

REF 201300 juostelė „NeuMoDx™ HBV Quant Test Strip“

R only

DĖMESIO. Skirta tik JAV eksportui

IVD Skirta *in vitro* diagnostikai naudojant sistemas „NeuMoDx 288“ ir „NeuMoDx 96 Molecular System“

Informacinių lapelių atnaujinimai pateikiami svetainėje: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Išsamias instrukcijas žr. „NeuMoDx 288 Molecular System“ operatoriaus vadove; leid. Nr. 40600108

Išsamias instrukcijas žr. „NeuMoDx 96 Molecular System“ operatoriaus vadove; leid. Nr. 40600317

PASKIRTIS

„NeuMoDx HBV Quant Assay“ yra automatizuotas *in vitro* nukleorūgščių amplifikacijos tyrimas, skirtas hepatito B viruso (HBV) DNR (HBV A–H genotipų) kiekybiškai nustatyti žmogaus plazmos ir serumo mėginiuose, paimtuose iš HBV užsikrėtusių asmenų. Tyrime „NeuMoDx HBV Quant Assay“, atliekamame sistemomis „NeuMoDx 288 Molecular System“ ir „NeuMoDx 96 Molecular System“ („NeuMoDx System(s)“), naudojamas automatizuotas DNR ekstrahavimas, skirtas taikinio nukleorūgščių izoliuoti iš mėginio, ir realiojo laiko polimerazės grandininė reakcija (qPCR), kuria tiriamos itin konservatyvios hepatito B viruso genomo sekos.

„NeuMoDx HBV Quant Assay“ skirtas naudoti kaip pagalbinė HBV užsikrėtusių pacientų priežiūros priemonė. Tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ rezultatus būtina aiškinti atsižvelgiant į visų susijusių klinikinių ir laboratorinių tyrimų rezultatus. „NeuMoDx HBV Quant Assay“ neturėtų būti naudojamas kaip atrankinis kraujo ar kraujo produktų patikros tyrimas arba kaip priemonė klinicinei HBV infekcijos būklei diagnozuoti.

SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Plazmai paruošti galima naudoti žmogaus visos sudėties kraują, surinktą į sterilius kraujo paėmimo mėgintuvėlius su etilendiamintetraacetato rūgšties (Ethylendiaminetetraacetic Acid, EDTA) arba rūgšties citrato dekstrozės (Acid Citrate-Dextrose, ACD) antikoaguliantu arba į plazmos paruošimo mėgintuvėlius (Plasma Preparation Tubes, PPT), o serumą reikia surinkti į serumo paėmimo mėgintuvėlius arba į atskyrimo mėgintuvėlius (Serum Separation Tube, SST). Ruošiantis tyrimui, su sistema „NeuMoDx System“ suderinamame antriniame mėginio mėgintuvėlyje esanti plazma ar serumas arba pirminiame mėginio mėgintuvėlyje esantis frakcionuotas kraujas įkeliamas į sistemą „NeuMoDx System“ naudojant tam skirtą mėgintuvėlių laikiklį. Kiekviename mėginyje plazmos ar serumo ėminio alikvotinė dalis sumaišoma su lizės buferiniu tirpalu „NeuMoDx Lysis Buffer 1“. Sistema „NeuMoDx System“ automatiškai atlieka visus veiksmus, reikiamus norint ekstrahuoti taikinio nukleorūgštį, paruošti realiojo laiko PGR amplifikacijai skirtą izoliuotą DNR ir, jei yra, amplifikuoti bei aptikti amplifikacijos produktus (HBV genomo taikinio dalis itin konservatyvioje srityje, kurioje užkoduotas *X baltymas* ir *preC baltymas*). Tyrime „NeuMoDx HBV Quant Assay“ yra DNR ėminio apdoravimo kontrolinė medžiaga (Sample Process Control 1, SPC1), padedanti stebėti galimai slopinančias medžiagas ir sistemas „NeuMoDx System“ ar reagentų triktis, kurios gali atsirasti ekstrahavimo ir amplifikacijos procesų metu.

Hepatito B virusas (HBV) yra hepatito B kepenų infekcijos sukėlėjas ir visuotinė sveikatos problema. Užsikrėtus hepatitu B, gali išsivystyti ūminis hepatitas arba tokia lėtinė liga, kaip cirozė ar kepenų vėžys. Lėtinės ligos išsivystymo rizika pirmiausia yra susijusi su amžiumi. Gimimo metu užkrėtam vaikui tikimybė susirgti lėtine liga yra > 90 %, o užsikrėtusiam suaugusiam žmogui – 2–6 %.¹ HBV perduodamas per kraują kontaktuojant su užsikrėtusiu asmeniu, lytiškai santykiuojant, dalijantis intraveninių (IV) narkotikų įšvirkštimo adatomis su užsikrėtusiu asmeniu arba vertikalojo perdavimo metu, kai motina užkrečia kūdikį gimdydama. Jungtinėse Valstijose HBV infekcija yra užsikrėtę maždaug 850 000 žmonių. Dauguma naujų infekcijų perduodama lytiškai santykiuojant arba vartojant intraveninius narkotikus.² Nustatyta, kad Afrikoje ir vakarinėje Ramiojo vandenyno dalyje užsikrėtę net 5 % gyventojų. 2015 m. visame pasaulyje nuo HBV infekcijos mirė 885 000 žmonių. Daugelis jų sirgo ciroze ar hepatoceliuline karcinoma.³ Sukurta vakcina, kuri 95 % atvejų veiksmingai apsaugo nuo HBV infekcijos, todėl kiekvienais metais nustatoma vis mažiau sergančiųjų.⁴

Dabartinis HBV infekcijos gydymo standartas yra antivirusinis gydymas, kurį vykdant reikia nuolat stebėti pacientą, kad būtų užtikrinta, jog gydymas yra veiksmingas. Stebėdami gydymą sistema „NeuMoDx HBV Quant Assay“, gydytojai gali gauti informacijos, reikalingos HBV užkrėstų pacientų gydymui.

PROCEDŪROS PRINCIPAI

Tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“, naudojant realiojo laiko PGR, atliekamas automatizuotas DNR ekstrahavimas, amplifikacija ir aptikimas. Ruošiant plazmą visos sudėties kraujo mėginiai imami į EDTA, ACD ar PPT mėgintuvėlius ir (arba) į SST mėgintuvėlius ruošiant serumą. Suderinamame antriniame mėgintuvėlyje esantis pirminis (frakcionuotas) kraujo mėginys arba plazmos / serumo alikvotinė dalis pažymimi brūkšniu kodu ir įdedami į sistemą „NeuMoDx System“. „NeuMoDx System“ automatiškai išsiurbia plazmos / serumo alikvotinę dalį, kad sumaišytų ją su lizės buferiniu tirpalu „NeuMoDx Lysis Buffer 1“ ir plokštelėje „NeuMoDx Extraction Plate“ esančiomis medžiagomis bei pradėtų apdorojimą. „NeuMoDx System“, naudodama realiojo laiko PGR metodą, automatizuoja ir integruoja DNR ekstrahavimą ir koncentravimą, reagento paruošimą ir tikslių sekų nukleorūgščių amplifikaciją / aptikimą. Naudojant pridėtą ėminio apdoravimo kontrolinę medžiagą (Sample Process Control 1, SPC1), galima stebėti slopinančias medžiagas ir su sistema, apdorojimu ar reagentu susijusias triktis. Įkėlus mėginį į sistemą „NeuMoDx System“, operatoriui jokių papildomų veiksmų atlikti nereikia.

Sistemoje „NeuMoDx System“ naudojama šiluma, lizės fermentas ir ekstrahavimo reagentai, kad galima būtų automatiškai atlikti lizę, DNR ekstrahavimą ir inhibitorių pašalinimą. Išsiskyrusias nukleorūgštis sulaukia paramagnetinės dalelės. Dalelės su prijungtomis nukleorūgštimis įkeliamos į kasetę „NeuMoDx Cartridge“, kurioje neprijungti komponentai išplaunami plovimo reagentu „NeuMoDx Wash Reagent“. Tada prijungta DNR eliuuojama naudojant reagentą „NeuMoDx Release Reagent“. Eliuota DNR naudojama sistemoje „NeuMoDx System“, kad galima būtų rehidrinti patentuotus „NeuDry™“ amplifikavimo reagentus, kuriuose yra visi elementai, reikalingi HBV ir SPC1 taikiniams amplifikuoti. Tokiu būdu vienu metu galima amplifikuoti ir aptikti tiek taikinio, tiek kontrolinės medžiagos DNR sekas. Atkūrus sausus PGR reagentus, sistema „NeuMoDx System“ paruoštą PGR mišinį išpilsto į vieną kasetės „NeuMoDx Cartridge“ PGR kamerą (vienam mėginiui). PGR kameroje vyksta kontrolinės medžiagos ir tikslių DNR sekų (jei jos yra) amplifikacija ir aptikimas. Kasetės „NeuMoDx Cartridge“ pagaminta taip, kad po PGR amplikonas liktų joje, taip iš esmės pašalinant užteršimo po amplifikacijos riziką.

Amplifikuoti taikiniai nustatomi realiuoju laiku naudojant hidrolizės zondų chemiją (paprastai vadinamą „TaqMan®“ chemija) ir fluorogeninių oligonukleotidų zondų molekules, būdingas atitinkamų jų taikinių amplikonams. „TaqMan“ zondai sudaryti iš fluoroforo, kovalentiškai prisijungusio prie oligonukleotido zondo 5' galo, ir slopiklio ties 3' galu. Kol zondas yra nepažeistas, fluoroforas ir slopiklis yra arti, todėl slopiklio dėl Försterio rezonansinės energijos pernašos Förster rezonanso energijos perdavimas (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) slopina fluorescenciją, kurią skleidžia fluoroforas.

„TaqMan“ zondai sukurti taip, kad prisijungtų prie specifinių pradmenų rinkinių amplifikuotos DNR srities. Kai Taq DNR polimerazė ilgina pradmenį ir sintetina naują grandinę, Taq DNR polimerazės 5'–3' egzonukleazės aktyvumas skaido prie matricos prisijungusį zondą. Zondo skilimas išlaisvina fluoroforą ir padidina atstumą iki slopiklio, todėl įveikiamas slopinamasis poveikis dėl FRET ir galima aptikti fluoroforą. Gautas fluorescencinis signalas, aptiktas sistemos „NeuMoDx System“ kiekybinės PGR termocikleriu, yra tiesiogiai proporcingas išlaisvintam fluoroforui ir gali būti siejamas su esamo taikinio kiekiu.

„TaqMan“ zondas, 5' gale pažymėtas fluoroforu (sužadinimas: 490 nm, emisija: 521 nm), o 3' gale – tamsiuoju slopikliu (angl. *dark quencher*), yra naudojamas HBV DNR aptikti. Norint aptikti SPC1, „TaqMan“ zondas 5' gale pažymimas alternatyviu fluorescenciniu dažikliu (sužadinimas: 535 nm, emisija: 556 nm), o 3' gale – tamsiuoju slopikliu (angl. *dark quencher*). Sistemos „NeuMoDx System“ programinė įranga stebi „TaqMan“ zondų skleidžiamą fluorescencinį signalą kiekvieno amplifikavimo ciklo pabaigoje. Atlikus amplifikaciją, sistemos „NeuMoDx System“ programinė įranga analizuoja duomenis ir pateikia galutinį rezultatą („POSITIVE“ (TEIGIAMA) / „NEGATIVE“ (NEIGIAMA) / „INDETERMINATE“ (NEAIŠKU) / „UNRESOLVED“ (NEIŠSPRĘSTA) / „NO RESULT“ (NĖRA REZULTATO)). Jei rezultatas yra teigiamas ir apskaičiuota koncentracija neviršija kiekybinio nustatymo ribų, „NeuMoDx System“ programinė įranga taip pat pateikia su ėiminiu susietą kiekybinę vertę.

REAGENTAI / EKSPLOATACINIAI REIKMENYS

Pateikiamos medžiagos

NUOR.	Turinys	Vienetų pakuotėje	Tyrimų skaičius vienete	Tyrimų pakuotėje
201300	„NeuMoDx HBV Quant Test Strip“ Sausi PGR reagentai, kuriuose yra HBV ir SPC1 specifinis „TaqMan“ zondas ir pradmenys	6	16	96

Reikalingos, bet netiekiamos medžiagos (galima įsigyti iš „NeuMoDx“ atskirai)

NUOR.	Turinys
100200	„NeuMoDx Extraction Plate“ ekstrahavimo plokštelė Sausos paramagnetinės dalelės, lizės fermentas ir ėminių apdorojimo kontrolinės medžiagos
800100 arba 800102	„NeuMoDx HBV Calibrators“ Vienkartinio naudojimo HBV aukštos ir žemos koncentracijų kalibravimo medžiagų rinkiniai, skirti kalibracinės kreivės tinkamumui nustatyti
900101 arba 900102	„NeuMoDx HBV External Controls“ Vienkartinio naudojimo teigiamų ir neigiamų kontrolinių medžiagų rinkiniai
400400	„NeuMoDx Lysis Buffer 1“
400100	„NeuMoDx Wash Reagent“
400200	„NeuMoDx Release Reagent“
100100	„NeuMoDx Cartridge“
235903	„Hamilton® CO-RE/CO-RE II“ antgaliai (300 µl) su filtrais
235905	„Hamilton CO-RE/CO-RE II“ antgaliai (1000 µl) su filtrais

Reikalingi prietaisai

„NeuMoDx 288 Molecular System“ [nuor. Nr. 500100] ar „NeuMoDx 96 Molecular System“ [nuor. Nr. 500200]

PERSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS

- „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“ skirta *in vitro* diagnostikai ir turėtų būti naudojama tik sistemose „NeuMoDx System“.
- Nenaudokite reagentų ar eksploatacinių reikmenų pasibaigus nurodytam tinkamumo laikui.
- Nenaudokite reagentų, jeigu apsauginė plomba arba gauta pakuotė yra pažeista.
- Nenaudokite eksploatacinių reikmenų arba reagentų, jeigu gautas apsauginis maišelis yra atidarytas arba pažeistas.
- Norint gauti klinikinių ėminių tyrimo rezultatus, reikalinga tinkama tyrimo kalibracija (sukurta apdorojus „NeuMoDx HBV Calibrator“ aukštos ir žemos koncentracijos kalibravimo medžiagas).
- Atliekant tyrimą „NeuMoDx HBV Quant Assay“, išorinės kontrolinės medžiagos „NeuMoDx HBV External Control“ turi būti apdorojamos kas 24 valandas.

- Minimalus mėginio tūris priklauso nuo mėgintuvėlio dydžio, mėginio laikiklio ir mėginio tūrio apdorojimo (kaip apibrėžta toliau). Naudojant mažesnį tūrį nei nurodytas minimalus tūris gali įvykti klaida „Quantity Not Sufficient“ (nepakankamas kiekis).
- Naudojant mėginius, laikytus netinkamoje temperatūroje ar ilgiau nei numatytą saugojimo laiką, gali būti gauti negaliojantys arba klaidingi rezultatai.
- Reagentų ir eksploatacinių reikmenų niekada neužterškite mikrobais ir deoksiribonukleaze (DNaze). Dirbant su antriniais mėgintuvėliais, rekomenduojama naudoti sterilias (be DNazės) vienkartinės perkėlimo pipetes. Kiekvienam mėginiui naudokite naują pipetę.
- Norėdami išvengti užteršimo, po amplifikacijos nenaudokite ir nelaužykite kasečių „NeuMoDx Cartridge“. Jokiomis aplinkybėmis neimkite kasečių „NeuMoDx Cartridge“ iš biologiškai pavojingų atliekų talpyklos („NeuMoDx 288 Molecular System“) ar biologiškai pavojingų atliekų dėžės („NeuMoDx 96 Molecular System“). „NeuMoDx Cartridge“ yra sukurta taip, kad apsaugotų nuo užteršimo.
- Tais atvejais, kai laboratorija taip pat atlieka atvirų mėgintuvėlių PGR tyrimus, reikia pasirūpinti, kad tyrimo juostelė „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“, papildomi eksploataciniai reikmenys ir reagentai, reikalingi tyrimams atlikti, asmeninės apsaugos priemonės, tokios kaip pirštinės ir laboratoriniai chalatai, ir sistema „NeuMoDx System“ nebūtų užteršti.
- Dirbant su „NeuMoDx“ reagentais ir eksploataciniais reikmenimis būtina mūvėti švarias nitrilines pirštines be talko. Reikia stengtis neliesti viršutinio kasetės „NeuMoDx Cartridge“ paviršiaus, juostelės „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“ ir plokštelės „NeuMoDx Extraction Plate“ folijos plėvelės paviršiaus arba viršutinio lizės buferinio tirpalo „NeuMoDx Lysis Buffer 1“ paviršiaus. Naudojant eksploatacinius reikmenis ir reagentus, galima liesti tik šoninius paviršius.
- Kiekvieno reagento (kai taikytina) saugos duomenų lapai (SDL) pateikiami svetainėje www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Atlikę tyrimą kruopščiai nusioplaukite rankas.
- Nesiurbkite į pipetę burna. Nerūkykite, negerkite ir nevalgykite tose vietose, kur apdorojami mėginiai arba reagentai.
- Su mėginiais visada elkitės kaip su infekcinėmis medžiagomis ir laikykitės saugių laboratorinių procedūrų, pvz., aprašytų *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁵ ir CLSI dokumente M29-A4.⁶
- Išmeskite nepanaudotus reagentus ir atliekas laikydamiesi šalies, federalinių, provincijos, valstijos ir vietos teisės aktų.
- Nenaudoti pakartotinai.



PRODUKTO LAIKYMAS, NAUDOJIMAS IR STABILUMAS

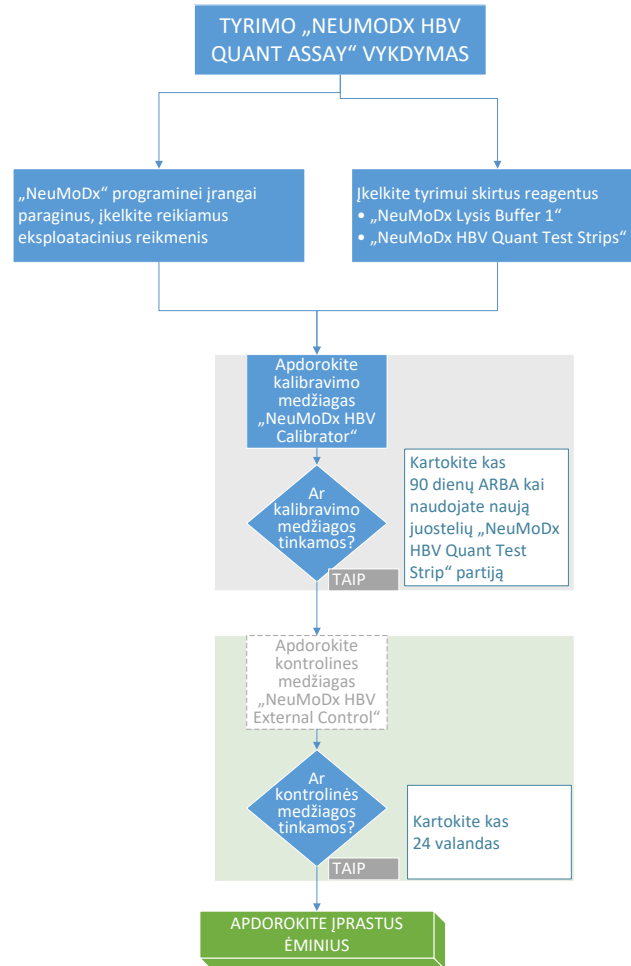
- Juostelės „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“ yra stabilios pirminėje pakuotėje visą produkto etiketėje nurodytą tinkamumo laiką, laikant 4–28 °C temperatūroje.
- Nenaudokite eksploatacinių reikmenų ir reagentų pasibaigus nurodytam tinkamumo laikui.
- Nenaudokite jokio tyrimo produkto, jei pirminė ar antrinė pakuotė vizualiai pažeista.
- Iš naujo nekelkite jokio į kitą sistemą „NeuMoDx System“ anksčiau įkelto tyrimo produkto.
- „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“ gali būti laikoma įkelta į sistemą „NeuMoDx System“ 62 dienas. Programinė įranga stebi likusią įkeltų tyrimo juostelių laikymo trukmę ir praneša ją naudotojui realiuoju laiku. Sistema paragins, kai reikės išimti per ilgai naudotą tyrimo juostelę.

MĖGINIO PAĖMIMAS, GABENIMAS IR LAIKYMAS

1. Visus mėginius, kalibravimo ir kontrolines medžiagas tvarkykite taip, lyg juose yra infekcinių medžiagų.
2. Neužšaldykite pirminiuose mėgintuvėliuose laikomo visos sudėties kraujo ir kitų mėginių.
3. Norėdami paruošti plazmos mėginius, visos sudėties kraują imkite į sterilius mėgintuvėlius ir naudokite EDTA ar ACD kaip antikoagulantus. Laikykitės paruošimo ir laikymo instrukcijų, kurias pateikė mėginių paėmimo mėgintuvėlių gamintojas.
4. Norėdami paruošti serumo mėginius, kraują imkite į SST mėgintuvėlius. Laikykitės paruošimo ir laikymo instrukcijų, kurias pateikė mėginių paėmimo mėgintuvėlių gamintojas.
5. Mėginiai turi būti tiriami pirminiuose paėmimo mėgintuvėliuose arba antriniuose mėginių mėgintuvėliuose. Pirminiam mėgintuvėlių tyrimui rekomenduojama naudoti:
 - a. Plazmos mėginiai: „BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube“ (BD Nr. 368589) ar „BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube“ (BD Nr. 362799).
 - b. Serumo mėginiai: „BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube“ (BD Nr. 367820) ar „BD Vacutainer SST™ Tube“ (BD Nr. 367988).
6. Prieš apdorojant, paruošti plazmos mėginiai sistemoje „NeuMoDx System“ gali būti laikomi iki 8 valandų, o serumo mėginiai – iki 24 valandų. Jei juos reikia laikyti ilgiau, patartina mėginius padėti į šaldytuvą arba užšaldyti kaip antrines alikvotines dalis.
7. Paruošti mėginiai prieš tyrimą turi būti laikomi 2–8 °C temperatūroje ne ilgiau nei 7 dienas. Kambario temperatūroje plazmos mėginiai gali būti laikomi ne ilgiau nei 8 valandas, o serumo mėginiai – ne ilgiau nei 24 valandas.
8. Prieš apdorojant mėginiai gali būti laikomi ≤ –20 °C temperatūroje iki 4 savaičių (serumas) arba iki 6 mėnesių (plazma). Jei mėginiai užšaldyti, prieš naudojant galima atlikti ne daugiau nei 2 plazmos mėginių užšaldymo / atitirpinimo ciklus ir 4 serumo mėginių užšaldymo / atitirpinimo ciklus.
 - a. Jei mėginiai užšaldomi, leiskite jiems visiškai atitirpti kambario temperatūroje (15–30 °C), tada kratydami sumaišykite juos, kad ėminys tolygiai pasiskirstytų.
 - b. Užšaldytiems mėniam atitirpus, tyrimą reikia atlikti per 24 valandas.
 - c. Nerekomenduojama plazmos / serumo užšaldyti pirminiuose paėmimo mėgintuvėliuose.

9. Gabenami mėginiai turėtų būti supakuoti ir pažymėti etiketėmis pagal galiojančius šalies ir (arba) tarptautinius reikalavimus.
10. Aiškiai pažymėkite mėginius ir nurodykite, kad jie yra skirti HBV tyrimams.
11. Daugiau informacijos pateikta skirsnyje „Pasiruošimas tyrimui“.

Bendra tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ vykdymo eiga aprašyta toliau nurodytame 1 pav.



1pav. „NeuMoDx HBV Quant Assay“ vykdymo darbo eiga

NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

Pasiruošimas tyrimui

Tyrimas „NeuMoDx HBV Quant Assay“ gali būti vykdomas tiesiogiai naudojant pirminius kraujo paėmimo mėgintuvėlius arba antriniuose mėgintuvėliuose esančias mėginių alikvotines dalis. Apdorojimas gali būti atliekamas naudojant vieną iš dviejų mėginių tūrių apdoravimo darbo eigų – 550 μ l ar 200 μ l mėginių apdoravimo darbo eigą. Ant mėginio mėgintuvėlio, suderinamo su sistema „NeuMoDx System“, užklijuokite mėginio brūkšninio kodo etiketę.

1. Ant mėginio mėgintuvėlio, suderinamo su sistema „NeuMoDx System“, užklijuokite mėginio brūkšninio kodo etiketę. Po centrifugavimo laikantis gamintojo nurodymų, pirminį kraujo surinkimo mėgintuvėlį galima pažymėti etikete ir įstatyti tiesiai į 32 mėginių mėgintuvėlių laikiklį. Arba plazmos / serumo alikvotinė dalis gali būti perkelta į antrinį mėgintuvėlį ir apdorota sistema „NeuMoDx System“.
2. Tirdami mėginį pirminiame paėmimo mėgintuvėlyje, įdėkite brūkšniu kodu pažymėtą mėgintuvėlį į mėginių mėgintuvėlių laikiklį ir prieš įkeldami jį į sistemą „NeuMoDx System“ nuimkite dangtelį. Minimalūs tūriai **virš** gelio / leukocitų-trombocitų sluoksnio yra apibrėžti toliau ir išlaikomi, jei mėginiai imami ir apdorojami laikantis mėgintuvėlių gamintojo instrukcijų. Netinkamai paimtų mėginių gali nepavykti iširti.

Mėgintuvėlio tipas	Minimalus reikiamas mėginio tūris	
	550 µl darbo eiga	200 µl darbo eiga
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 / serumas – 4,0 ml	1050 µl	700 µl
K ₂ EDTA / serumas – 6,0 ml	1250 µl	900 µl
K ₂ EDTA / serumas – 10,0 ml	1600 µl	1250 µl

3. Jei naudojate antrinį mėgintuvėlį, atsižvelgdami į toliau nurodytus tūrius perkeltite plazmos / serumo alikvotinę dalį į brūkšniu kodu pažymėtą mėgintuvėlį, suderinamą su sistema „NeuMoDx System“.

Mėginių mėgintuvėlių laikiklis	Mėgintuvėlio dydis	Minimalus reikiamas mėginio tūris	
		550 µl darbo eiga	200 µl darbo eiga
„32-Tube Specimen Tube Carrier“ (32 mėginių mėgintuvėlių laikiklis)	11–14 mm skersmuo ir 60–120 mm aukštis	700 µl	400 µl
„24-Tube Specimen Tube Carrier“ (24 mėginių mėgintuvėlių laikiklis)	14,5–18 mm skersmuo ir 60–120 mm aukštis	1100 µl	800 µl
„Low Volume Specimen Tube Carrier“ (mažo tūrio mėginių mėgintuvėlių laikiklis)	1,5 ml kūgio formos dugno mikrocentrifugavimo mėgintuvėlis	650 µl	300 µl

Sistemų „NeuMoDx System“ naudojimas

Išsamios informacijos rasite „NeuMoDx 288 Molecular System“ ir „NeuMoDx 96 Molecular System“ operatoriaus vadovuose (leid. Nr. 40600108 ir 40600317).

- Įkelkite tyrimo nurodymą į sistemą „NeuMoDx System“, atsižvelgdami į norimo mėginio apdorojimo tūrio darbo eigą ir mėgintuvėlio tipą:
 - 550 µl mėginio tūris tiriamas nurodant mėginio tipą kaip „Plasma“ (plazma) arba „Serum“ (serumas)
 - 200 µl mėginio tūris tiriamas nurodant mėginio tipą kaip „Plasma2“ (2 plazma) arba „Serum2“ (2 serumas)
 - Neapibrėžus tipo tyrimo nurodyme, **Secondary Tube** (antriniame mėgintuvėlyje) kaip numatytasis bus naudojamas mėginio tipas **Plasma** (plazma).
- Užpildykite vieną ar daugiau „NeuMoDx System Test Strip“ juostelių laikiklių juostelėmis „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“ ir naudodami jutiklinį ekraną įkelkite tyrimo juostelių laikiklį (-ius) į sistemą „NeuMoDx System“.
- „NeuMoDx System“ programinei įrangai paraginus, į „NeuMoDx System“ eksploatacinių reikmenų laikiklius įdėkite reikiamus eksploatacinius reikmenis ir naudodami jutiklinį ekraną įkelkite laikiklį (-ius) į sistemą „NeuMoDx System“.
- „NeuMoDx System“ programinei įrangai paraginus, atitinkamai pakeiskite „NeuMoDx Wash Reagent“, „NeuMoDx Release Reagent“ ir ištuštinkite užpildymo atliekas, biologiškai pavojingų atliekų talpyklą (tik sistemoje „NeuMoDx 288 Molecular System“), atgalių atliekų dėžę (tik sistemoje „NeuMoDx 96 Molecular System“) arba biologiškai pavojingų atliekų dėžę (tik sistemoje „NeuMoDx 96 Molecular System“).
- „NeuMoDx System“ programinei įrangai paraginus, apdorokite kalibravimo medžiagas „NeuMoDx HBV Calibrator“ ir (arba) išorines kontrolines medžiagas „NeuMoDx HBV External Control“. Daugiau informacijos apie kalibravimo ir kontrolines medžiagas pateikta skirsnyje „Rezultatų apdorojimas“.
- Įkelkite mėginio / kalibravimo medžiagos / kontrolinės medžiagos mėgintuvėlį (-ius) į mėginių mėgintuvėlių laikiklį ir įsitikinkite, kad nuo visų mėgintuvėlių nuimti dangteliai.
- Įstatykite mėginių mėgintuvėlių laikiklį (-ius) į automatinio įkėliklio lentyną ir naudodamiesi jutikliniu ekranu įkelkite laikiklį (-ius) į sistemą „NeuMoDx System“. Jei sistemoje nustatytas tinkamas tyrimo nurodymas, bus pradėtas įkeltų mėginių apdorojimas nurodytiems tyrimams.

APRIBOJIMAI

- Juostelę „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“ galima naudoti tik sistemose „NeuMoDx System“.
- Juostelės „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“ efektyvumas buvo nustatytas tiriant plazmos mėginius, paruoštus EDTA / ACD naudojant kaip antikoagulantus, arba serumo mėginius, paruoštus serumo atskyrimo mėgintuvėliuose. „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“ naudojimas su kitomis medžiagomis nebuvo įvertintas. Efektyvumo charakteristikos tiriant kitus mėginių tipus yra nežinomos.

3. „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“ efektyvumas tiriant pirminius mėgintuvėlius buvo nustatytas naudojant mėgintuvėlius „BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tube“, „BD Vacutainer PPT Plasma Preparation Tube“, „BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube“ ir „BD Vacutainer SST Tube“.
4. Naudojant 200 μl mėginio tūrio darbo eigą buvo stebėtas nedidelis tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ aptikimo ribos ir apatinės kiekybinio nustatymo ribos padidėjimas.
5. Tyrimas „NeuMoDx HBV Quant Assay“ naudojamas tik kiekybinio stebėjimo reikmėms. Jis neturėtų būti naudojamas kokybiniam aptikimui.
6. „NeuMoDx HBV Quant Assay“ negali būti naudojamas tiriant mėginius, paimtus iš heparinizuotų žmogaus ėminių.
7. Kadangi HBV nustatymui įtakos turi ėminyje esančių taikinio DNR dalelių skaičius, patikimi rezultatai priklauso nuo tinkamo mėginio paėmimo, naudojimo ir laikymo.
8. Prieš apdorojant įprastus klinikiškus ėminus, kalibravimo medžiagos „NeuMoDx HBV Calibrator“ ir išorinės kontrolinės medžiagos „NeuMoDx HBV External Control“, paraginus „NeuMoDx System“ programinei įrangai, turi būti apdorotos pagal informaciniuose lapeliuose pateiktas rekomendacijas.
9. Dėl netinkamo mėginių paėmimo, naudojimo, laikymo, techninės klaidos ar mėginių mėgintuvėlių supainiojimo gali būti gauti klaidingi rezultatai. Jei viruso dalelių skaičius ėminyje yra mažesnis nei „NeuMoDx HBV Quant Assay“ aptikimo riba, taip pat gali būti gauti klaidingai neigiami rezultatai.
10. Sistemą „NeuMoDx System“ gali naudoti tik darbuotojai, kurie yra išmokyti dirbti su sistema „NeuMoDx System“.
11. Jei tiek HBV taikiny, tiek SPC1 taikiny neamplifikuojami, bus pateiktas negaliojantis rezultatas („Indeterminate“ (neaišku), „No Result“ (nėra rezultato) arba „Unresolved“ (neišspręsta) ir tyrimą reikės pakartoti.
12. Jei tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ rezultatas yra „Positive“ (teigiama), tačiau kiekybinio nustatymo vertė viršija kiekybinio nustatymo ribas, sistema „NeuMoDx System“ praneš, ar aptikta HBV vertė yra *mažesnė* už apatinę kiekybinio nustatymo ribą (Lower Limit of Quantitation, LLoQ), ar *didesnė* už viršutinę kiekybinio nustatymo ribą (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
13. Jei aptikta HBV vertė yra *mažesnė* už LLoQ, tyrimas gali būti pakartotas (jei pageidaujama) naudojant kitą mėginio alikvotinę dalį.
14. Jei aptikta HBV vertė yra *didesnė* už ULoQ, „NeuMoDx HBV Quant Assay“ gali būti pakartotas naudojant praskiestą pradinio mėginio alikvotinę dalį. Rekomenduojama skiesti 1:1000 santykiu HBV neigiamoje plazmoje arba skiediklyje „Basematrix 53 Diluent“ („Basematrix“) („SeraCare“, Milfordas, MA). Pradinio mėginio koncentraciją galima apskaičiuoti šiuo būdu:
$$\text{pradinio mėginio koncentracija} = \log_{10}(\text{skiedimo koeficientas}) + \text{nustatyta praskiesto ėminio koncentracija}$$
15. Dėl plazmoje retkarčiais atsirandančių PGR inhibitorių gali kilti sistemos kiekybinio nustatymo klaida. Jei taip nutinka, tyrimą rekomenduojama pakartoti naudojant tą patį mėginį, praskiestą skiediklyje „Basematrix“ santykiu 1:10 ar 1:100.
16. „Positive“ (teigiamas) rezultatas nebūtinai reiškia, kad mėginyje yra gyvybingų organizmų. Tačiau teigiamas rezultatas gali reikšti, kad mėginyje yra hepatito B viruso DNR.
17. Delecijos ir mutacijos tikslinėse tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ konservatyviose srityse gali turėti įtakos aptikimui arba gali duoti klaidingą rezultatą, naudojant juostelę „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“.
18. „NeuMoDx HBV Quant Assay“ rezultatai turėtų būti naudojami kartu su klinikinio stebėjimo duomenimis ir kita gydytojo turima informacija. Tyrimas nėra skirtas infekcijai diagnozuoti.
19. Tvarkant pacientų mėginius rekomenduojama taikyti gerąją laboratorinę praktiką, įskaitant pirštinių keitimą, kad būtų galima išvengti užteršimo.

REZULTATŲ APDOROJIMAS

Prieinamus rezultatus galima peržiūrėti ir spausdinti sistemos „NeuMoDx System“ jutiklinio ekrano lango „Results“ (rezultatai) skirtuke „Results“ (rezultatai). Tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ rezultatus automatiškai generuoja sistemos „NeuMoDx System“ programinė įranga, kuri naudoja sprendimų algoritmą ir rezultatų apdorojimo parametrus, nurodytus „NeuMoDx HBV Quant“ tyrimo apibrėžimo faile (Assay Definition File, HBV ADF). Remiantis taikinio amplifikacijos būkle ir ėminio apdorojimo kontroline medžiaga, rezultatas gali būti „Negative“ (neigiama), „Positive“ (teigiama) su nustatyta HBV koncentracija, „Positive“ (teigiama), viršija ULoQ, „Positive“ (teigiama) nesiekia LLoQ, „Indeterminate“ (neaišku) (IND), „Unresolved“ (neišspręsta) (UNR) arba „No Result“ (nėra rezultato) (NR). Rezultatai pateikiami pagal ADF sprendimų algoritmą, apibendrintą toliau pateiktoje 1 lentelėje.

1 lentelė. „HBV Quant Assay“ sprendimų algoritmo suvestinė

REZULTATAS	HBV taikyns	Ėminio apdoravimo kontrolinė medžiaga (SPC1)	Rezultatų aiškinimas
„Positive“ (teigiama) su nustatyta koncentracija	Amplified (Amplifikuota) $0,9 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ IU/ml}$ (550 μl darbo eiga) $1,4 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ IU/ml}$ (200 μl darbo eiga)	„Amplified“ (amplifikuota) ar „Not Amplified“ (neamplifikuota)	HBV DNR aptikta kiekybinio nustatymo intervale
„Positive“ (teigiama), viršija ULoQ	Amplified (Amplifikuota) $[\text{HBV}] > 9,0 \log_{10} \text{ IU/ml}$	„Amplified“ (amplifikuota) ar „Not Amplified“ (neamplifikuota)	Aptikta HBV DNR viršija kiekybinį nustatymo intervalą
„Positive“ (teigiama), nesiekia LLoQ	Amplified (Amplifikuota) $[\text{HBV}] < 0,9 \log_{10} \text{ IU/ml}$ (550 μl darbo eiga) $[\text{HBV}] < 1,4 \log_{10} \text{ IU/ml}$ (200 μl darbo eiga)	„Amplified“ (amplifikuota) ar „Not Amplified“ (neamplifikuota)	HBV DNR aptikta žemiau kiekybinio nustatymo intervalo
Negative (Neigiamas)	Not Amplified (Neamplifikuota)	Amplified (Amplifikuota)	HBV DNR neaptikta
„Indeterminate“ (neaišku)	„Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed“ (neamplifikuota, aptikta sistemos klaida, ėminių apdorojimas užbaigtas)		Visi taikinių rezultatai buvo negaliojantys; pakartotinai išstirkite ėminį†
„No Result“ (nėra rezultato)*	„Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted“ (neamplifikuota, aptikta sistemos klaida, ėminių apdorojimas nutrauktas)		Ėminių apdorojimas buvo nutrauktas; pakartotinai išstirkite ėminį†
„Unresolved“ (neišspręsta)	„Not Amplified, No System Error Detected“ (neamplifikuota, neaptikta jokios sistemos klaidos)		Visi taikinių rezultatai buvo negaliojantys; pakartotinai išstirkite ėminį†

*Žymė „No Result“ (nėra rezultato) pateikiama tik 1.8 ir naujesnės versijos „NeuMoDx System“ programinėje įrangoje

†Sistemoje „NeuMoDx System“ įdiegta automatinė funkcija „Rerun/Repeat“ (paleisti iš naujo / pakartoti), kurią galutinis naudotojas gali pasirinkti norėdamas užtikrinti, kad IND / UNR / NR rezultatas būtų automatiškai apdorotas iš naujo ir sumažinta rezultatų pateikimo delsa.

Tyrimo skaičiavimas

- Tiriant ėminius, kurie patenka į tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ kiekybinio nustatymo intervalą, HBV DNR koncentracija ėminiuose skaičiuojama naudojant išsaugotą kalibracinę kreivę kartu su kalibravimo koeficientu ir mėginio tūriu.
 - Kalibravimo koeficientas apskaičiuojamas remiantis apdorotų kalibravimo medžiagų „NeuMoDx HBV Calibrator“ rezultatais, norint nustatyti kalibracinės kreivės tinkamumą su konkrečia juostelės „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“ partija, konkrečioje sistemoje „NeuMoDx System“.
 - Kalibravimo koeficientas naudojamas nustatant galutinę HBV DNR koncentraciją.
 - Nustatydama HBV DNR koncentraciją mėginio mililitre, „NeuMoDx“ programinė įranga įvertina mėginio įvesties tūrį.
- „NeuMoDx HBV Quant Assay“ rezultatai pateikiami \log_{10} IU/ml.
- Gautą nežinomų mėginių kiekį galima atsekti pagal PSO 4-ąjį HBV tarptautinį standartą.

Tyrimo kalibracija

Norint nustatyti HBV DNR kiekį mėginiuose, reikalinga pagal kalibracinę kreivę suderinta kalibracija. Siekiant gauti galiojančius rezultatus, tyrimo kalibravimas turi būti atliktas naudojant „NeuMoDx Molecular, Inc.“ pateiktas išorines kalibravimo medžiagas.

Kalibravimo medžiagos

- Kalibravimo medžiagų „NeuMoDx HBV Calibrator“ rinkinį reikia apdoroti su kiekviena nauja juostelių „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“ partija, įkėlus „HBV Quant“ tyrimo apibrėžimo failą į sistemą „NeuMoDx System“, pasibaigus esamo kalibravimo medžiagų rinkinio tinkamumo laikotarpiui (šiuo metu yra nustatytas 90 dienų laikotarpis) arba modifikavus „NeuMoDx System“ programinę įrangą.
- „NeuMoDx System“ programinė įranga praneš naudotojui, kai reikės apdoroti kalibravimo medžiagas. Naują tyrimo juostelių partiją galima naudoti tik sėkmingai apdorojus kalibravimo medžiagas.
- Kalibracijos tinkamumas nustatomas toliau nurodytu būdu.
 - Norint nustatyti tinkamumą, reikia apdoroti dviejų kalibravimo medžiagų rinkinį – vieną (1) aukštos ir vieną (1) žemos koncentracijos.
 - Bent dviejų (2) iš trijų (3) kartotinių mėginių rezultatai turi atitikti iš anksto nustatytus parametrus. Žemos koncentracijos kalibravimo medžiagos nominali tikslinė vertė yra $3,7 \log_{10} \text{ IU/ml}$, o aukštos koncentracijos kalibravimo medžiagos – $5,7 \log_{10} \text{ IU/ml}$.
 - Kalibravimo koeficientas apskaičiuojamas atsižvelgiant į numatomus tyrimo juostelių partijų skirtumus. Šis kalibravimo koeficientas naudojamas nustatant galutinę HBV koncentraciją.

4. Jei patikros metu nustatoma, kad viena ar abi kalibravimo medžiagos yra netinkamos, pakartotinai apdorokite netinkamą (-as) kalibravimo medžiagą (-as) naudodami naują flakoną. Tuo atveju, kai netinkama yra tik viena kalibravimo medžiaga, galima pakartotinai apdoroti tik tą kalibravimo medžiagą, nes sistema nereikalauja vėl apdoroti abiejų kalibravimo medžiagų.
5. Jei patikros metu kelis kartus iš eilės nustatoma, kad kalibravimo medžiaga (-os) yra netinkama (-os), kreipkitės į „NeuMoDx Molecular, Inc.“.

Kokybės kontrolė

Vietiniuose reikalavimuose dažniausiai nurodoma, kad laboratorija yra atsakinga už kontrolės procedūrų, kuriomis stebimas viso analitinio proceso tikslumas ir glaudumas, vykdymą. Naudodama patvirtintas nemodifikuotas tyrimo sistemos veikimo specifikacijas, laboratorija turi nustatyti kontrolinių medžiagų tyrimų skaičių, tipą ir dažnumą.

Išorinės kontrolinės medžiagos

1. Atliekant tyrimą „NeuMoDx HBV Quant Assay“, teigiamos ir neigiamos išorinės kontrolinės medžiagos turi būti apdorojamos kas 24 valandas. Jei tinkamų išorinių kontrolinių medžiagų rezultatų rinkinio nėra, prieš pateikiant ėminių rezultatus, „NeuMoDx System“ programinė įranga paragins naudotoją apdoroti kontrolines medžiagas.
2. Išorinių kontrolinių medžiagų tinkamumą sistema „NeuMoDx System“ įvertins pagal numatomą rezultatą. Teigiama kontrolinė medžiaga turėtų pateikti HBV teigiamą rezultatą, o neigiama kontrolinė medžiaga – HBV neigiamą rezultatą.
3. Prieštarigus išorinių kontrolinių medžiagų rezultatus reikia tvarkyti toliau nurodytu būdu.
 - a) „Positive“ (teigiamas) neigiamos kontrolinės medžiagos ėminio tyrimo rezultatas reiškia, kad mėginys yra užterštas.
 - b) „Negative“ (neigiamas) teigiamos kontrolinės medžiagos ėminio tyrimo rezultatas gali reikšti, kad kilo su reagentu ar prietaisu susijusi klaida.
 - c) Bet kuriuo iš pirmiau nurodytų atvejų arba jei rezultatas yra „Indeterminate“ (neaišku) (IND) arba „No Result“ (nėra rezultato) (NR), pakartotinai apdorokite išorines kontrolines medžiagas „NeuMoDx HBV External Control“, naudodami naujus kontrolines (-ių) medžiagas (-ų), kuri (-ios) patikros metu buvo nustatyta (-os) kaip netinkama (-os), flakonus.
 - d) Jei apdorodami teigiamas išorines kontrolines medžiagas „NeuMoDx HBV External Control“ vis gaunate rezultatą „Negative“ (neigiama), kreipkitės į „NeuMoDx“ techninės pagalbos tarnybą.
 - e) Jei apdorodami neigiamas išorines kontrolines medžiagas „NeuMoDx HBV External Control“ vis gaunate rezultatą „Positive“ (teigiama), prieš susisiekdami su „NeuMoDx“ techninės pagalbos tarnyba, pabandykite pašalinti visus galimo užteršimo šaltinius, taip pat pakeiskite visus reagentus.

Ėminių apdoravimo (vidinės) kontrolinės medžiagos

Į plokštelę „NeuMoDx Extraction Plate“ yra įtraukta egzogeninė ėminio apdoravimo kontrolinė medžiaga (Sample Process Control 1, SPC1). Ji kartu su kiekvienu ėminiu naudojama nukleorūgščių ekstrahavimo ir realiojo laiko PGR amplifikacijos procese. Į kiekvieną juostelę „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“ taip pat įtraukti SPC1 būdingi pradmenys ir zondai, kuriuos naudojant sudėtinės PGR metu pagal taikinio HBV DNR (jei ji yra) galima aptikti SPC1. SPC1 amplifikavimo aptikimas leidžia „NeuMoDx System“ programinei įrangai stebėti DNR ekstrahavimo ir PGR amplifikacijos procesų efektyvumą.

Netinkami rezultatai

Jei sistemoje „NeuMoDx System“ atlikus tyrimą „NeuMoDx HBV Quant Assay“ po ėminių apdoravimo nepavyksta gauti galiojančio rezultato, pagal įvykusios klaidos tipą rezultatas bus pateikiamas kaip „Indeterminate“ (neaišku, IND), „No Result“ (nėra rezultato) (NR) arba „Unresolved“ (neišspręsta) (UNR).

Rezultatas IND pateikiamas tuo atveju, kai ėminio apdoravimo metu aptinkama sistemos „NeuMoDx System“ klaida. Gavus rezultatą IND, rekomenduojama pakartotinai atlikti tyrimą.

Rezultatas UNR pateikiamas tuo atveju, jei nepatinkama jokia tinkama HBV DNR ar SPC1 amplifikacija ir nėra jokių sistemos klaidų, o tai reiškia, kad galėjo įvykti su reagentu susijusi triktis ar mėginyje yra inhibitorių. Gavus rezultatą UNR, pirmiausia rekomenduojama tyrimą atlikti pakartotinai. Jei tyrimo nepavyksta pakartotinai atlikti, siekiant sušvelninti ėminio slopinimo poveikį, galima naudoti praskiestą mėginį.

Jeigu tyrimas „NeuMoDx HBV Quant Assay“ atliekamas „NeuMoDx System“ neduoda galiojančio rezultato ir mėginio apdoravimas nutraukiamas prieš užbaigiant, bus pateiktas rezultatas „No Result“ (nėra rezultato) (NR). Gavus rezultatą NR, rekomenduojama pakartotinai atlikti tyrimą.

EFEKTYVUMO CHARAKTERISTIKOS

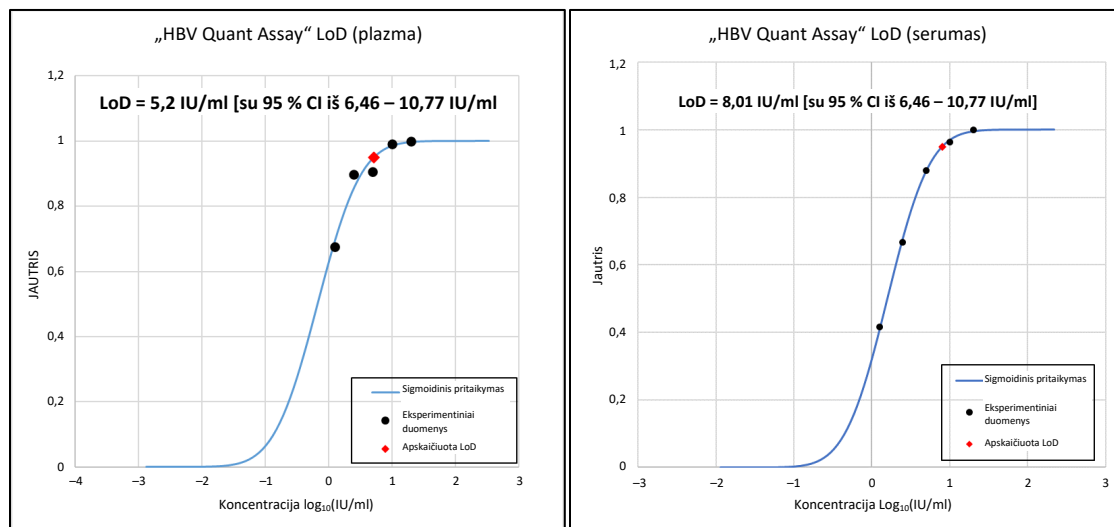
Analitinis jautris – aptikimo riba naudojat PSO standartą

Siekiant nustatyti sistemų „NeuMoDx System“ aptikimo ribą (Limit of Detection, LoD), analitinis tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ jautris buvo apibrėžtas atrankiniu būdu patikrintoje neigiamoje žmogaus plazmoje ir serume tiriant PSO 4-ojo tarptautinio standarto neigiamus mėginius ir skiedimo seriją. LoD apibrėžta kaip mažiausia taikinio koncentracija, kurios aptikimo dažnis yra 95 %, kaip nustatyta probito tipo analizės metu. Tyrimai buvo vykdomi 3 dienas keliuose sistemose „NeuMoDx System“, naudojant kelias „NeuMoDx“ reagentų partijas. Taip pat buvo atliktas papildomas tyrimas, skirtas tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ LoD patvirtinti naudojant 200 µl mėginio tūrio darbo eigą. Abiejų tyrimo aptikimo dažniai pateikti 2 lentelėje.

2 lentelė. Teigiamų rezultatų aptikimo dažnis nustatant tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ LoD

	Taikinio koncentracija [IU/ml]	Taikinio koncentracija [\log_{10} IU/ml]	PLAZMA			SERUMAS		
			Tinkamų tyrimų skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Aptikimo dažnis	Tinkamų tyrimų skaičius	Teigiamų rezultatų skaičius	Aptikimo dažnis
550 μ l	20	1,30	108	108	100 %	107	107	100 %
	10	1	108	107	99 %	108	104	96 %
	5	0,70	108	98	91 %	108	95	88 %
	2,5	0,40	108	97	90 %	108	72	67 %
	1,25	0,10	108	73	68 %	108	44	42 %
	NEG	N/A (Netaikytina)	108	0	0 %	107	0	0 %
200 μ l	25	1,40	43	43	100 %	44	44	100 %

Naudojant 550 μ l mėginio tūrio darbo eigą, HBV A genotipo (4-asis PSO tarptautinis standartas) tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ LoD plazmoje buvo 5,2 IU/ml (95 % PI 4,1–7,6 IU/ml) [(0,72 \log_{10} IU/ml) (95 % PI 0,61–0,88 \log_{10} IU/ml)] (žr. 2 lentelę). Naudojant 550 μ l mėginio tūrio darbo eigą, tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ LoD serumo mėginiuose buvo 8,0 IU/ml (95 % PI 6,5–10,8 IU/ml) [(0,9 \log_{10} IU/ml) (95 % PI 0,8–1,0 \log_{10} IU/ml)] (žr. 2 lentelę).



2 pav. Probito tipo analizė, naudota tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ LoD nustatyti plazmoje (iš kairės) ir serume (iš dešinės)

Analitinis jautris – kiekybinio nustatymo riba – apatinė kiekybinio nustatymo riba (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) naudojant PSO standartą

Apatinė kiekybinio nustatymo riba (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) apibrėžiama kaip mažiausia taikinio koncentracija, kuriai esant aptikimo dažnis yra > 95 % IR TAE siekia $\leq 1,0$. Norint nustatyti LLoQ, skaičiuojant LoD buvo apibrėžta bendra kiekvienos HBV taikinio koncentracijos, kuriai esant aptikimo dažnis buvo > 95 %, analitinė paklaida (Total Analytical Error, TAE). TAE apibrėžiama taip:

$$TAE = \text{sisteminioji paklaida} + 2 \cdot SD \quad [\text{Westgardo statistika}]$$

Sisteminioji paklaida yra skirtumo tarp apskaičiuotos koncentracijos vidurkio ir tikėtinos koncentracijos absoliučioji vertė. SD yra standartinis kiekybiškai nustatytos ėminio vertės nuokrypis.

Surinkti 5 koncentracijų HBV mėginių, naudotų LLoQ tyrime pagal 4-ąjį PSO tarptautinį standartą, rezultatai pateikti 3 lentelėje. Naudojant tyrimą „NeuMoDx HBV Quant Assay“ (550 μ l mėginio tūrio darbo eigą), 4-ojo PSO tarptautinio standarto LLoQ plazmoje buvo 5,5 IU/ml (0,74 \log_{10} IU/ml). Buvo atliktas atskiras tyrimas, skirtas LLoQ patvirtinti naudojant 200 μ l mėginio tūrio darbo eigą, ir gautas LLoQ siekė 25 IU/ml. Rezultatai taip pat pateikti 3 lentelėje.

Naudojant 550 μ l mėginio tūrio darbo eigą, tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ LLoQ tiriant serumo mėginius buvo 6,0 IU/ml, o naudojant mažo (200 μ l) mėginio tūrio darbo eigą – 25 IU/ml, kaip parodyta 3 lentelėje.

3 lentelė. „NeuMoDx HBV Quant Assay“ LLoQ, su paklaida ir TAE

	Taikinio konc. [IU/ml]	Taikinio konc. [\log_{10} IU/ml]	Plazma					Serumas				
			Vidutinė konc. [\log_{10} IU/ml]	Aptikimas (%)	SD	Sistem ingoji paklaida	TAE	Vidutinė konc. [\log_{10} IU/ml]	Aptikimas (%)	SD	Sistem ingoji paklaida	TAE
550 μ l	20	1,30	1,29	100	0,23	0,16	0,63	1,43	100	0,20	0,13	0,52
	10	1,00	1,07	99	0,25	0,20	0,71	1,21	96	0,24	0,21	0,69
	5	0,70	0,89	91	0,35	0,34	1,04	1,00	88	0,40	0,30	1,09
	2,5	0,40	0,75	90	0,44	0,51	1,39	0,96	67	0,44	0,56	1,46
	1,25	0,10	0,73	68	0,41	0,68	1,50	0,95	42	0,38	0,85	1,61
200 μ l	25	1,40	1,61	100	0,35	0,21	0,91	1,81	100	0,18	0,41	0,78

Analitinis jautris – LoD ir LLoQ tarp HBV genotipų

Iš pradžių buvo nustatytas A genotipo (4-ojo PSO tarptautinio standarto) LoD, o po to, naudojant nustatytą LoD, buvo atlikti papildomi kitų 7 genotipų tyrimai. Trisdešimt šeši (36) kartotiniai mėginiai, kurių koncentracijos atitiko 2X, 1X ir 0,5X 95 % PI viršutinės LoD ribos (~7 IU/ml), buvo ištirti naudojant tyrimą „NeuMoDx HBV Quant Assay“ ir plazmą su 550 μ l mėginio tūrio darbo eiga. Kiekvienos tirtos genotipo koncentracijos teigiamų rezultatų procentinis rodiklis buvo pateiktas lentelėje ir naudotas LoD apskaičiuoti vykdant probito tipo analizę.

Taip pat buvo apskaičiuota bendra šių tirtų koncentracijų analitinė paklaida. Mažiausia koncentracija, kuriai esant teigiamų rezultatų aptikimo dažnis yra 95 %, ir apskaičiuota $\leq 1,0$ TAE vėl buvo laikoma genotipo LLoQ. Tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ aptikimo riba tarp genotipų, tiriant plazmos mėginius 550 μ l mėginio tūrio darbo eiga, buvo 6,2 IU/ml (0,79 \log_{10} IU/ml), o LLoQ buvo 7,6 IU/ml (0,88 \log_{10} IU/ml), kaip parodyta 4 lentelėje.

 4 lentelė. Plazmoje 550 μ l mėginio tūrio darbo eiga tirti HBV genotipai

GENOTIPAS	LoD [IU/ml]	LLoQ [IU/ml]
A genotipas	5,2	5,2
B genotipas	6,2	6,2
C genotipas	3,5	6,2
D genotipas	5,2	5,7
E genotipas	3,5	3,5
F genotipas	5,1	6,2
G genotipas	3,5	3,5
H genotipas	5,2	7,6

Pagal šių tyrimų rezultatus „NeuMoDx“ nustatė, kad tiriant **plazmą ir serumą 200 μ l mėginio tūrio darbo eiga**, tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ **LoD ir LLoQ yra 25 IU/ml (1,4 \log_{10} IU/ml)**.

„NeuMoDx“ nustatė, kad tiriant **plazmą ir serumą 550 μ l mėginio tūrio darbo eiga**, tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ **LoD ir LLoQ yra 8,0 IU/ml (0,9 \log_{10} IU/ml)**.

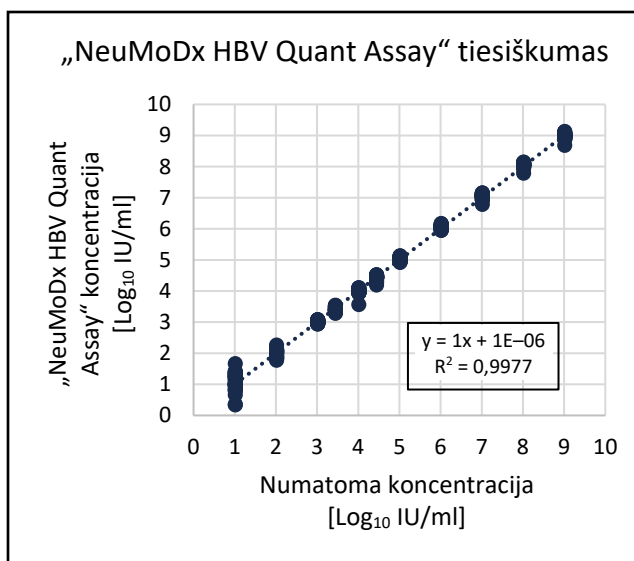
Analitinis jautris – viršutinės kiekybinio nustatymo ribos (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) tiesiškumas ir nustatymas

Tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ tiesiškumas ir viršutinė kiekybinio nustatymo riba (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) buvo nustatyti plazmoje paruošus skiedimo seriją, naudojant stipriai teigiamą HBV klinikinį ėminį („Access Biologicals“, „Vista“, CA), atsekamą pagal 4-ąjį PSO tarptautinį standartą. 11 mėginių grupė buvo parengta sudėtinėje HBV neigiamoje plazmoje, norint sukurti tyrimo mėginių grupę, kurios koncentracijos būtų 9,02–1,02 \log_{10} IU/ml intervale. Tyrimo mėginių grupė buvo apdorota su 6 kiekvienos koncentracijos kartotiniais mėginiais, naudojant 2 sistemas „NeuMoDx System“ ir 3 kritinių reagentų partijas. Įrodyta, kad tyrimu „NeuMoDx HBV Quant Assay“ galima kiekybiškai nustatyti HBV 8 \log_{10} tiesiniame intervale (įskaitant kritinius medicininių sprendimų priėmimo taškus) su $\pm 0,22$ \log_{10} IU/ml nuokrypiu). Naudojant 2-o ir 3-io modelio regresinę analizę, reikšmingos naudos nebuvo. Pagal šio tyrimo duomenis nustatyta kad ULoQ yra 9,02 \log_{10} IU/ml [žr. 5 lentelę ir 3 pav.].

5 lentelė. Tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ tiesiškumas (įvertintas naudojant A genotipą)

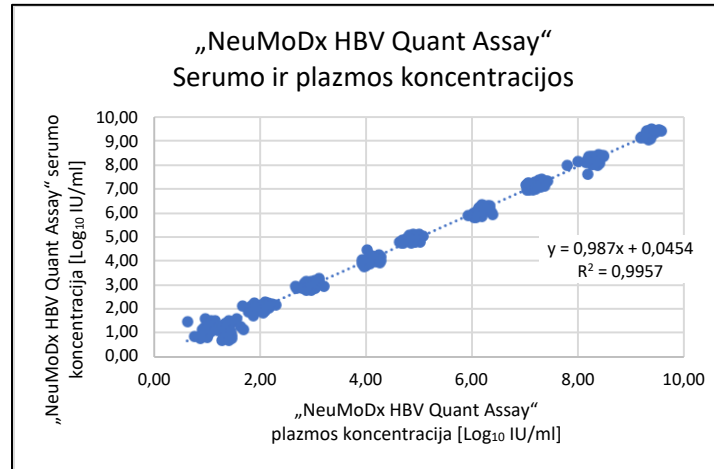
Taikinio konc. (IU/ml)	Taikinio konc. (log ₁₀ IU/ml)	Vidutinė konc. (log ₁₀ IU/ml)	Standartinis nuokrypis	Sisteminioji paklaida	Numatomas tiesinis pritaikymas	Nuokrypis nuo netiesinio pritaikymo
1,05E+09	9,02	8,99	0,08	0,06	9,02	-0,04
1,05E+08	8,02	8,05	0,07	0,05	8,02	0,03
1,05E+07	7,02	7,05	0,07	0,06	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

*Netoli medicininių sprendimų priėmimo taškų



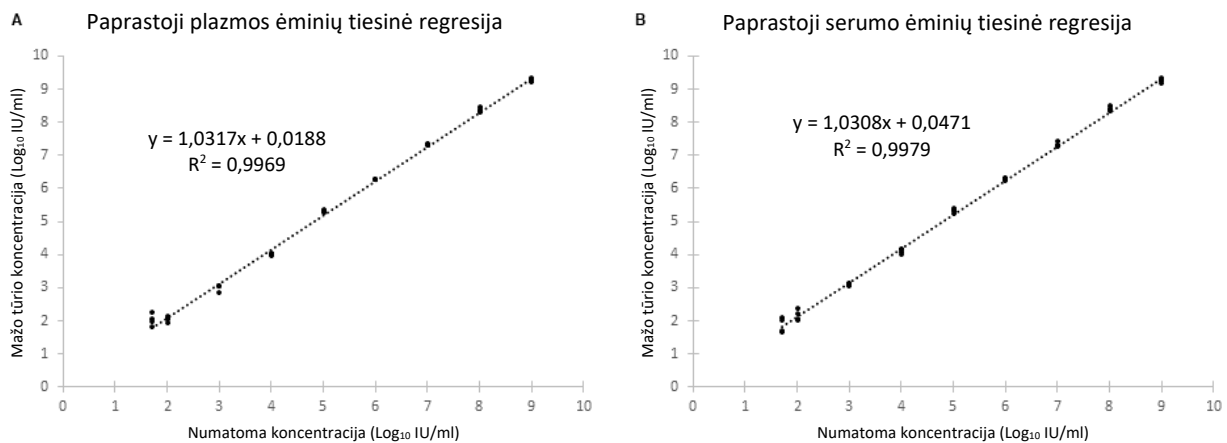
3 pav. Tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ tiesinis intervalas plazmoje

Buvo atliktas tolesnis tyrimas, skirtas matricos ekvivalentiškumui pademonstruoti. Analizės metu, naudojant du skirtingus regresijos pritaikymo modelius, įskaitant „MS Excel“ regresijos įrankį ir Passing-Babloko modelį, buvo palyginti plazmoje ir serume paruoštų ėminių tyrimo „NeuMoDx HBV“ kiekybiniai rezultatai. Rezultatai parodė stiprią koreliaciją, išreikštą nuolydžio ir atkarpos reikšmėmis, atitinkamai beveik prilygstančiomis 1,00 ir 0,00, ir 0,99 R² reikšme („MS Excel“ regresijos įrankis) arba 0,270 p reikšme (Passingo-Babloko modelis). Su atitinkamais serumo ėminiais palygintos sistemos „NeuMoDx System“ pateiktos plazmos matricos „HBV Quant Assay“ koncentracijos nurodomos 4 pav.



4pav. Tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ tiesinis intervalas tarp matricių

200 μ l mėginio tūrio darbo eigos tiesiškumas ir ULoQ buvo patvirtinti 9,31–1,71 \log_{10} IU/ml intervale. Atliktas „NeuMoDx“ programinės įrangos pateiktų 200 μ l ir 550 μ l darbo eigų koncentracijų ekvivalentiškumo palyginimas. Demingo ir Passingo-Babloko regresinė analizė parodė stiprią koreliaciją ir 1 beveik prilygstantį nuolydį bei minimalias pateiktų plazmos ir serumo ėminių koncentracijų atkarpas (sisteminę paklaidą) tiesiniame intervale. Pagal Blando ir Altmano metodą atliktas pateiktos 200 μ l mėginio tūrio darbo eigos koncentracijos ir vidutinės 200 μ l and 550 μ l mėginio tūrio darbo eigų koncentracijos palyginimas parodė minimalią sistemingą paklaidą. Tokie rezultatai reiškė, kad 200 μ l darbo eigos rezultatams generuoti naudotas algoritmas buvo tikslus. Paprastosios tiesinės regresijos, kuria palyginta numatoma ir pateikta 200 μ l darbo eigos koncentracija, nuolydis taip pat beveik prilygo 1 ir parodė stiprią koreliaciją [žr. 5 pav.]. Šių palyginimų rezultatai rodo, kad HBV kiekis tiksliai nustatomas tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ tiesiniame intervale, naudojant 200 μ l mėginio tūrio darbo eigą.



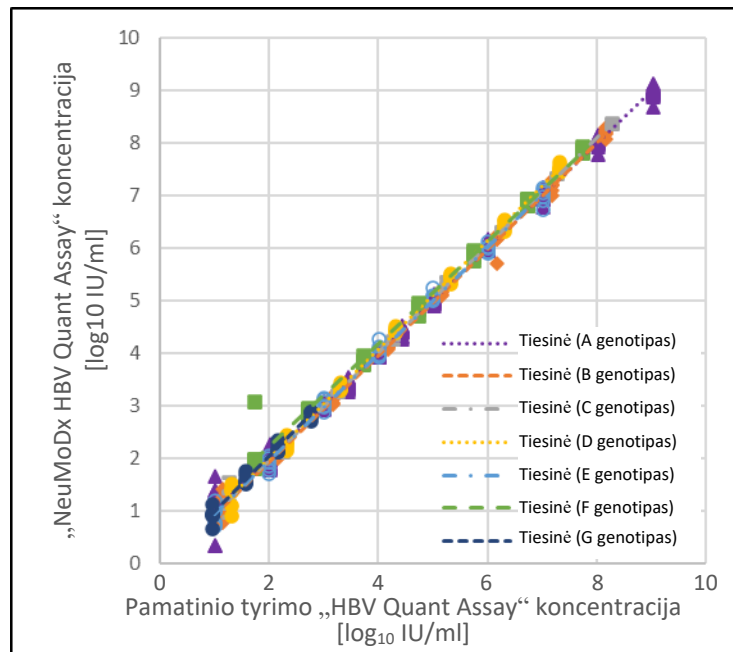
5 pav. Tiesinis santykis tarp numatomų ir „NeuMoDx“ pateiktų koncentracijų, vykdant 200 μ l darbo eigą a) plazmoje ir b) serume

Tiesiškumas tarp genotipų

Tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ HBV genotipų tiesiškumas plazmos mėginyje buvo apibrėžtas ištyrus ne mažiau nei keturias (4) skirtingas kiekvieno sudėtinėje HBV neigiamoje plazmoje paruošto HBV genotipo koncentracijas. Šiame tyrime tirtu HBV taikinio kiekiai priklausė nuo pradinio mėginio koncentracijos, todėl skyrėsi tarp genotipų. Tyrimas buvo atliktas su kiekvienu genotipu, naudojant 6 kiekvienos koncentracijos kartotinius mėginius. Tiesiškumas tarp HBV genotipų parodytas 6 lentelėje ir 6 pav.

6 lentelė. Tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ tiesiškumas tarp genotipų

Genotipas	Tiesinė lygtis $y = \text{„NeuMoDx HBV Quant Assay“}$ kiekybinis nustatymas $x = \text{numatomas kiekybinis nustatymas}$	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


6 pav. Tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ tiesiškumas tarp genotipų

Analitinis specifiškumas ir kryžminis reaktyvumas

Analitinis specifiškumas buvo pademonstruotas atlikus 32 mikroorganizmų, kurie paprastai aptinkami kraujo / plazmos mėginiuose, ir filogenetiškai į HBV panašių rūšių atrankinę patikrą dėl kryžminio reaktyvumo. Organizmai buvo paruošti 4–6 organizmų telkiniuose ir tirti esant aukštai koncentracijai. Tirti organizmai parodyti 7 lentelėje. Nebuvo pastebėta jokio kryžminio reaktyvumo su jokiais tirtais organizmais ir taip patvirtintas tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ 100 % analitinį specifiškumas.

7 lentelė. Analitiniams specifiškumui pademonstruoti naudoti patogenai – kryžminis reaktyvumas

Adenovirusas 2	Dengės virusas V1	Hepatitis A	ŽPV 16	Iļjeuso virusas (ILHV)	Geltonoji karštligė
Adenovirusas 5	Dengės virusas V2	Hepatitis C	ŽPV 18	A tipo gripas	Zika virusas
Banzi virusas	Dengės virusas V3	Žmogaus herpeso virusas 6a	HSV1	Parvovirusas B19	
BK virusas	Dengės virusas V4	Žmogaus herpeso virusas 8	HSV 2	Raudonukė	
Citomegalovirusas	Epšteino-Baro virusas	ŽIV 1	HTLV 1	Sent Luiso encefalitas	
VZV	Karvių raupų virusas	ŽIV 2	HTLV 2	Vakarų Nilo virusas	

Trukdančiosios medžiagos – komensaliniai organizmai

Buvo įvertinta tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ interferencija esant ne tiksliniams organizmams, naudojant tuos pačius organizmų telkinius, kurie buvo paruošti analitiniams specifiskumui tirti. Organizmai buvo tirti atskirai arba 4–6 organizmų telkinių grupėmis atrankiniu būdu patikrintoje HBV neigiamoje plazmoje, į kurią buvo pridėta 3,7 log₁₀ IU/ml koncentracijos HBV kontrolinių medžiagų. Jokios reikšmingos interferencijos esant šiems komensaliniais organizmams pastebėta nebuvo, nes kiekybinio nustatymo nuokrypis nuo kontrolinių medžiagų mėginių, kuriuose nebuvo interferencinių medžiagų, buvo minimalus [žr. 8 lentelę].

8 lentelė. Interferencijos tyrimas – komensaliniai organizmai

Ne tiksliniai organizmai	Vidutinė konc. (log ₁₀ IU/ml)	Sisteminioji paklaida (log ₁₀ IU/ml)
1 grupė [BK virusas, citomegalo virusas, Epšteino-Baro virusas, žmogaus herpeso virusas 6a, žmogaus herpeso virusas 8]	3,51	0,10
2 grupė [adenovirusas 2, adenovirusas 5, Dengės virusas V2, Dengės virusas V3, Dengės virusas V4]	3,38	0,22
3 grupė [parvovirusas B19, HTLV 1, HTLV 2, Iljeuso virusas (ILHV), geltonoji karštligė, Zika virusas]	3,62	0,06
4 grupė [ŽPV 16, ŽPV 18, HSV 1, HSV 2, Dengės virusas V1]	3,57	0,04
5 grupė [Sent Luiso encefalitas, VZV, karvių raupų virusas, Vakarų Nilo virusas]	3,57	0,03
HAV	3,58	0,05
Banži virusas	3,41	0,19
HIV-1	3,47	0,15
HIV-2	3,56	0,05
Raudonukė	3,16	0,44
A tipo gripas	3,60	0,03
HCV	3,58	0,04

Trukdančiosios medžiagos – endogeninės ir egzogeninės medžiagos

Juostelės „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“ efektyvumas buvo įvertintas esant tipinėms egzogeninėms ir endogeninėms trukdančiosioms medžiagoms, sutinkamoms HBV klinikiuose plazmos mėginiuose. Tai buvo neįprastai aukšta kraujo komponentų koncentracija, taip pat dažnai pasitaikantys antivirusiniai vaistai, suklasifikuoti 9 lentelėje. Visos 10 lentelėje nurodytos endogeninės ir egzogeninės medžiagos buvo pridėtos į atrankiniu būdu patikrintą HBV neigiamą žmogaus plazmą, į kurią pridėta 3,7 log₁₀ IU/ml HBV, ir buvo stebimi interferencijos duomenys. Taip pat dėl galimos interferencijos buvo tirta dažnų ligų plazma, susijusi su hepatito B infekcija.

9 lentelė. Interferencijos tyrimas – egzogeninės medžiagos (vaistų klasifikacija)

Telkinys	Vaistas	Klasifikacija
1	Zidovudinas (ZDV)	Atvirkštinės transkriptazės inhibitorius
	Sakvinaviras	ŽIV proteazės inhibitorius
	Ritonaviras	ŽIV proteazės inhibitorius
	Klaritromicinas	Antibiotikas
	Interferonas alfa-2a	Imunomodulatorius
	Interferonas alfa-2b	Imunomodulatorius
2	Abakaviro sulfatas	Atvirkštinės transkriptazės inhibitorius
	Amprenaviras	Proteazės inhibitorius
	Ribavirinas	Imunomodulatorius
	Entekaviras	HBV antivirusinis vaistas

Telkinys	Vaistas	Klasifikacija
	Fluoksetinas	SSRI antidepresantas
	Valacikloviro hidrochloridas	Antivirusinis vaistas
3	Tenofoviro dizoproksilis	HBV / ŽIV antivirusinis vaistas
	Lamivudinas	HBV / ŽIV antivirusinis vaistas
	Gancikloviras	CMV antivirusinis vaistas
	Valgancikloviras	CMV antivirusinis vaistas
	Nevirapinas	Atvirkštinės transkriptazės inhibitorius
4	Efavirenzas	Atvirkštinės transkriptazės inhibitorius
	Lopinaviras	Proteazės inhibitorius
	Enfuvirtidas	ŽIV sintezės inhibitorius
	Ciprofloksacinas	Antibiotikas
	Paroksetinas	SSRI antidepresantas
5	Adefoviras (dipivoksilis)	Antivirusinis vaistas
	Azitromicinas	Antibiotikas
	Indinaviro sulfatas	ŽIV proteazės inhibitorius
	Sertralinas	SSRI antidepresantas

10 lentelė. Interferencijos tyrimas – egzogeninės ir endogeninės medžiagos

Endogeninės	Vidutinė konc. (log ₁₀ IU/ml)	Sisteminio paklaida (log ₁₀ IU/ml)
Hemoglobinas	3,50	0,20
Trigliceridai	3,51	0,09
Bilirubinas	3,56	0,13
Albuminas	3,51	0,17
Egzogeninės (vaistai)	Vidutinė konc. (log ₁₀ IU/ml)	Sisteminio paklaida (log ₁₀ IU/ml)
1 telkinys: zidovudinas (ZDV), sakvinaviras, ritonaviras, klaritromicinas, interferonas alfa-2a, interferonas alfa-2b	3,58	0,08
2 telkinys: abakaviro sulfatas, amprenaviras, ribavirinas, entekaviras, fluoksetinas, valacikloviro hidrochloridas	3,56	0,04
3 telkinys: tenofoviro dizoproksilis, lamivudinas, gancikloviras, valgancikloviras, nevirapinas	3,59	0,06
4 telkinys: efavirenzas, lopinaviras, enfuvirtidas, ciprofloksacinas, paroksetinas	3,60	0,07
5 telkinys: adefoviras (dipivoksilis), azitromicinas, indinaviro sulfatas, sertralinas	3,56	0,19
Liga	Vidutinė konc. (log ₁₀ IU/ml)	Sisteminio paklaida (log ₁₀ IU/ml)
Antinuklearinis antikūnas (ANA)	3,61	0,10
Sisteminė raudonoji vilkligė (SRV)	3,63	0,10
Reumatoidinis artritas (RA)	3,57	0,09
Antikūnai prieš HCV	3,58	0,07
Antikūnai prieš HBV	3,64	0,11
Alkoholinė kepenų cirozė	3,68	0,15
Reumatoidinis faktorius (RF)	3,63	0,10
Nealkoholinis kepenų suriebėjimas (Non-Alcoholic Steatohepatitis, NASH)	3,49	0,06

Glaudumas laboratorijoje

Juostelės „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“ glaudumas buvo nustatytas tiriant 8 A–C genotipų HBV mėginių grupę, naudojant tris sistemas „NeuMoDx System“, 12 dienų. Buvo apskaičiuotas tyrimo, dienos ir sistemos glaudumas bei $\leq 0,22 \log_{10}$ IU/ml bendras standartinis nuokrypis. Glaudumas tarp operatorių nebuvo apibrėžtas, nes operatorius neatlieka svarbaus vaidmens ėminių apdorojimo sistema „NeuMoDx System“ procese. Glaudumo laboratorijoje rezultatai pateikiami 11 lentelėje.

11 lentelė. Glaudumo laboratorijoje tyrimo rezultatai

GRUPĖS MĖGINYS	TAIKINIO KONC. [Log ₁₀ IU/ml]	VIDUTINĖ KONC. [Log ₁₀ IU/ml]	Skaičius	Sisteminioji paklaida	Tyrimo SD	Dienos SD	Sistemos SD	Bendras SD
A genotipas	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
C genotipas	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

Atkuriamumas tarp partijų

Juostelės „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“ atkuriamumas tarp partijų buvo nustatytas naudojant tris skirtingas pagrindinių reagentų partijas – „NeuMoDx Lysis Buffer 1“, „NeuMoDx Extraction Plate“ ir „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“. Efektyvumui įvertinti buvo naudojama 8 A–C genotipų HBV mėginių grupė. Tyrimas buvo atliekamas 6 dienas, naudojant tris skirtingas reagentų partijas ir tris sistemas „NeuMoDx System“. Išanalizuoti partijos ir kelių partijų skirtumai. Didžiausia bendra sisteminioji paklaida buvo 0,12 log₁₀ IU/ml, o didžiausias bendras SD – 0,24 log₁₀ IU/ml. Reikšmingo efektyvumo skirtumo tarp partijų nepastebėta, nes visų grupės mėginių kiekybinis nustatymas atitiko leistino nuokrypio specifikaciją. Atkuriamumo tarp partijų rezultatai pateikiami toliau nurodytoje 12 lentelėje.

12 lentelė. Atkuriamumo tarp partijų tyrimo rezultatai

GRUPĖS MĖGINYS	TAIKINIO KONC. [log ₁₀ IU/ml]	VIDUTINĖ KONC. [log ₁₀ IU/ml]	Skaičius	Sisteminioji paklaida	PARTIJOS SD	tarp PARTIJŲ SD	Bendras SD
A genotipas	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
C genotipas	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

Kontrolinės medžiagos efektyvumas

Į tyrimą „NeuMoDx HBV Quant Assay“ įtrauktos SPC1 efektyvumas nustatant apdorojimo etapų triktis arba slopinimą, turintį įtakos tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ efektyvumui, buvo įvertintas naudojant du dažnus HBV genotipus (A ir C). Tirtos sąlygos atspindi kritinių apdorojimo etapų triktis, kurios gali atsirasti apdorojant mėginį ir kurių sistemos „NeuMoDx System“ efektyvumo stebėjimo jutikliai gali neaptikti. SPC1 efektyvumas buvo įvertintas atkartojant tokias trikčių sąlygas. Apdorojimo triktys, turėjusios neigiamą poveikį HBV aptikimui / kiekybiniam nustatymui, buvo atspindėtos pagal SPC1 taikinio efektyvumą (naudojant etapą „Presence of Inhibitor“ (su inhibitoriumi) ir „Lack of Wash“ (trūksta plovimo reagento)). Esant sąlygoms, kuriomis SPC1 amplifikacija nebuvo paveikta, HBV taikinyms buvo apmlifikuojamas 0,2 log₁₀ IU/ml kontrolinių medžiagų ėminių kiekybinio nustatymo intervale.

13 lentelė. Ėminio apdoravimo kontrolinės medžiagos efektyvumas

Tirta apdoravimo eigos triktis	Ėminio apdoravimo kontrolinės medžiagos amplifikacijos būseną	HBV taikino amplifikacijos būseną	Tyrimo rezultatas
„Presence of Inhibitor“ (su inhibitoriumi)	Not Amplified (Neamplifikuota)	Not Amplified (Neamplifikuota)	„Unresolved“ (neišspręsta)
„No Wash Delivered“ (be plovimo reagento)	Not Amplified (Neamplifikuota)	Not Amplified (Neamplifikuota)	„Unresolved“ (neišspręsta)
„No Wash Blowout“ (be plovimo reagento išpūtimo)	Amplified (Amplifikuota)	Amplified (Amplifikuota)	„Positive“ (teigiamas) rezultatas, kai kiekybinis nustatymas yra 0,2 Log ₁₀ IU/ml kontrolinės medžiagos intervale

Kryžminė tarša

Tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ kryžminės taršos rodiklis buvo nustatytas ištyrus tris HBV mėginių rinkinius, į kuriuos įtraukti pakaitomis naudojami stipriai teigiami ir neigiami mėginiai. Iš viso ištirti 144 įprasti, HBV neigiamos žmogaus EDTA plazmos kartotiniai mėginiai ir 144 didelės HBV koncentracijos (8,0 log₁₀ IU/ml) kartotiniai mėginiai. Visi 144 neigiamų mėginių pakartojimai buvo neigiami. Tokiu būdu nustatyta, kad apdorojant ėminius sistema „NeuMoDx System“ kryžminės taršos nėra.

Mėginių matricos ekvivalentiškumas

Buvo atliktas tyrimas, kuriuo siekta pademonstruoti ekvivalentiškumą rezultatams, gautiems tiriant plazmos mėginius, surinktus į etilendiamintetraacetatą (EDTA) ir į rūgšties citrato deksrozės (ACD) paėmimo mėgintuvėlius. Taip pat buvo atliktas šviežių ir užšaldytų mėginių ekvivalentiškumo tyrimas. Keturiasdešimt atskirų donorių mėginių, gautų iš „BioIVT“, buvo surinkti į EDTA ir ACD paėmimo mėgintuvėlius. Į šiuos šviežius ėminius buvo pridėta keturių koncentracijų A ar C genotipo HBV ir atliktas jų ekvivalentiškumo tyrimas. Ėminiai buvo laikomi užšaldyti ne trumpiau nei 24 valandas, atitirpinti ir pakartotinai ištirti. Atlikus regresinę analizę, nustatyta, kad šviežių ir užšaldytų bei EDTA ir ACD mėginių rezultatų ekvivalentiškumas yra puikus.

14 lentelė. Mėginių ekvivalentiškumo rezultatų regresinė analizė

Parametras [priimtino kriterijus]	Švieži ir užšaldyti	ACD ir K2EDTA
Nuolydis [0,9–1,1]	1,002	0,996
Atkarpa [<0,5]	-0,031	0,018
Nustatymo koeficientas [R ² >0,95]	0,995	0,993

Buvo atliktas papildomas tyrimas, kuriuo siekta pademonstruoti tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ efektyvumo ekvivalentiškumą, tiriant į pirminius ir antrinius paėmimo mėgintuvėlius surinktus mėginius. HBV neigiamų donorių mėginių grupės, į kurias pridėta HBV taikino („AccuPlex™ HBV Control“), buvo iš pradžių apdorotos pirminiuose mėginių mėgintuvėliuose. Likusi kiekvieno mėginio plazma buvo išpilstyta alikvotinėmis dalimis į antrinį mėgintuvėlį ir pakartotinai apdorota. Reikšmingo skirtumo tarp pirminių ir antrinių mėgintuvėlių apdoravimo rezultatų nenustatyta.

Tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ efektyvumo ekvivalentiškumas tiriant šviežius ir užšaldytus serumo mėginius, taip pat buvo įvertintas naudojant atskirų, šviežių donorių serumo mėginių grupę, į kurią pridėta HBV tokiomis koncentracijomis, kurios apėmė tiesinį tyrimo intervalą. Apdorojus šviežius mėginius, serumo ėminiai buvo laikomi užšaldyti –20 °C temperatūroje ne mažiau nei 24 valandas. Tada užšaldyti ėminiai buvo atitirpti ir pakartotinai ištirti. Tiesinis ekvivalentiškumas tarp tokių pačių šviežių ir užšaldytų ėminių buvo įvertintas naudojant Passingo-Babloko ir Demingo regresinę analizę. 0,329 Passingo-Babloko regresijos p reikšmė (didesnė nei 0,05) ir 0,989 Demingo regresijos koreliacijos koeficientas rodo puikų ekvivalentiškumą tarp šviežiai apdorotų ir anksčiau užšaldytų mėginių. Pagal Blando-Altmano metodą nustatyta, kad sistemingoji paklaida tarp šviežių ir užšaldytų mėginių yra labai nežymi, t. y. –0,002 log₁₀ IU/ml. Tai taip pat įrodo šviežių ir užšaldytų mėginių apdoravimo ekvivalentiškumą. Galiausiai paprastosios tiesinės regresijos būdu buvo apskaičiuota koreliacija tarp sistemos nustatytų HBV koncentracijų ir numatomų koncentracijų, taikomų šviežiams ir užšaldytiems ėminiams. Nustatytos R² reikšmės atitinkamai buvo 0,991 ir 0,985.

Mėginių stabilumas

Į HBV neigiamus EDTA plazmos ir serumo mėginius buvo pridėta 3,7 log₁₀ IU/ml koncentracijos HBV ir jie ištirti sistema „NeuMoDx System“ skirtingais laiko momentais – nedelsiant (0 laikas), po 4 valandų, po 8 valandų ir po 24 valandų. Žymių skirtumų tarp laiko momentų nepastebėta. Tai rodo, kad mėginys gali būti laikomas sistemoje „NeuMoDx System“ iki 24 valandų, nepaveikiant tyrimo efektyvumo.

Panašus tyrimas taip pat buvo atliktas naudojant plazmos ir serumo mėginius, prieš tyrimą laikytus laboratorijos šaldytuve (2–8 °C temperatūroje) iki 7 dienų, ir jokių žymių efektyvumo skirtumų nepastebėta.

Galiamai buvo ištirti prieš apdorojimą ≤ –20 °C temperatūroje iki 6 mėnesių (plazma) ir iki 4 mėnesių (serumas) laikyti mėginiai ir nenustatyta jokių žymių skirtumų, palyginti su šviežiais mėginiais. Užšaldymo / atitirpinimo ciklas buvo pakartotas ir vėl nenustatyta jokių efektyvumo pokyčių po 2 užšaldymo / atitirpinimo ciklų (plazma) ar 4 užšaldymo / atitirpinimo ciklų (serumas).

Metodų koreliacija

Plazmos mėginiai

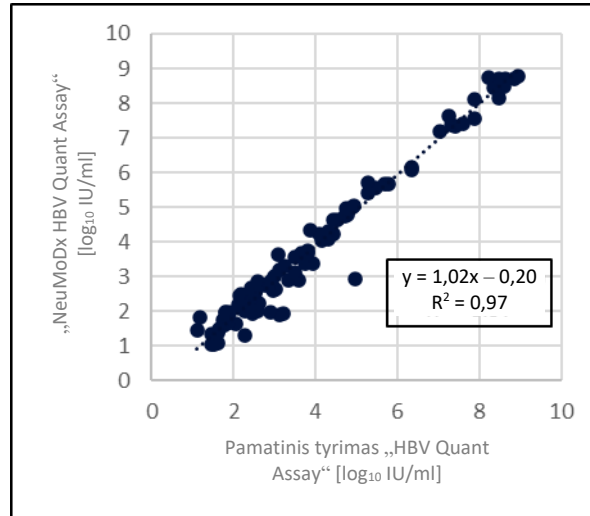
Kokybinis ir kiekybinis tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ efektyvumas buvo įvertintas pagal FDA / CE patvirtintus lyginamuosius tyrimus, tiriant nepraskiestus plazmos klininius mėginius, paimtus iš HBV užkrėstų pacientų. Tyrimai buvo atlikti „NeuMoDx“ bendrovės viduje, vykdant viengubai aklą tyrimą, į kurį įtraukti iš trijų atskirtų etaloninių laboratorijų gauti klininiai mėginiai. Kokybinėje analizėje buvo surinkti 308 HBV teigiamų ir neigiamų mėginių rezultatai, kad galima būtų apskaičiuoti tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ klininį jautrį ir specifiškumą. Kokybinė analizė buvo atlikta kartu su teigiamais mėginiais, kurių koncentracija nesiekė LLoQ, ir be jų, nes tokių mažų koncentracijų mėginių klasifikacija gali skirtis įvairiuose tyrimuose. Norint sugeneruoti tiesinę regresiją ir apibrėžti kiekybinį efektyvumą, iš viso buvo naudoti 97 HBV teigiami klininiai mėginiai, kurių koncentracijos apėmė abiejų tyrimų tiesinį intervalą. Juostelė „NeuMoDx HBV Quant Test Strip“ pasižymėjo ne tik dideliu jautriu ir specifiškumu, bet ir puikia kiekybine koreliacija su lyginamuoju tyrimu. Pagal šiuos rezultatus nustatytas 100 % (PI 96,4 %–100 %) tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ jautris ir 95,6 % (PI 91,9 %–97,7 %) specifiškumas. Šie 95 % pasiklojimo intervalai apskaičiuoti naudojant 95 % įverčio pasiklojimo intervalo metodą pagal EP12-A2, „User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, Approved Guideline“ (Vol 28, No 3).⁶

15 lentelė. Tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ klininio jautrio ir specifiškumo metrika, tiriant plazmos mėginius sistema „NeuMoDx 288 Molecular System“

	Pamatinis tyrimas (POS)	Pamatinis tyrimas (NEG)	IŠ VISO
„NeuMoDx HBV Quant Assay“ (POS) (teig.)	103	9	112
„NeuMoDx HBV Quant Assay“ (NEG) (neig.)	0	196	196
IŠ VISO	103	205	308
JAUTRIS = 100 % 95 % PI (96,4–100 %) SPECIFIŠKUMAS = 95,6 % 95 % PI (91,9–97,7 %)			

16 lentelė. Sistema „NeuMoDx 288 Molecular System“ atliekamo tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ klininio jautrio ir specifiškumo metrika be plazmos mėginių, kurių koncentracija <LLOQ

	Pamatinis tyrimas (POS)	Pamatinis tyrimas (NEG)	IŠ VISO
„NeuMoDx HBV Quant Assay“ (POS) (teig.)	99	5	104
„NeuMoDx HBV Quant Assay“ (NEG) (neig.)	0	196	196
IŠ VISO	99	201	300
JAUTRIS = 100 % 95 % PI (96,3–100 %) SPECIFIŠKUMAS = 97,5 % 95 % PI (94,3–98,9 %)			



7 pav. Kiekybinių metodų koreliacijos tyrimas, naudojant tyrimą „NeuMoDx HBV Quant Assay“

Papildomai sistema „NeuMoDx 96 Molecular System“ buvo iširti 159 likę klinikiniai plazmos mėginiai. Kaip ir ankstesnių sistema „NeuMoDx 288“ atliktų tyrimų atveju, „NeuMoDx 96“ gauti rezultatai buvo palyginti su FDA patvirtintais ir (arba) CE ženklu pažymėtais tyrimais, kuriuos pirminės laboratorijos naudojo sveikatos priežiūros kokybės tyrimams. Rezultatai, įskaitant teisingumo lentelę su klinikiu jautriu ir specifiškumu, pateikti su 95 % PI 17 lentelėje.

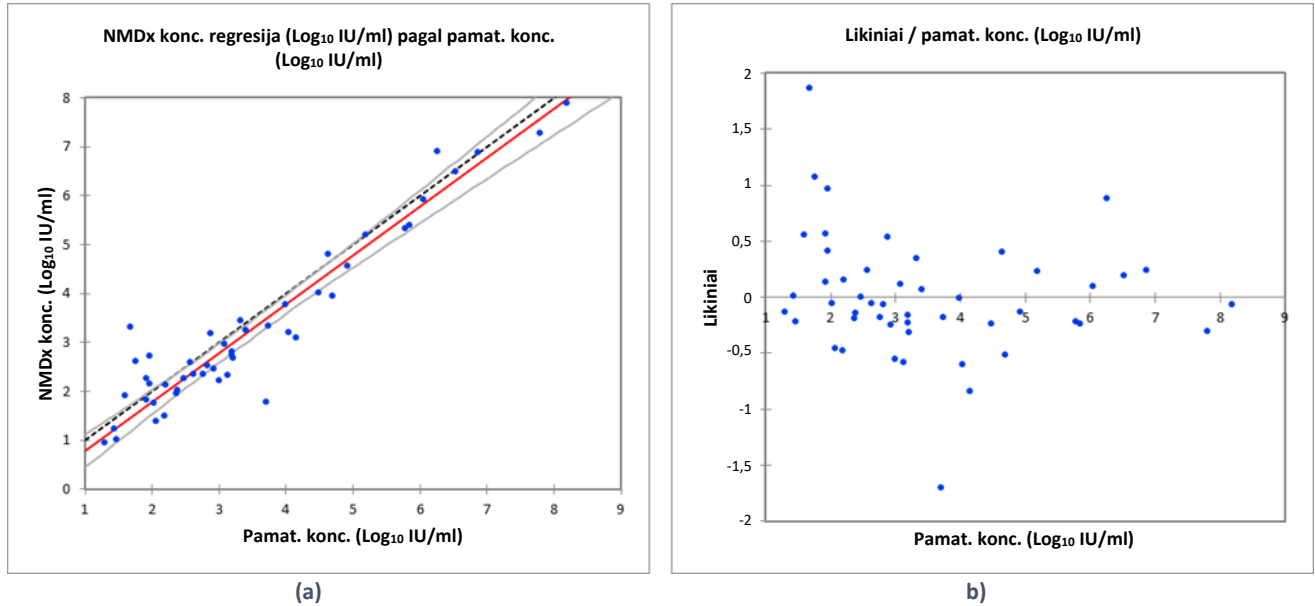
17 lentelė. Klinikinio efektyvumo suvestinė – sistema „NeuMoDx 96 Molecular System“ atliekamas tyrimas „NeuMoDx HBV Quant Assay“

	Pamatinis tyrimas (POS)	Pamatinis tyrimas (NEG)	IŠ VISO
„NeuMoDx HBV Quant Assay“ (POS) (teig.)	60	2	62
„NeuMoDx HBV Quant Assay“ (NEG) (neig.)	1	95	96
IŠ VISO	61	97	158
JAUTRIS = 98 % 95 % PI (90–100 %)			
SPECIFIŠKUMAS = 98 % 95 % PI (92–100 %)			

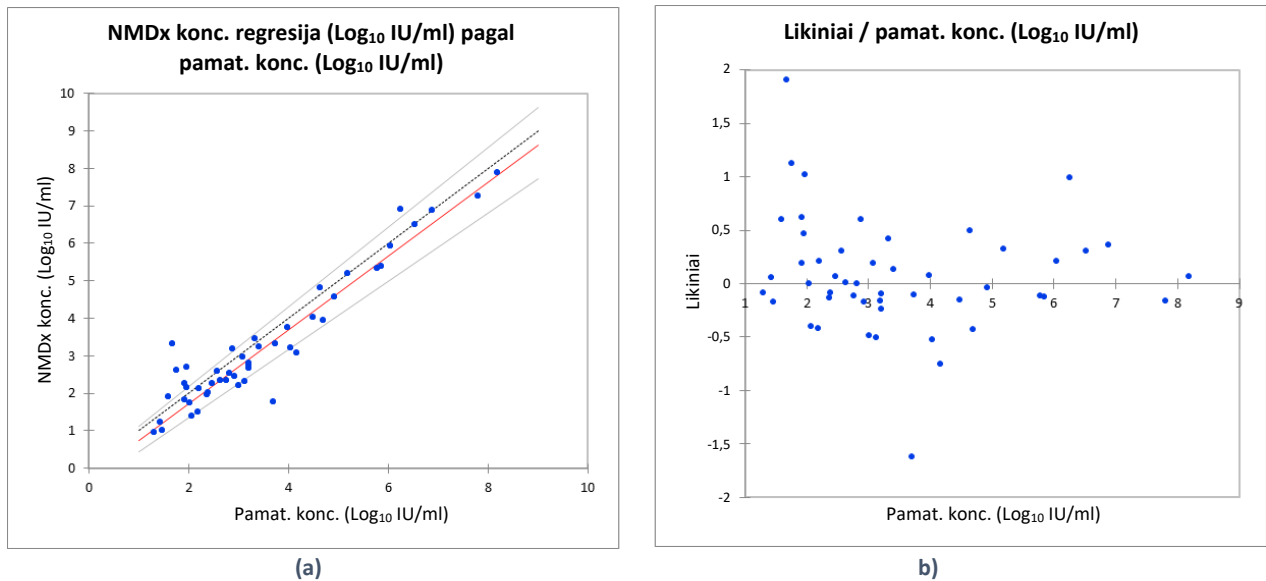
Serumo mėginiai

Kiekybinis tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ efektyvumas buvo įvertintas pagal FDA / CE patvirtintus lyginamuosius tyrimus, tiriant nepažymėtus, likusius HBV teigiamus serumo mėginius, paimtus iš HBV užkrėstų pacientų. Iš viso tyrimu „NeuMoDx HBV Quant Assay“, atliktu „NeuMoDx“ bendrovės viduje, buvo iširti 66 klinikiniai žinomi HBV teigiami serumo mėginiai, gauti iš dviejų nepriklausomų etaloninių laboratorijų. Ištyrus žinomus teigiamus serumo mėginius, 58 mėginių rezultatai buvo teigiami – devyni (9) iš šių rezultatų nesiekė „NeuMoDx HBV Quant Assay“ ir (arba) pamatinio tyrimo LLoQ ir viršijo ULoQ. Norint sugeneruoti regresines analizes ir apibrėžti kiekybinį efektyvumą, iš viso buvo naudoti 49 HBV teigiami klinikiniai mėginiai, kurių koncentracijos apėmė abiejų tyrimų tiesinį intervalą.

Buvo sugeneruotos ekvivalentiškumo ir likinių diagramos, siekiant atspindėti koreliaciją tarp tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ koncentracijų ir pamatinio tyrimo koncentracijos verčių, taikomų visiems pagal Demingo ir Passingo-Babloko regresinę analizę tirtiems ėminiams (žr. 8 pav. ir 9 pav.). Demingo regresijos pritaikymo kokybę atvaizduoja 0,99 nuolydžio koeficientas su 95 % PI (0,93, 1,07) ir –0,22 atkarpa (sisteminioji paklaida) su 95 % PI (–0,56, 0,12). Tai parodo, kad koncentracijų rezultatai, gauti atlikus „NeuMoDx HBV Quant Assay“ ir pamatinius tyrimus, yra glaudžiai susiję ir jų sisteminioji paklaida yra priimtina. Passingo-Babloko tiesinio pritaikymo kokybę atvaizduoja 0,99 nuolydžio koeficientas su 95 % PI (0,91, 1,06) ir –0,25 atkarpa (sisteminioji paklaida) su 95 % PI (–0,48, 0,06). Tai parodo, kad koncentracijų rezultatai, gauti atlikus „NeuMoDx HBV Quant Assay“ ir pamatinius tyrimus, yra glaudžiai susiję ir jų sisteminioji paklaida yra priimtina (žr. 18 lentelę).



8 pav. Ekvivalentiškumo (a) ir likinių (b) diagramos – bendra „NeuMoDx HBV Quant Assay“ rezultatų ir pamatinių tyrimų analizė – Demingo analizė.



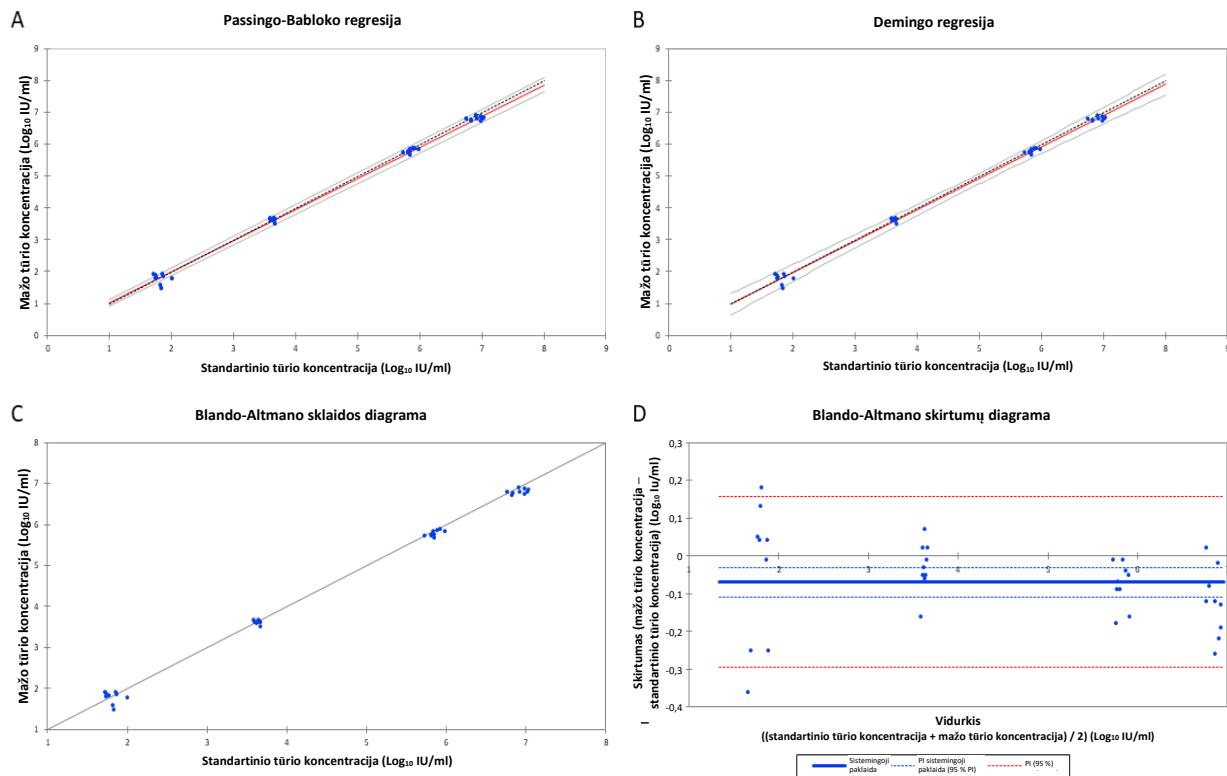
9 pav. Ekvivalentiškumo (a) ir likinių (b) diagramos – bendra „NeuMoDx HBV Quant Assay“ rezultatų ir pamatinių tyrimų analizė – Passingo-Babloko analizė.

18 lentelė. Demingo ir Passingo-Babloko tiesinės regresinės analizės suvestinė, tiriant serumo mėginius

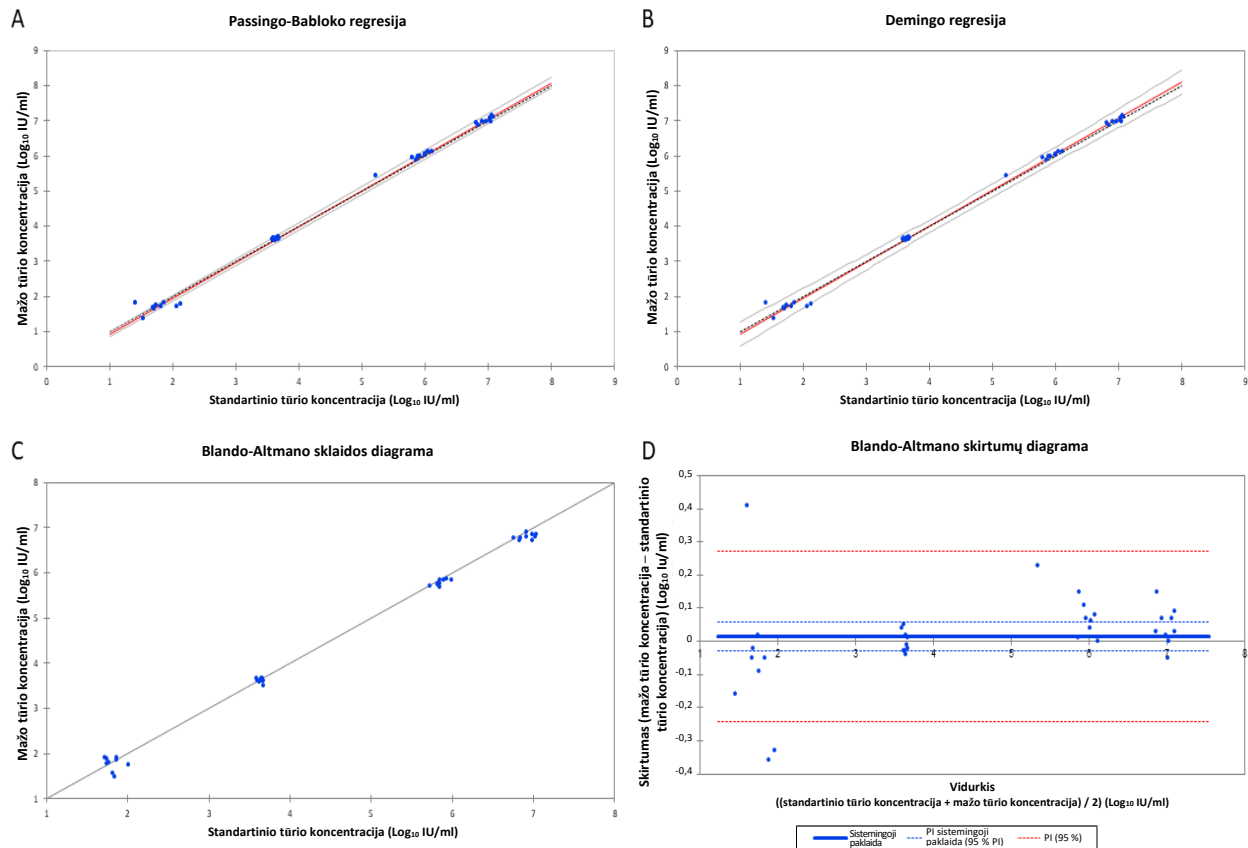
Demingo analizė			Passingo-Babloko analizė		
Atkarpa	Nuolydžio koeficientas	R2	Atkarpa	Nuolydžio koeficientas	p reikšmė
-0,22 95 % PI (-0,56, 0,12)	0,99 95 % PI (0,93, 1,07)	0,95	-0,25 95 % PI (-0,48, 0,06)	0,99 95 % PI (0,91, 1,06)	0,89

Dirbtinių mėginių tyrimas – 200 µl mėginio tūrio darbo eiga

Kiekybinė koreliacija tarp 200 µl ir 550 µl mėginio tūrio darbo eigų buvo patvirtinta naudojant mėginių grupę, į kurią įtraukti atskiri HBV neigiami plazmos ir serumo mėginiai, į kuriuos pridėta keturių žinomų koncentracijų HBV kontrolinės medžiagos, (pagal 4-ąjį PSO tarptautinį standartą, taikomą HBV DNR nukleorūgščių tyrimams). Šie atskiri plazmos ir serumo mėginiai buvo apdoroti naudojant tiek 550 µl, tiek 200 µl mėginio tūrio darbo eigas ir iš viso buvo atlikti 288 tyrimai. „NeuMoDx“ programinės įrangos nustatytų 200 µl and 550 µl mėginio tūrio darbo eigų koncentracijų ir dirbtinės mėginių grupės ekvivalentiškumas buvo palygintas tiriant atskirus mėginius. Tiriant plazmą, Demingo ir Passingo-Babloko regresinės analizės nuolydis buvo 0,985 ir 0,998 su $-0,001$ ir $0,053$ atkarpomis, o tiriant serumą – $1,024$ ir $1,018$ su $0,095$ ir $0,070$ atkarpomis. Tai rodo puikų HBV kiekybinių nustatymų atitikimą tarp dviejų apdorojimo tūrių. Atlikus palyginimą pagal Blando ir Altmano metodą, tarp dviejų darbo eigų nustatyta minimali sistemingoji paklaida. Be to, paprastųjų tiesinių analizių, kuriose naudota numatoma koncentracija ir nustatyta 200 µl darbo eigos koncentracija, nuolydis buvo $1,047$ su $0,998$ koreliacijos koeficientu (tiriant plazmą) ir $1,113$ su $0,992$ (tiriant serumą). Tai patvirtinta, kad tyrimo „NeuMoDx HBV Quant Assay“ efektyvumas naudojant 200 µl mėginio tūrio darbo eigą yra puikus. Šių tyrimų rezultatai apibendrinti toliau pateiktame 10 pav. ir 11 pav.



10 pav. Mažo tūrio ir standartinio mėginio tūrio nustatytų koncentracijų ekvivalentiškumo diagramos palyginimai. a) Passingo-Babloko regresija b) Demingo regresija c) Blando-Altmano sklaidos diagrama d) Blando-Altmano skirtumų diagrama – plazmos mėginiai



11 pav. Mažo tūrio ir standartinio mėginio tūrio nustatytų koncentracijų ekvivalentiškumo diagramos palyginimai. a) Passingo-Babloko regresija b) Demingo regresija c) Blando-Altmano sklaidos diagrama d) Blando-Altmano skirtumų diagrama – serumo mėginiai

LITERATŪRA

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.

PREKIŲ ŽENKLAI

„NeuMoDx™“ yra „NeuMoDx Molecular, Inc.“ prekės ženklas.

„NeuDry™“ yra „NeuMoDx Molecular, Inc.“ prekės ženklas.

„TaqMan®“ yra registruotasis „Roche Molecular Systems, Inc.“ prekės ženklas.

Visi kiti šiame dokumente pateikiami prekių pavadinimai, prekių ženklai ir registruotieji prekių ženklai yra jų atitinkamų savininkų nuosavybė.

SIMBOLIŲ REIKŠMĖS

R only Naudoti tik pagal receptą


 Gamintojas

IVD *In vitro* diagnostikos medicinos priemonė


EC REP Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje


REF Katalogo numeris

LOT Partijos kodas

 Tinka naudoti iki

 Temperatūros riba

 Nenaudoti pakartotinai

 Pakanka atlikti tyrimų: <n>

 Žr. naudojimo instrukcijas

 Dėmesio

 Biologiniai pavojai

CE CE ženklas



„NeuMoDx Molecular, Inc.“
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, JAV

Rėmėjas (AUS):
„QIAGEN Pty Ltd“
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148,
Australija



„Emergo Europe B.V.“,
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
Nyderlandai

CE 2797

Techninė pagalba / budrumo ataskaitų teikimas:
support@qiagen.com

Patentas: www.neumodx.com/patents