primære og sekundære prøver. Paneler med HBV-negative donorprøver tilsat HBV-mål (AccuPlex™ HBV Control) blev først behandlet fra rør til primære prøver. Det resterende plasma fra hver prøve blev overført til et rør til sekundær prøve og behandlet på ny. I de rapporterede resultater blev der ikke fundet nogen signifikant forskel mellem behandling af rør med hhv. primær og sekundær prøve.

Der blev også evalueret på ækvivalensen for NeuMoDx HBV Quant Assay-ydeevnen i hhv. friske og frosne serumprøver ved hjælp af et panel med individuelle, friske serumprøver fra donor tilsat HBV i koncentrationer svarende til analysens lineære omfang. Efter behandling af de friske prøver blev serumprøverne nedfrosset i mindst 24 timer ved -20 °C. Herefter blev de frosne prøver optøet og testet på ny. Den lineære ækvivalens mellem identiske friske og frosne prøver blev evalueret ved hjælp af såvel Passing-Bablok- og Deming-regressionsanalyse. Passing-Bablok-regressionens p-værdi på 0,329 (større end 0,05) og Deming-regressionens korrelationskoefficient på 0,989 viser fremragende ækvivalens mellem prøver, der blev behandlet i frisk tilstand, og prøver, der forinden havde været nedfrosset. Bias mellem frisk og frosset tilstand blev med Bland-Altman påvist til at udgøre en ekstremt insignifikant værdi på -0,002 log₁₀ IE/ml, hvilket yderligere viser ækvivalensen ved behandling af friske prøver i forhold til frosne prøver. Sluttelig blev korrelationen mellem System-rapporterede HBV-koncentrationer og forventede koncentrationer for både friske og frosne prøver fastlagt ved hjælp af enkel lineær regression med rapporterede R²-værdier på hhv. 0,991 og 0,985.

Prøvernes stabilitet

HBV-negative EDTA-plasma- og serumprøver blev tilsat 3,7 log₁₀ IE/ml HBV og testet på forskellige tidspunkter under opbevaring i NeuMoDx System – straks (tid 0), efter 4 timer, efter 8 timer og efter 24 timer. Der blev ikke observeret signifikant forskel i ydeevnen set over testtidspunkterne, hvilket indikerer, at en prøve kan være isat i NeuMoDx System i op til 24 timer uden indvirkning på analyseydelsen.

Der blev udført tilsvarende test med plasma- og serumprøver, der blev opbevaret i et laboratoriekøleskab (mellem 2 og 8 °C) i op til 7 dage inden testen, og der sås ingen signifikant forskel i ydeevnen.

Endelig blev prøver, der blev opbevaret ved ≤ -20 °C i op til 6 måneder (plasma) og op til 4 måneder (serum) inden behandlingen, testet, og resultatet var, at der ikke var nogen signifikant forskel i forhold til friske prøver. Cyklussen med nedfrysning og optøning blev gentaget, og igen blev der ikke påvist nogen ændring i ydeevnen efter 2 nedfrysnings-/optøningscyklusser (plasma) eller 4 nedfrysnings-/optøningscyklusser (serum).

Metodernes korrelation

Plasmaprøver

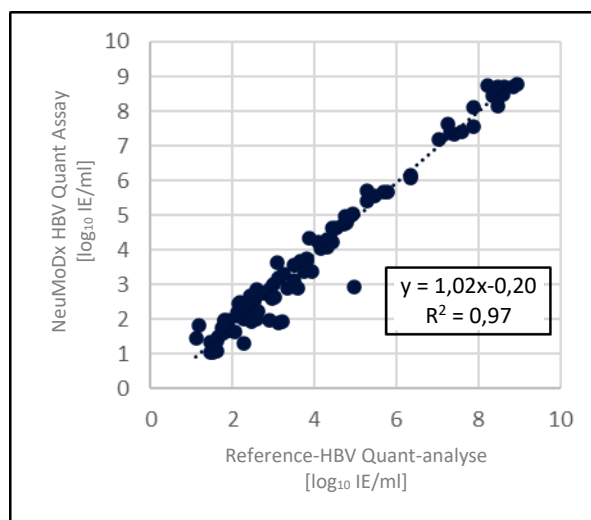
Den kvalitative og kvantitative ydeevne for NeuMoDx HBV Quant Assay blev vurderet i forhold til komparatoranalyser, der er godkendt af FDA/CE, ved at teste uforyndede kliniske plasmaprøver fra HBV-inficerede patienter. Testningen blev udført internt i NeuMoDx i et enkeltblindet studie, hvor der blev anvendt prøver fra tre uafhængige referencelaboratorier. Resultaterne af i alt 308 HBV-positive og -negative prøver blev præsenteret samlet i den kvalitative analyse for at beregne den kliniske sensitivitet og specificitet for NeuMoDx HBV Quant Assay. Den kvalitative analyse blev gennemført med inklusion af og eksklusion af positive prøver under LLoQ, da klassificeringen af disse lave prøver kan variere fra test til test. I alt blev der anvendt 97 HBV-positive prøver inden for det lineære område, der er almindeligt for begge test, for at generere den lineære regression til definering af den kvantitative ydeevne. Udover den fremragende sensitivitet og specificitet blev det også påvist, at NeuMoDx HBV Quant Test Strip havde en fremragende korrelation med komparatoranalysen. Baseret på disse resultater blev sensitiviteten i NeuMoDx HBV Quant Assay anslået til at være 100 % (CI 96,4 %-100 %), og specificiteten blev anslået til at være 95,6 % (CI 91,9 %-97,7 %). Disse 95 % konfidensintervaller blev beregnet ved hjælp af metoden til konfidensintervaller med 95 % score i henhold til EP12-A2, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, Approved Guideline, Vol 28, Nr 3.⁶

Tabel 15: Måling af klinisk sensitivitet og specificitet for NeuMoDx HBV Quant Assay for plasmaprøver i NeuMoDx 288 Molecular System

	Referenceanalyse (POS)	Referenceanalyse (NEG)	I ALT
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	103	9	112
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
I ALT	103	205	308
SENSITIVITET = 100 % 95 % CI (96,4-100 %) SPECIFICITET = 95,6 % 95 % CI (91,9 %-97,7 %)			

Tabel 16: Måling af klinisk sensitivitet og specificitet for NeuMoDx HBV Quant Assay i NeuMoDx 288 Molecular System med plasmaprøver, hvor <LLoQ var ekskluderet

	Referenceanalyse (POS)	Referenceanalyse (NEG)	I ALT
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	99	5	104
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
I ALT	99	201	300
SENSITIVITET = 100 % 95 % CI (96,3 %-100 %) SPECIFICITET = 97,5 % 95 % CI (94,3 %-98,9 %)			



Figur 7: Korrelationsstudie med kvantitativ metode med NeuMoDx HBV Quant Assay

Der blev foretaget yderligere intern testning i NeuMoDx 96 Molecular System med en rest på 159 kliniske prøver. Ligesom tidligere testning foretaget i NeuMoDx 288 blev resultaterne fra NeuMoDx 96 sammenlignet med de resultater, der blev rapporteret i FDA-godkendte og/eller CE-mærkede analyser, som kildelaboratorierne anvendte til test i henhold til behandlingsstandarden. Resultaterne, inklusive en sandhedstabel med klinisk sensitivitet og specificitet, er vist med 95 % CI i *tabel 17*.

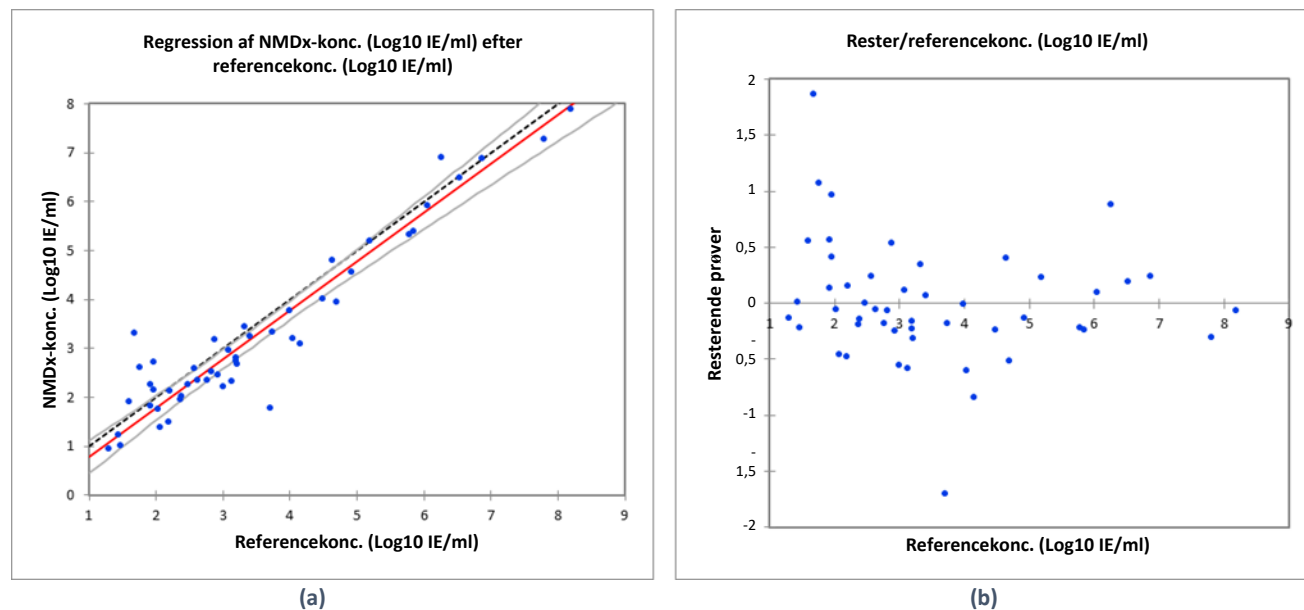
Tablet 17: Oversigt over klinisk ydeevne – NeuMoDx HBV Quant Assay i NeuMoDx 96 Molecular System

	Referenceanalyse (POS)	Referenceanalyse (NEG)	I ALT
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	60	2	62
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	1	95	96
I ALT	61	97	158
SENSITIVITET = 98 % 95 % CI (90 %-100 %) SPECIFICITET = 98 % 95 % CI (92 %-100 %)			

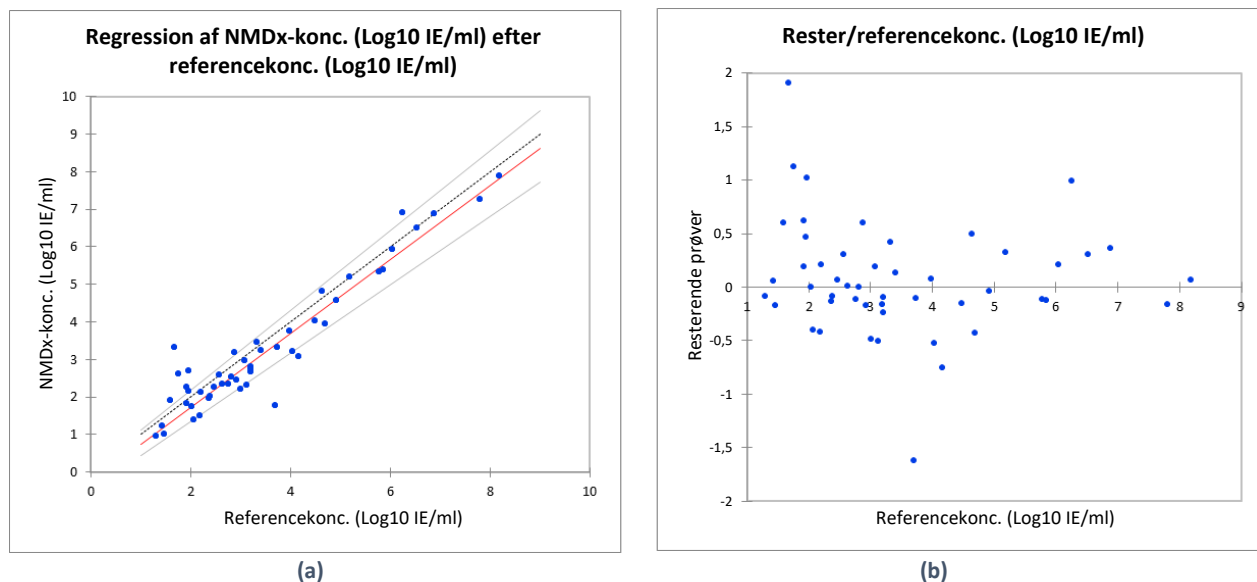
Serumprøver

Den kvantitative ydeevne for NeuMoDx HBV Quant Assay blev vurderet i forhold til komparatoranalyser, der er godkendt af FDA/CE, ved at teste anonymiserede, resterende HBV-positive serumprøver fra HBV-inficerede patienter. I alt blev 66 klinisk kendte HBV-positive serumprøver fra to uafhængige referencelaboratorier testet med brug af NeuMoDx HBV Quant Assay, internt hos NeuMoDx. Af de kendte positive serumprøver, der blev testet, blev 58 identificeret som positive resultater, hvoraf ni (9) lå under LLoQ og over ULoQ for NeuMoDx HBV Quant Assay og/eller referencetesten. I alt blev der anvendt 49 HBV-positive kliniske prøver inden for det lineære område, der er almindeligt for begge test, for at generere regressionsanalyserne til definering af den kvantitative ydeevne.

Der blev genereret diagrammer over ækvivalens og rest for at vise korrelationen mellem NeuMoDx HBV Quant Assay-koncentrationer og referencetest-koncentrationsværdier for alle prøver, der blev testet ved hjælp af Deming- og Passing-Bablok-regressionsanalyse, som vist i figur 8 og 9. Kvaliteten af Deming-regressionstilpasningen illustreres med en hældningskoefficient på 0,99 med en 95 % CI (0,93, 1,07) og en intercept (bias) på -0,22 med en 95 % CI (-0,56, 0,12), hvilket viser, at de opnåede resultater for koncentrationen fra NeuMoDx HBV Quant Assay i forhold til referencetestene har en høj grad af korrelation og en acceptabel bias. Kvaliteten af den lineære tilpasning med Passing-Bablok illustreres med en hældningskoefficient på 0,99 med en 95 % CI (0,91, 1,06) og en intercept (bias) på -0,25 med en 95 % CI (-0,48, 0,06), hvilket viser, at de opnåede resultater for koncentrationen fra NeuMoDx HBV Quant Assay i forhold til referencetestene har en høj grad af korrelation og en acceptabel bias som vist i *tabel 18*.



Figur 8: Grafer for ækvivalens (a) og rest (b) – kumuleret analyse af NeuMoDx HBV testresultater ift. referencetest – Deming-analyse.



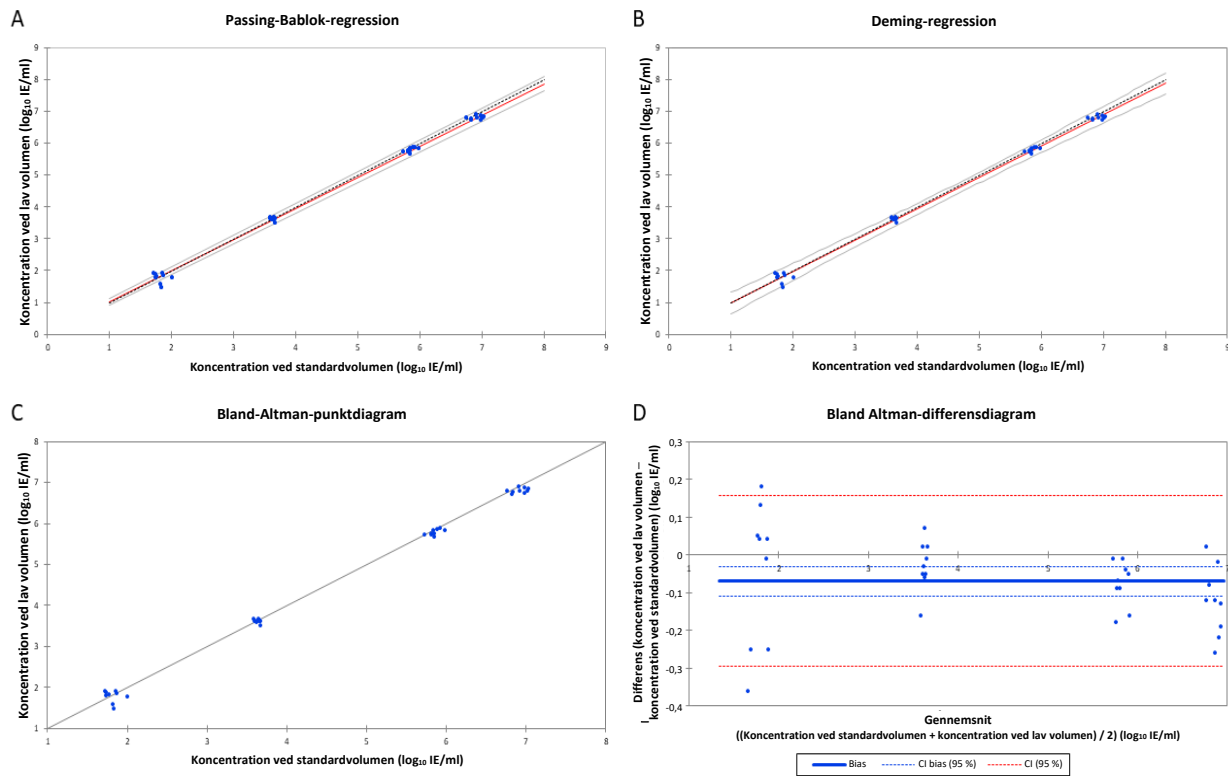
Figur 9: Grafer for ækvivalens (a) og rest (b) – kumuleret analyse af resultater med NeuMoDx HBV Quant Assay ift. referencetest – Passing-Bablok-analyse.

Tabel 18. Oversigt over lineær regressionsanalyse med Deming og Passing-Bablok for serumprøver

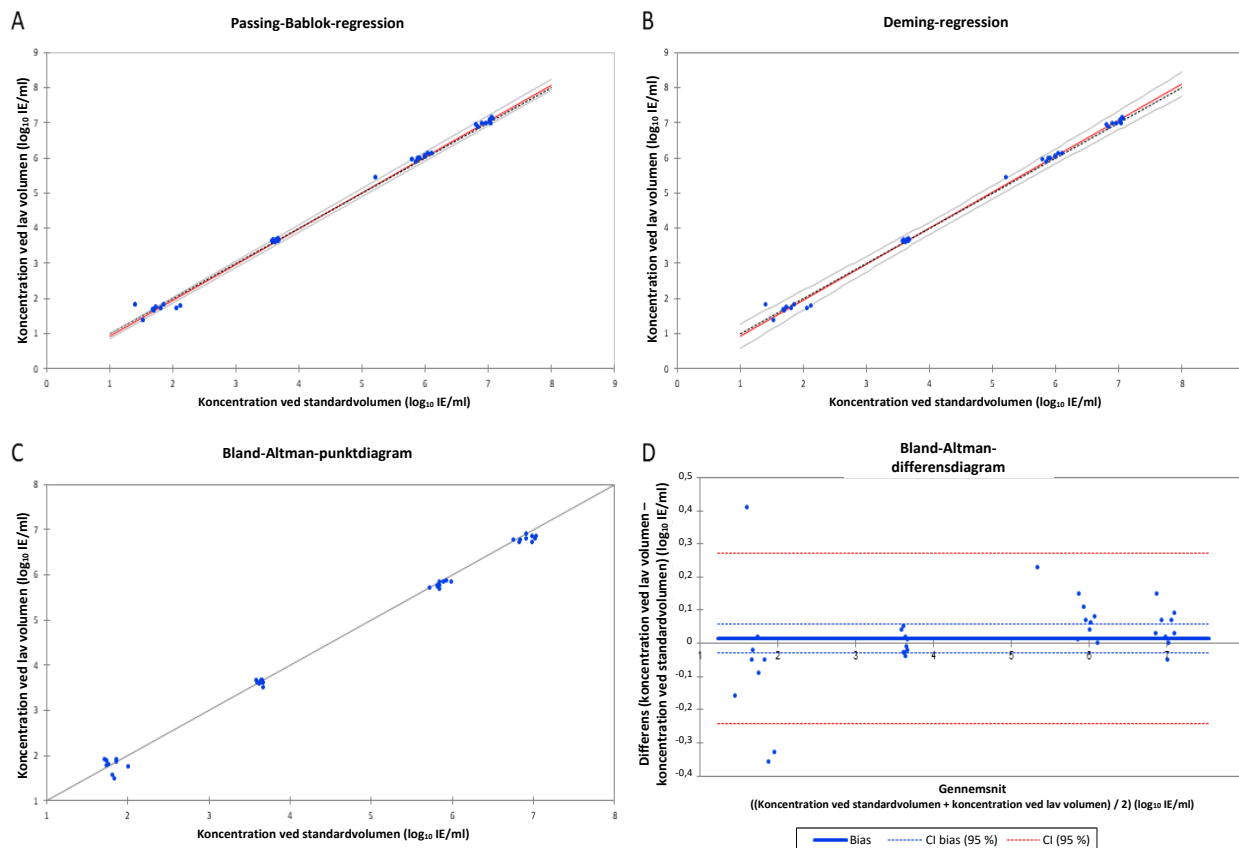
Deming-analyse			Passing-Bablok-analyse		
Intercept	Hældningskoefficient	R2	Intercept	Hældningskoefficient	p-værdi
-0,22 95 % CI (-0,56, 0,12)	0,99 95 % CI (0,93, 1,07)	0,95	-0,25 95 % CI (-0,48, 0,06)	0,99 95 % CI (0,91, 1,06)	0,89

Test af konstruerede prøver – workflow med 200 µl prøvevolumen

Kvantitativ korrelation mellem workflow med hhv. 200 µl og 550 µl blev bekræftet ved hjælp af et panel bestående af individuelle HBV-negative plasma- og serumprøver tilsat fire kendte mængder HBV-kontrolmateriale med sporbarhed til 4th WHO International Standard for HBV DNA for nukleinsyretest. Disse individuelle plasma- og serumprøver blev behandlet med workflow for både 550 µl og 200 µl prøvevolumen ved et samlet antal udførte test på 288. Ækvivalenssammenligninger af de koncentrationer, som NeuMoDx Software rapporterede for workflow med 200 µl og 550 µl prøvevolumen med det konstruerede panel, blev foretaget på basis af individuelle prøver. Deming- og Passing-Bablok-regressionsanalysen viste en hældning på 0,985 og 0,998 med skæringspunkter ved -0,001 og 0,053 i plasma og 1,024 og 1,018 med skæringspunkter ved 0,095 og 0,070 i serum, hvilket viser fremragende konkordans for HBV-quantificeringer mellem de to behandlingsvolumener. En Bland-Altman-sammenligning viste minimal bias mellem de to workflow. Enkle lineære regressionsanalyser med den forventede koncentration og den rapporterede koncentration for workflowet med 200 µl havde desuden en hældning på 1,047 og en korrelationskoefficient på 0,998 (plasma) og 1,113 og 0,992 (serum), hvilket yderligere understøtter den fremragende ydelse for workflowet med 200 µl prøvevolumen og NeuMoDx HBV Quant Assay. Resultaterne af disse studier er opsummeret herunder i figur 10 og figur 11.



Figur 10: Sammenligninger af ækvivalensgrafer for rapporterede koncentrationer ved lav volumen med rapporterede koncentrationer ved standardprøvevolumen. A) Passing-Bablok-regression. B) Deming-regression. C) Bland-Altman-punktdiagram D) Bland-Altman-differensdiagram – plasmaprøver



Figur 11: Sammenligninger af ækvivalensgrafer for rapporterede koncentrationer ved lav volumen med rapporterede koncentrationer ved standardprøvevolumen. A) Passing-Bablok-regression. B) Deming-regression. C) Bland-Altman-punktdiagram D) Bland-Altman-differensdiagram – serumprøver

REFERENCER

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.

VAREMÆRKER

NeuMoDx™ er et varemærke, der tilhører NeuMoDx Molecular, Inc.
 NeuDry™ er et varemærke, der tilhører NeuMoDx Molecular, Inc.
 TaqMan® er et registreret varemærke, der tilhører Roche Molecular Systems, Inc.

Alle andre produktnavne, varemærker og registrerede varemærker, der eventuelt vises i dette dokument, tilhører deres respektive ejere.

SYMBOLFORKLARING

R only Receptpligtig



Producent



Medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik



Autoriseret repræsentant i EU



Katalognummer



Batchkode



Anvendes inden



Temperaturbegrænsning



Må ikke genbruges



Indholdet er tilstrækkeligt til <n> tests



Læs brugsanvisningen



Forsigtig



Biologiske risici

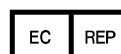


CE-mærke



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 support/indberetning af bivirkninger og uønskede hændelser: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents