

REF 201300 NeuMoDx™ HBV Quant Test Strip

R only

VOORZICHTIG: Voor VS: uitsluitend bestemd voor export

IVD Voor *in-vitro*diagnostisch gebruik met het NeuMoDx 288 System en NeuMoDx 96 Molecular Systems

 Ga voor updates van bijsluiters naar: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van NeuMoDx 288 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600108

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van NeuMoDx 96 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600317

BEOOGD GEBRUIK

De NeuMoDx HBV Quant Assay is een geautomatiseerde *in-vitro* nucleïnezuuramplificatietest voor de kwantificering van DNA van hepatitis B-virus (HBV) in menselijke plasma- en serumspecimens voor HBV-geotypes A tot en met H van met HBV geïnfecteerde personen. De NeuMoDx HBV Quant Assay, zoals geïmplementeerd in het NeuMoDx 288 Molecular System en het NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)) maakt gebruik van geautomatiseerde DNA-extractie om doelnucleïnezuur van het specimen te isoleren en van een realtime polymerasekettingreactie (Polymerase Chain Reaction; qPCR) om zich te richten op de sterk geconserveerde sequenties in het genoom van het hepatitis B-virus.

De NeuMoDx HBV Quant Assay is bedoeld voor gebruik als hulpmiddel bij de behandeling van patiënten met HBV-infecties. De resultaten van de NeuMoDx HBV Quant Assay moeten worden geïnterpreteerd met inachtneming van alle relevante klinische en laboratoriumbevindingen. De NeuMoDx HBV Quant Assay is niet bedoeld voor gebruik als een screeningstest voor bloed of bloedproducten of als een diagnostisch hulpmiddel voor het diagnosticeren van een HBV-infectie.

SAMENVATTING EN UITLEG

Voor de bereiding van plasma kan menselijk volbloed worden gebruikt, dat verzameld is in steriele bloedafnamebuisjes met ofwel ethyleendiaminetetra-azijnzuur (EDTA) ofwel zuurcitraatdextrose (Acid Citrate Dextrose; ACD) als antistollingsmiddelen of in plasmabereidingsbuisjes (Plasma Preparation Tubes; PPT); serum moet in serumafnamebuisjes of -scheidingsbuisjes (Serum Separation Tubes; SST) worden verzameld. Ter voorbereiding op de test wordt het plasma of serum in een secundair specimenbuisje of gefractioneerd bloed in een primair specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx System in een speciale specimendrager in het NeuMoDx System geplaatst. Voor elk specimen wordt een aliquot van plasma- of serummonster gemengd met NeuMoDx Lysis Buffer 1. Het NeuMoDx System voert vervolgens automatisch alle stappen uit die nodig zijn voor de extractie van het beoogde nucleïnezuur, het voorbereiden van het geïsoleerde DNA voor realtime PCR-amplificatie en, indien aanwezig, het amplificeren en detecteren van de amplificatieproducten (gedeelten van het HBV-genoomdoel in de sterk geconserveerde gebieden waarin het X- en *preC*-eiwit wordt gecodeerd). De NeuMoDx HBV Quant Assay omvat een DNA-monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC1) als hulpmiddel voor het opsporen van zowel mogelijke remmers als fouten van het NeuMoDx System of van reagentia die tijdens het extractie- en het amplificatieproces kunnen optreden.

Hepatitis B-virus (HBV) veroorzaakt hepatitis B-leverinfectie en is een wereldwijd gezondheidsprobleem. Hepatitis B kan acute hepatitis veroorzaken of zich verder ontwikkelen tot een chronische aandoening die tot cirrose of leverkanker leidt. Het risico dat een chronische aandoening zich ontwikkelt, is met name leeftijdsgebonden: als het virus bij de geboorte wordt overgedragen, is er een risico van > 90% dat een chronische aandoening zich ontwikkelt, terwijl het risico op een chronische aandoening voor een volwassene die geïnfecteerd raakt 2-6% bedraagt.¹ HBV wordt overgedragen wanneer bloed in contact komt met bloed van een geïnfecteerde persoon, door geslachtsgemeenschap, door bij het injecteren van drugs dezelfde naald te gebruiken als een geïnfecteerde persoon, of wordt overgedragen van moeder op kind tijdens de bevalling. In de Verenigde Staten hebben ongeveer 850.000 mensen een HBV-infectie; de meeste nieuwe infecties zijn seksueel of door een injectie van drugs overgedragen.² In Afrika en het westelijke deel van de Stille Oceaan is wel 5% van de bevolking geïnfecteerd met HBV. In 2015 kostte een HBV-infectie wereldwijd het leven aan 885.000 mensen. Deze overlijdens waren voornamelijk het gevolg van cirrose of hepatocellulair carcinoom.³ Er bestaat een vaccin dat 95% effectief is in het voorkomen van een HBV-infectie, waardoor het aantal diagnoses jaar na jaar afneemt.⁴

De huidige standaardbehandeling voor een HBV-infectie is antivirale therapie, waarbij de patiënt voortdurend moet worden gemonitord om te garanderen dat de behandeling naar wens verloopt. Door de therapie met de NeuMoDx HBV Quant Assay te monitoren, kunnen artsen de benodigde informatie krijgen om patiënten met een HBV-infectie goed te behandelen.

UITGANGSPUNT VAN DE PROCEDURE

De NeuMoDx HBV Quant Assay combineert geautomatiseerde extractie, amplificatie en detectie van DNA door realtime PCR. Voor de bereiding van plasma worden volbloedspecimens verzameld in EDTA-, ACD- of PPT-buisjes voor de bereiding van plasma en/of in SST-buisjes voor de bereiding van serum. Het primaire (gefractioneerde) bloedspecimen of een aliquot deel van plasma/serum in een compatibel secundair specimenbuisje wordt voorzien van een barcode en in het NeuMoDx System geplaatst. Het NeuMoDx System zuigt automatisch een aliquot van het plasma/serum op en mengt dit met NeuMoDx Lysis Buffer 1 en de in de NeuMoDx Extraction Plate opgenomen reagentia om de verwerking in gang te zetten. Het NeuMoDx System automatiseert en integreert extractie en concentratie van DNA, bereiding van reagentia, nucleïnezuuramplificatie/detectie van de beoogde sequenties met behulp van realtime PCR. De geïntegreerde monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC1) dient als hulpmiddel voor het opsporen van remmers en fouten van het systeem, het proces of de reagentia. Zodra het specimen in het NeuMoDx System is geplaatst, zijn er geen handelingen meer nodig door een laborant.

Het NeuMoDx System gebruikt een combinatie van hitte, lytisch enzym en extractiereagentia om automatisch lysis en DNA-extractie uit te voeren en remmende stoffen te verwijderen. De vrijgekomen nucleïnezuuren worden opgevangen door paramagnetische deeltjes. De deeltjes, met gebonden nucleïnezuur, worden geladen in de NeuMoDx Cartridge waar de ongebonden elementen worden weggespoeld met NeuMoDx Wash Reagent. Het gebonden DNA wordt vervolgens geëluëerd met behulp van NeuMoDx Release Reagent. Het NeuMoDx System doordrenkt de bedrijfseigen NeuDry™-amplificatiereagentia met het geëluëerde DNA. Deze reagentia bevatten alle elementen die nodig zijn voor de amplificatie van het HBV- en SPC1-doelwitmateriaal. Zo kunnen zowel de doel- als controle-DNA-sequenties tegelijkertijd worden geamplificeerd en gedetecteerd. Na reconstitutie van de gedroogde PCR-reagentia brengt het NeuMoDx System het bereide PCR-mengsel over naar één PCR-kamer (per specimen) van de NeuMoDx Cartridge. Amplificatie en detectie van de controle- en doelwitsequenties van DNA (indien aanwezig) vinden plaats in de PCR-kamer. De NeuMoDx Cartridge is ontworpen om het amplificaat na PCR te bevatten, waardoor het risico op verontreiniging na amplificatie vrijwel volledig wordt weggenomen.

De geamplificeerde doelen worden realtime gedetecteerd met behulp van hydrolyseprobeverbindingen (meestal aangeduid met TaqMan®-verbindingen) die gebruikmaken van fluorogene, amplificatiespecifieke oligonucleotideprobleemoleculen van hun respectievelijke doelen. TaqMan-probes bestaan uit een fluorofoor die covalent is bevestigd aan het 5'-uiteinde van de oligonucleotideprobe en een quencher die is bevestigd aan het 3'-uiteinde. De fluorofoor en de quencher bevinden zich vlak bij elkaar op de intacte probe, waardoor het quenchermolecuul het fluorescent dat wordt uitgestraald door de fluorofoor kan onderdrukken door middel van Förster-resonantie-energieoverdracht (Förster Resonance Energy Transfer; FRET).

TaqMan-probes zijn zo ontworpen dat ze hybridiseren binnen een DNA-gebied dat is geamplificeerd door een specifieke set primers. Terwijl de Taq-DNA-polymerase de primer verlengt en de nieuwe streng synthetiseert, degradeert de activiteit van de 5'- tot 3'-exonuclease van de Taq-DNA-polymerase de probe die aan de template is gehybridiseerd. Door de degradatie geeft de probe de fluorofoor vrij en wordt de nabijheid met de quencher verbroken, waardoor het dovende effect door middel van FRET wordt doorbroken en detectie van de fluorofoor mogelijk wordt. Het resulterende fluorescente signaal dat wordt gedetecteerd in de kwantitatieve PCR-thermocycler van het NeuMoDx System is recht evenredig aan de vrijgekomen fluorofoor en kan worden gecorreleerd met de hoeveelheid doel-DNA dat aanwezig is.

Er wordt een TaqMan-probe gebruikt die gemerkt is met een fluorofoor (Bekrachtiging: 490 nm en emissie: 521 nm) aan het 5'-uiteinde en een donkere quencher aan het 3'-uiteinde voor het detecteren van HBV-DNA. Voor de detectie van SPC1 is de TaqMan-probe gemerkt met een andere fluorescerende kleurstof (Bekrachtiging: 535 nm en emissie: 556 nm) aan het 5'-uiteinde en een donkere quencher aan het 3'-uiteinde. De software van het NeuMoDx System meet het fluorescentiesignaal dat aan het einde van elke amplificatiecyclus wordt uitgezonden door de TaqMan-probes. Wanneer de amplificatie is voltooid, analyseert de software van het NeuMoDx System de gegevens en geeft het systeem de einduitslag POSITIVE (Positief), NEGATIVE (Negatief), INDETERMINATE (Onbepaald), UNRESOLVED (Onbekend) of NO RESULT (Geen resultaat). Indien een resultaat positief is en de berekende concentratie binnen de grenzen voor kwantificering ligt, geeft de software van het NeuMoDx System ook een kwantitatieve waarde verbonden aan het monster op.

REAGENTIA / VERBRUIKSARTIKELN

Meegeleverde materialen

| REF | Inhoud | Eenheden per verpakking | Tests per eenheid | Tests per verpakking |
|--------|--|-------------------------|-------------------|----------------------|
| 201300 | NeuMoDx HBV Quant Test Strip <i>Gedroogde PCR-reagentia met HBV- en SPC1-specifieke TaqMan-probe en -primers</i> | 6 | 16 | 96 |

Materialen die benodigd zijn, maar niet worden meegeleverd (afzonderlijk verkrijgbaar via NeuMoDx)

| REF | Inhoud |
|------------------|--|
| 100200 | NeuMoDx Extraction Plate <i>Gedroogde paramagnetische deeltjes, lytisch enzym en monsterverwerkingscontroles</i> |
| 800100 of 800102 | NeuMoDx HBV Calibrators <i>Sets met HBV hoge kalibrator en HBV lage kalibrator voor eenmalig gebruik voor het vaststellen van de validiteit van de kalibratiecurve</i> |
| 900101 of 900102 | NeuMoDx HBV External Controls <i>Sets van positieve en negatieve controles voor eenmalig gebruik</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) met filters |
| 235905 | Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (1000 µl) met filters |

Benodigde instrumenten

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



WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

- De NeuMoDx HBV Quant Test Strip is uitsluitend geschikt voor *in-vitro* diagnostisch gebruik in combinatie met NeuMoDx Systems.
- Gebruik de reagentia en de verbruiksartikelen niet na de vermelde houdbaarheidsdatum.
- Gebruik de reagentia niet als de verzegeling is verbroken of als de verpakking bij aankomst is beschadigd.
- Gebruik de verbruiksartikelen of reagentia niet als de beschermhoes bij levering is geopend of beschadigd.
- Er moet een geldige testkalibratie beschikbaar zijn (verkregen door het verwerken van hoge en lage kalibrators uit de set NeuMoDx HBV Calibrators) voordat er testresultaten kunnen worden gegenereerd voor klinische monsters.
- NeuMoDx HBV External Controls moeten om de 24 uur worden verwerkt door het testen met de NeuMoDx HBV Quant Assay.
- Het minimale specimenvolume is afhankelijk van de grootte van het buisje, de specimendrager en de verwerking van het specimenvolume volgens de onderstaande specificaties. Een volume onder het opgegeven minimum kan leiden tot de fout 'Quantity Not Sufficient' (Te weinig volume).
- Het gebruik van specimens die bij ongeschikte temperaturen of langer dan de gespecificeerde opslagtijd zijn bewaard, kan leiden tot ongeldige of foutieve resultaten.
- Voorkom besmetting van reagentia en verbruiksartikelen met microben en deoxyribonuclease (DNase) te allen tijde. Bij het gebruik van secundaire buisjes wordt aanbevolen steriele DNase-vrije wegwerppipetten te gebruiken. Gebruik voor elk specimen een nieuwe pipet.
- Hanteer of demonteer na het amplificatieproces geen NeuMoDx Cartridges om besmetting te voorkomen. Haal onder geen enkele omstandigheid NeuMoDx Cartridges uit de container voor biologisch gevaarlijk afval (NeuMoDx 288 Molecular System) of de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval (NeuMoDx 96 Molecular System). De NeuMoDx Cartridge is ontworpen om besmetting te voorkomen.
- Let goed op dat de NeuMoDx HBV Quant Test Strip, de aanvullende benodigde verbruiksartikelen en reagentia voor de test, de persoonlijke beschermingsuitrusting zoals handschoenen en een laboratoriumjas, en het NeuMoDx System niet worden verontreinigd wanneer er in het laboratorium ook PCR-tests met open buisjes worden uitgevoerd.
- Draag schone, poedervrije handschoenen van nitril bij het hanteren van NeuMoDx-reagentia en -verbruiksartikelen. Let goed op dat u de bovenkant van de NeuMoDx Cartridge, de folielaag van de NeuMoDx HBV Quant Test Strip en de NeuMoDx Extraction Plate of de bovenkant van de NeuMoDx Lysis Buffer 1 niet aanraakt; pak de verbruiksartikelen en reagentia alleen bij de zijanten vast.
- Voor elk reagens zijn veiligheidsinformatiebladen (VIB's) beschikbaar (waar van toepassing) via www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Was uw handen grondig na het uitvoeren van de test.
- Pipetteer niet met de mond. Rook, drink of eet niet in ruimten waarin specimens of reagentia worden verwerkt.
- Behandel specimens altijd alsof ze infectieus zijn en volg procedures voor veilig werken in het laboratorium, zoals beschreven in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁵ en CLSI-document M29-A4.⁶
- Voer ongebruikte reagentia en afval af in overeenstemming met nationale, federale, provinciale en lokale regelgeving.
- Niet hergebruiken.



OPSLAG, HANTERING EN STABILITEIT VAN HET PRODUCT

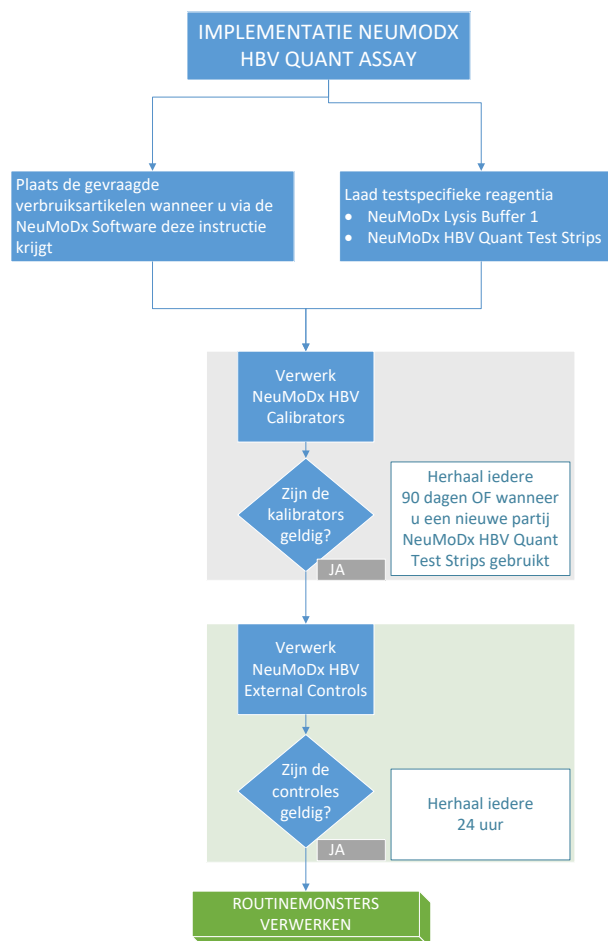
- De NeuMoDx HBV Quant Test Strips blijven in de primaire verpakking tot en met de vermelde uiterste gebruiksdatum op het productetiket stabiel bij 4 tot 28 °C.
- Gebruik verbruiksartikelen en reagentia niet als de uiterste gebruiksdatum is verstreken.
- Gebruik testproducten niet als de binnen- of buitenverpakking zichtbaar is beschadigd.
- Laad testproducten die eerder op een ander NeuMoDx System zijn geladen niet nogmaals.
- Wanneer de NeuMoDx HBV Quant Test Strip geladen is, kan de strip maximaal 62 dagen op het NeuMoDx System blijven. De resterende houdbaarheid van geladen teststrips wordt door de software bijgehouden en direct aan de gebruiker gemeld. Het systeem vraagt de gebruiker om teststrips die na de toegestane periode worden gebruikt te verwijderen.

AFNAME, TRANSPORT EN OPSLAG VAN SPECIMENS

1. Hanteer alle specimens, kalibrators en controles alsof ze infectieuze agentia zouden kunnen overdragen.
2. Vries geen volbloed of specimens in die in primaire buisjes worden bewaard.
3. Voor de bereiding van plasmaspecimens moet er volbloed worden afgenomen in steriele buisjes met EDTA of ACD als antistollingsmiddel. Volg de instructies van de fabrikant van de specimenafnamebuisjes voor bereiding en opslag.

4. Om serumspecimens voor te bereiden, moet volbloed worden verzameld in SST-buisjes. Volg de instructies van de fabrikant van de specimenafnamebuisjes voor bereiding en opslag.
5. Specimens kunnen worden getest in primaire afnamebuisjes of secundaire specimenbuisjes. Aanbevolen voor testen met primaire buisjes:
 - a. Plasmaspecimens: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD #368589) of BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
 - b. Serumspecimens: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD #367820) of BD Vacutainer SST™ Tube (BD #367988).
6. Bereide specimens kunnen voorafgaand aan verwerking gedurende maximaal 8 uur voor plasma en 24 uur voor serum in het NeuMoDx System worden bewaard. Als bijkomende opslagtijd vereist is, wordt aanbevolen dat de specimens worden gekoeld of bevroren als secundaire aliquots.
7. Bewaar bereide specimens voorafgaand aan het testen maximaal 7 dagen bij 2 tot 8 °C en maximaal 8 uur voor plasma en 24 uur voor serum bij kamertemperatuur.
8. Bereide specimens kunnen voorafgaand aan verwerking maximaal 4 weken (serum) of 6 maanden (plasma) worden bewaard bij een temperatuur van ≤ -20 °C; bevroren specimens dienen niet aan meer dan 2 cycli van invriezen/ontdooien voor plasma en 4 cycli voor serum te worden onderworpen voorafgaand aan gebruik.
 - a. Als de monsters bevroren zijn, laat u ze bij kamertemperatuur (15 °C-30 °C) volledig ontdooien; vortex om een gelijkmatig verdeeld monster te verkrijgen.
 - b. Zodra de bevroren monsters ontdooid zijn, dienen de tests binnen 24 uur te worden uitgevoerd.
 - c. Het bevriezen van plasma/serum in primaire afnamebuisjes wordt niet aanbevolen.
9. Als specimens worden verzonden, moeten ze worden verpakt en gelabeld conform de toepasselijke landelijke en/of internationale regelgeving.
10. Label de specimens duidelijk en geef aan dat de specimens moeten worden getest op HBV.
11. Ga verder met de instructies in de paragraaf *Testvoorbereiding*.

Het volledige implementatieproces van de NeuMoDx HBV Quant Assay is hieronder samengevat in *afbeelding 1*.



Afbeelding 1: Workflow voor de toepassing van de NeuMoDx HBV Quant Assay

GEBRUIKSHANDLEIDING

Testvoorbereiding

De NeuMoDx HBV Quant Assay kan rechtstreeks worden uitgevoerd met primaire bloedafnamebuisjes of met specimenaliquots in secundaire buisjes. De verwerking kan worden uitgevoerd met één van twee workflows voor verwerking van specimenvolumes: workflow specimenvolume 550 µl of workflow specimenverwerking 200 µl. Breng het barcodelabel voor het specimen aan op een specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx System.

1. Breng het barcodelabel voor het specimen aan op een specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx System. Het primaire bloedafnamebuisje kan worden gelabeld en direct op de specimenbuisjesdrager voor 32 buisjes worden geplaatst, na centrifugatie volgens de richtlijnen van de fabrikant. U kunt ook een aliquot van het plasma/serum naar een tweede buisje overbrengen om in het NeuMoDx System te verwerken.
2. Als u het specimen in het primaire afnamebuisje test, plaatst u het buisje met barcode in een specimenbuisjesdrager. Zorg er daarbij voor dat de dop is verwijderd alvorens het buisje op het NeuMoDx System te laden. De minimale volumes **boven** gel/buffy-laag worden hieronder gedefinieerd en er is aan voldaan indien specimens worden verzameld en verwerkt volgens de instructies van de fabrikant van de buisjes. De prestaties worden niet gegarandeerd voor verkeerd verzamelde specimens.

| Type buisje | Minimaal vereist specimenvolume | |
|-------------------------------------|---------------------------------|-----------------|
| | Workflow 550 µl | Workflow 200 µl |
| 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. Als u een secundair buisje gebruikt, brengt u een aliquot van plasma/serum over naar een specimenbuisje dat voorzien is van een barcode en dat compatibel is met het NeuMoDx System (zie hieronder voor het juiste volume):

| Specimenbuisjesdrager | Grootte buisje | Minimaal vereist specimenvolume | |
|--|---|---------------------------------|-----------------|
| | | Workflow 550 µl | Workflow 200 µl |
| 32-Tube Specimen Tube Carrier (Specimenbuisjesdrager voor 32 buisjes) | Diameter 11-14 mm met hoogte 60-120 mm | 700 µl | 400 µl |
| 24-Tube Specimen Tube Carrier (Specimenbuisjesdrager voor 24 buisjes) | Diameter 14,5-18 mm met hoogte 60-120 mm | 1100 µl | 800 µl |
| Low Volume Specimen Tube Carrier (Specimenbuisjesdrager met laag volume) | Microcentrifugebuisje van 1,5 ml met conische bodem | 650 µl | 300 µl |

Bediening van NeuMoDx Systems

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288 en NeuMoDx 96 Molecular Systems (O/N 40600108 en 40600317) voor gedetailleerde instructies

1. Laad de testopdracht op het NeuMoDx System aan de hand van de gewenste workflow voor verwerking van specimenvolume en het gewenste type specimenbuisje:
 - specimenvolume van 550 µl wordt getest door het specimentype te definiëren als '**Plasma**' of '**Serum**'
 - specimenvolume van 200 µl wordt getest door het specimentype te definiëren als '**Plasma2**' of '**Serum2**'
 - Indien niet gedefinieerd in de testopdracht, wordt het specimentype **Plasma** in een **Secondary Tube** (Secundair buisje) als standaard gebruikt
2. Vul een of meer teststripdragers van het NeuMoDx System met NeuMoDx HBV Quant Test Strip(s) en laad de teststripdrager(s) met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System.
3. Plaats de benodigde verbruiksartikelen in de betreffende dragers van het NeuMoDx System als de software van het NeuMoDx System dat aangeeft. Laad de dragers voor verbruiksartikelen vervolgens met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System.
4. Vervang het NeuMoDx Wash Reagent en het NeuMoDx Release Reagent en leeg het primerafval en de container voor biologisch gevaarlijk afval (alleen NeuMoDx 288 Molecular System), de bak voor tipafval (alleen NeuMoDx 96 Molecular System) of de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval (alleen NeuMoDx 96 Molecular System) als u de instructie hiervoor krijgt op het scherm van de NeuMoDx System-software.
5. Verwerk de NeuMoDx HBV Calibrators en/of NeuMoDx HBV External Controls als u de instructie hiervoor krijgt via de software van het NeuMoDx System. Meer informatie over kalibrators en controles vindt u terug in de paragraaf *Resultaten verwerken*.
6. Plaats de specimen-/kalibrator-/controlebuisjes in een specimenbuisjesdrager en controleer of alle dopjes van de buisjes zijn verwijderd.
7. Plaats de specimenbuisjesdrager(s) in het autoladerrek en plaats de drager(s) met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System. Omdat er een geldige testopdracht in het systeem aanwezig is, wordt hierdoor de verwerking van de geladen specimen voor de aangegeven tests gestart.

BEPERKINGEN

1. De NeuMoDx HBV Quant Test Strip kan alleen in NeuMoDx Systems worden gebruikt.
2. De prestaties van de NeuMoDx HBV Quant Test Strip zijn vastgesteld voor plasmaspecimens die bereid zijn met EDTA/ACD als antistollingsmiddelen en voor serumspecimens die in serumscheidingsbuisjes zijn bereid. Het gebruik van de NeuMoDx HBV Quant Test Strip met andere bronnen is niet beoordeeld en de prestatiekenmerken voor andere soorten specimen zijn onbekend.
3. De prestaties van de NeuMoDx HBV Quant Test Strip zijn vastgelegd voor testen met primaire buisjes met behulp van BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tubes, BD Vacutainer PPT Plasma Preparation Tube, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube en BD Vacutainer SST Tube.
4. Een kleine toename van de detectielimiet en ondergrens voor kwantificering van de NeuMoDx HBV Quant Assay werd waargenomen bij gebruik van de workflow voor specimenvolume van 200 µl.
5. De NeuMoDx HBV Quant Assay wordt alleen gebruikt voor kwantitatieve monitoring. Hij is niet bestemd voor kwalitatieve detectie.
6. De NeuMoDx HBV Quant Assay mag niet worden gebruikt met monsters van gehepariniseerde mensen.
7. Aangezien de detectie van HBV afhankelijk is van het aantal deeltjes van doelwit-DNA dat in het monster aanwezig is, zijn betrouwbare resultaten afhankelijk van de manier waarop specimen worden afgenomen, behandeld en bewaard.
8. De NeuMoDx HBV Calibrators en NeuMoDx HBV External Controls moeten worden verwerkt zoals aanbevolen in de bijsluiters, wanneer de software van het NeuMoDx System daarom vraagt, voordat routinematige klinische monsters worden verwerkt.
9. Foutieve resultaten kunnen worden veroorzaakt door onjuiste afname, hantering of opslag van specimen, technische fouten of het door elkaar halen van specimenbuisjes. Bovendien kunnen foutnegatieve resultaten zich voordoen wanneer het aantal virusdeeltjes in het monster lager is dan de detectielimiet van de NeuMoDx HBV Quant Assay.
10. Het bedienen van het NeuMoDx System mag alleen worden uitgevoerd door medewerkers die zijn getraind in het gebruik van het NeuMoDx System.
11. Als zowel het HBV-doelmateriaal als het SPC1-doelmateriaal niet amplificeren, wordt er een ongeldig resultaat (Indeterminate (Onbepaald), No Result (Geen resultaat) of Unresolved (Onbekend)) gerapporteerd en moet de test worden herhaald.
12. Als het resultaat van de NeuMoDx HBV Quant Assay Positief (Positief) is, maar de kwantificeringswaarde niet binnen het kwantificeringsbereik ligt, geeft het NeuMoDx System aan of de gedetecteerde HBV-waarde *lager* dan de ondergrens voor kwantificering (Lower Limit of Quantitation; LLOQ) was of *hoger* dan de bovengrens voor kwantificering (Upper Limit of Quantitation; ULQ).
13. Als de gedetecteerde HBV-waarde *lager* dan de LLOQ was, kan de assay (indien gewenst) met een ander aliquot van het specimen worden herhaald.

14. Als de gedetecteerde HBV-waarde hoger dan de ULoQ was, kan de NeuMoDx HBV Quant Assay worden herhaald met een verdund aliquot deel van het oorspronkelijke specimen. Een verdunning van 1:1000 in HBV-negatief plasma of Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA, VS) wordt aanbevolen. De concentratie van het oorspronkelijke specimen kan als volgt worden berekend:

$$\text{oorspronkelijke specimenconcentratie} = \log_{10}(\text{verdunningsfactor}) + \text{gerapporteerde concentratie van het verdunde monster}$$

15. De incidentele aanwezigheid van PCR-remmers in plasma kan resulteren in een kwantificeringsfout van het systeem. Als dat gebeurt, wordt aanbevolen om de test te herhalen met hetzelfde specimen, verdund in Basematrix in een verhouding van 1:10 of 1:100.
16. Een positief resultaat is niet altijd een indicatie voor de aanwezigheid van levende organismen. Een positief resultaat doet echter wel het vermoeden rijzen dat er DNA van hepatitis B-virus aanwezig is.
17. Verwijdering of mutaties in de geconserveerde gebieden waar de NeuMoDx HBV Quant Assay zich op richt, kunnen gevolgen hebben voor de detectie of kunnen tot een foutief resultaat leiden bij gebruik van de NeuMoDx HBV Quant Test Strip.
18. De resultaten van de NeuMoDx HBV Quant Assay moeten door de arts worden beschouwd als aanvulling op klinische observaties en overige beschikbare informatie. De assay is niet bedoeld voor het diagnosticeren van de infectie.
19. Gebruik de goede laboratoriumpraktijken, zoals het aantrekken van nieuwe handschoenen bij het hanteren van specimen van verschillende patiënten, om besmetting te voorkomen.

RESULTATEN VERWERKEN

Beschikbare resultaten kunnen worden bekeken of afgedrukt vanuit het tabblad 'Results' (Resultaten) in het venster Results (Resultaten) op het aanraakscherm van het NeuMoDx System. De resultaten van de NeuMoDx HBV Quant Assay worden automatisch gegenereerd door de software van het NeuMoDx System, dat gebruikmaakt van het beslissingsalgoritme en de resultaatverwerkingsparameters die in het NeuMoDx Quant HBV-assaydefinitiebestand (HBV ADF) worden vermeld. Een resultaat kan worden gerapporteerd als Negative (Negatief), Positive (Positief) met een gerapporteerde HBV-concentratie, Positive (Positief) boven ULoQ, Positive (Positief) onder LLoQ, Indeterminate (Onbepaald; IND), Unresolved (Onbekend; UNR) of No Result (Geen resultaat; NR), afhankelijk van de amplificatiestatus van het doelmateriaal en de monsterverwerkingscontrole. Resultaten worden gerapporteerd op basis van het ADF-beslissingsalgoritme, volgens het overzicht in de onderstaande tabel 1.

Tabel 1: Overzicht van het beslissingsalgoritme van de HBV Quant Assay

| RESULTAAT | HBV-doelwit | Monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control; SPC1) | Interpretatie van het resultaat |
|--|--|---|---|
| Positive (Positief) met gerapporteerde concentratie | Amplified (Geamplificeerd) $0,9 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (workflow 550 μl) $1,4 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (workflow 200 μl) | Amplified (Geamplificeerd) of Not Amplified (Niet geamplificeerd) | HBV-DNA gedetecteerd binnen kwantitatief bereik |
| Positive (Positief), boven ULoQ | Amplified (Geamplificeerd) $[\text{HBV}] > 9,0 \log_{10} \text{ IE/ml}$ | Amplified (Geamplificeerd) of Not Amplified (Niet geamplificeerd) | HBV-DNA gedetecteerd boven kwantitatief bereik |
| Positive (Positief), onder LLoQ | Amplified (Geamplificeerd) $[\text{HBV}] < 0,9 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (workflow 550 μl) $[\text{HBV}] < 1,4 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (workflow 200 μl) | Amplified (Geamplificeerd) of Not Amplified (Niet geamplificeerd) | HBV-DNA gedetecteerd onder kwantitatief bereik |
| Negative (Negatief) | Not Amplified (Niet geamplificeerd) | Amplified (Geamplificeerd) | HBV-DNA niet gedetecteerd |
| Indeterminate (Onbepaald) | Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Niet geamplificeerd, Systeemfout gedetecteerd, Monsterverwerking voltooid) | | Alle doelresultaten waren ongeldig; test het monster opnieuw† |
| No Result* (Geen resultaat) | Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Niet geamplificeerd, Systeemfout gedetecteerd, Monsterverwerking afgebroken) | | Verwerking van het monster werd afgebroken; test het monster opnieuw† |
| Unresolved (Onbekend) | Not amplified, No System Error Detected (Niet geamplificeerd, Geen systeemfout gedetecteerd) | | Alle doelresultaten waren ongeldig; test het monster opnieuw† |

*Melding No Result (Geen resultaat) wordt alleen weergegeven in NeuMoDx System-softwareversie 1.8 en hoger

†Het NeuMoDx System is uitgerust met een functie voor automatische Rerun (Opnieuw uitvoeren)/Repeat (Herhalen) die de eindgebruiker kan gebruiken om ervoor te zorgen dat een IND (Onbepaald)/UNR (Onbekend)/NR (Geen resultaat) resultaat automatisch opnieuw wordt verwerkt om vertragingen in de resultaatrapportage zoveel mogelijk te beperken.

Testberekening

1. Voor monsters binnen het kwantificeringsbereik van de NeuMoDx HBV Quant Assay wordt de concentratie HBV-DNA in de monsters berekend met behulp van de opgeslagen standaardcurve in combinatie met de kalibratiecoëfficiënt en het specimenvolume.
 - a. Een kalibratiecoëfficiënt wordt berekend op basis van de resultaten van de NeuMoDx HBV Calibrators die zijn verwerkt om de validiteit van de standaardcurve vast te stellen voor een specifieke partij NeuMoDx HBV Quant Test Strips met een specifiek NeuMoDx System.
 - b. De kalibratiecoëfficiënt wordt mee opgenomen in de uiteindelijke bepaling van de concentratie HBV-DNA.
 - c. De NeuMoDx Software houdt rekening met het specimeninvoervolume bij bepaling van de concentratie van HBV-DNA per ml specimen.
2. De resultaten van de NeuMoDx HBV Quant Assay worden gerapporteerd in \log_{10} IE/ml.
3. De resulterende kwantificering van de onbekende monsters is herleidbaar tot de 4^e internationale norm voor HBV van de WHO.

Testkalibratie

Om HBV-DNA in de specimens te kunnen kwantificeren, moet er een geldige kalibratie worden uitgevoerd op basis van de standaardcurve. Om geldige testresultaten te genereren, moet er een testkalibratie worden uitgevoerd met behulp van door NeuMoDx Molecular, Inc. geleverde externe kalibrators.

Kalibrators

1. Er moet telkens een set NeuMoDx HBV Calibrators worden verwerkt bij elke nieuwe partij NeuMoDx HBV Quant Test Strips wanneer er een nieuw HBV Quant -assaydefinitiebestand naar het NeuMoDx System wordt geüpload, wanneer de validiteitsperiode van de huidige set kalibrators is verstreken (momenteel ingesteld op 90 dagen) of wanneer de software van het NeuMoDx System wordt gewijzigd.
2. De software van het NeuMoDx System geeft een melding weer wanneer kalibrators moeten worden verwerkt. Er kan geen nieuwe partij teststrips worden gebruikt voor het uitvoeren van tests voordat de kalibrators met succes zijn verwerkt.
3. De kalibratievaliditeit wordt als volgt vastgesteld:
 - a) Er moet een set van twee kalibrators, één (1) hoge en één (1) lage, worden verwerkt om de validiteit vast te stellen.
 - b) Ten minste twee (2) van de drie (3) replica's moeten resultaten opleveren die zich binnen de vooraf gedefinieerde parameters bevinden. Het nominale doelwit voor de lage kalibrator is $3,7 \log_{10}$ IE/ml en het nominale doelwit voor de hoge kalibrator is $5,7 \log_{10}$ IE/ml.
 - c) Een kalibratiecoëfficiënt wordt berekend om rekening te houden met de verwachte variatie tussen partijen teststrips. Deze kalibratiecoëfficiënt wordt gebruikt om de HBV-eindconcentratie te bepalen.
4. Als één of beide kalibrators ongeldig worden verklaard, verwerkt u de ongeldige kalibrator(s) opnieuw met een nieuwe flacon. Als één kalibrator de validiteitstest niet heeft doorstaan, kunt u de test ook alleen met de gefaalde kalibrator herhalen, omdat het niet vereist is dat de gebruiker beide kalibrators opnieuw test.
5. Als de kalibrator(s) na elkaar ongeldig worden verklaard, neemt u contact op met NeuMoDx Molecular, Inc.

Kwaliteitscontrole

Lokale regelgeving stelt meestal dat het laboratorium verantwoordelijk is voor controleprocedures om de nauwkeurigheid en precisie van het gehele analyseproces te bewaken. Ook moet zij het aantal, type en de frequentie van testcontrolemiddelen vaststellen met behulp van geverifieerde werkingsspecificaties voor een niet-gemodificeerd, goedgekeurd testsysteem.

Externe controles

1. Positieve en negatieve externe controles moeten om de 24 uur worden verwerkt door het testen met de NeuMoDx HBV Quant Assay. Als er geen set met geldige externe controleresultaten bestaat, attendeert de software van het NeuMoDx System de gebruiker erop dat controles moeten worden verwerkt voordat monsterresultaten kunnen worden gerapporteerd.
2. De validiteit van externe controles wordt door het NeuMoDx System beoordeeld op basis van het verwachte resultaat. De positieve controle dient een HBV-positief resultaat op te leveren en de negatieve controle een HBV-negatief resultaat.
3. In geval van afwijkende resultaten bij externe controles doet u het volgende:
 - a) Een Positive (Positief) testresultaat dat wordt gerapporteerd voor een negatieve-controlemonster duidt op besmetting van het specimen.
 - b) Een Negative (Negatief) testresultaat dat wordt gerapporteerd voor een positieve-controlemonster kan erop wijzen dat er een probleem is met reagentia of het instrument.

- c) In beide bovengenoemde gevallen of bij een Indeterminate (Onbepaald; IND) resultaat of No Result (Geen resultaat; NR) herhaalt u de NeuMoDx HBV External Controls met nieuwe flacons van de controle(s) die de validiteitstest niet heeft (hebben) doorstaan.
- d) Als de positieve NeuMoDx HBV External Control een Negative (Negatief) resultaat blijft opleveren, neemt u contact op met de technische service van NeuMoDx.
- e) Als de negatieve NeuMoDx HBV External Control een Positive (Positief) resultaat blijft opleveren, probeert u alle mogelijke besmettingsbronnen te verwijderen, onder meer door alle reagentia te vervangen. Neem contact op met de technische service van NeuMoDx als het probleem aanhoudt.

(Interne) monsterverwerkingscontroles

In de NeuMoDx Extraction Plate is een exogene monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC1) opgenomen, die met elk monster het gehele proces van nucleïnezuurextractie en realtime PCR-amplificatie ondergaat. SPC1-specifieke primers en -probe zijn ook opgenomen in elke NeuMoDx HBV Quant Test Strip, waardoor de detectie van SPC1 en het doelwit-HBV-DNA (indien aanwezig) mogelijk is via multiplexe PCR. Detectie van SPC1-amplificatie zorgt ervoor dat de software van het NeuMoDx System de doeltreffendheid van de DNA-extractie en PCR-amplificatieprocessen kan monitoren.

Ongeldige resultaten

Als een NeuMoDx HBV Quant Assay die met het NeuMoDx System is uitgevoerd geen geldig resultaat oplevert na afloop van de monsterverwerking, wordt dit gerapporteerd als Indeterminate (Onbepaald; IND), No Result (Geen resultaat; NR) of Unresolved (Onbekend; UNR), afhankelijk van de fout die is opgetreden.

Een IND-resultaat wordt gerapporteerd als er een fout wordt gedetecteerd in het NeuMoDx System tijdens de verwerking van het monster. Wanneer een IND-resultaat wordt gerapporteerd, wordt aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren.

Een resultaat wordt gerapporteerd als UNR (Onbekend) als er geen geldige amplificatie van HBV-DNA of de SPC1 is gedetecteerd in afwezigheid van systeemfouten. Dit wijst mogelijk op een reagensdefect of de aanwezigheid van remmers. Wanneer een resultaat met UNR (Onbekend) wordt gerapporteerd, wordt in eerste instantie aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren. Als deze test ook een ongeldig resultaat oplevert, kan specimenverdunding worden gebruikt om de effecten van mogelijke monsterremming te verminderen.

Indien een NeuMoDx HBV Quant Assay uitgevoerd in het NeuMoDx System geen geldig resultaat produceert en de monsterverwerking voortijdig wordt afgebroken, wordt dit gemeld als No Result (Geen resultaat; NR). Wanneer een NR wordt gerapporteerd, wordt aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren.

PRESTATIEKENMERKEN

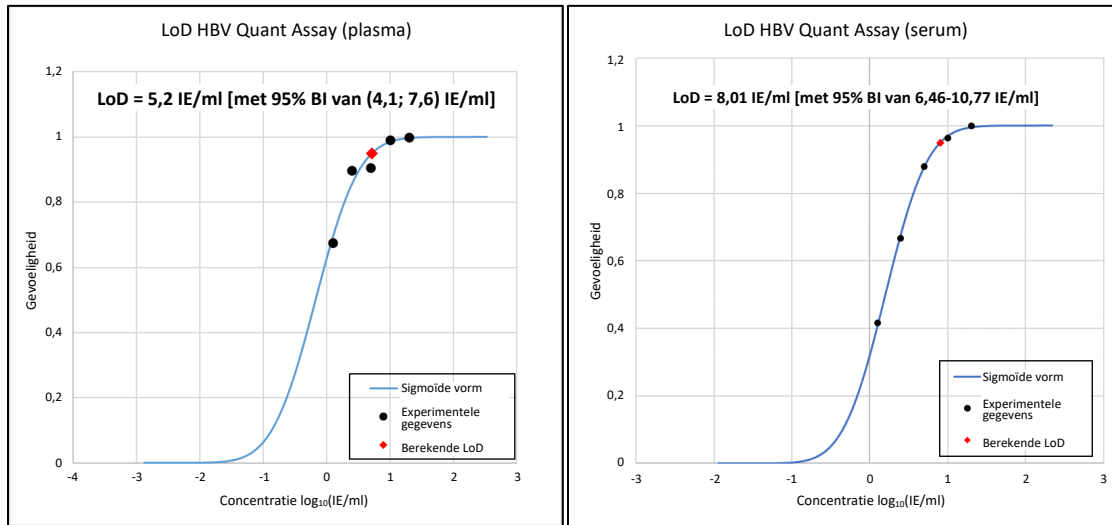
Analytische gevoeligheid – Detectielimiet op basis van de WHO-norm

De analytische gevoeligheid van de NeuMoDx HBV Quant Assay werd gekenmerkt door het testen van negatieve specimen en een verdunde reeks van de 4^e internationale norm van de WHO in gescreend negatief menselijk plasma en serum om de detectielimiet (Limit of Detection; LoD) op de NeuMoDx Systems te bepalen. De LoD werd bepaald als het laagste doelniveau waarbij 95% werd gedetecteerd, zoals vastgesteld met een probitanalyse. De studies werden uitgevoerd over een periode van 3 dagen, met meerdere NeuMoDx Systems en met meerdere partijen NeuMoDx-reagentia. Een aanvullende studie werd uitgevoerd om de LoD van de NeuMoDx HBV Quant Assay te bepalen wanneer de workflow met specimenvolume van 200 µl wordt gebruikt. De detectiepercentages van beide studies worden weergegeven in *tabel 2*.

Tabel 2: Positieve detectiepercentages voor de bepaling van de LoD van de NeuMoDx HBV Quant Assay

| | Doelwitconcentratie [IE/ml] | Doelwitconcentratie [\log_{10} IE/ml] | PLASMA | | | SERUM | | |
|---------------|-----------------------------|--|----------------------|------------------|--------------------|----------------------|------------------|--------------------|
| | | | Aantal geldige tests | Aantal positieve | Detectiepercentage | Aantal geldige tests | Aantal positieve | Detectiepercentage |
| 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 | N.v.t. | 108 | 0 | 0% | 107 | 0 | 0% |
| 200 µl | 25 | 1,40 | 43 | 43 | 100% | 44 | 44 | 100% |

De LoD van de NeuMoDx HBV Quant Assay voor HBV Genotype A (4^e internationale norm van de WHO) in plasma is vastgesteld op 5,2 IE/ml (95% BI 4,1-7,6 IE/ml) [(0,72 \log_{10} IE/ml) (95% BI 0,61-0,88 \log_{10} IE/ml)] met behulp van de workflow voor specimenvolume van 550 µl (*afbeelding 2*). De LoD van de NeuMoDx HBV Quant Assay voor serumspecimens is vastgesteld op 8,0 IE/ml (95% BI 6,5-10,8 IE/ml) [(0,9 \log_{10} IE/ml) (95% BI 0,8-1,0 \log_{10} IE/ml)] met behulp van de workflow voor specimenvolume van 550 µl (*afbeelding 2*).



Afbeelding 2: Probitanalyse die werd gebruikt om de LoD van de NeuMoDx HBV Quant Assay te bepalen, voor plasma (links) en serum (rechts)

Analytische gevoeligheid – Kwantificeringslimiet – Ondergrens voor kwantificering (Lower Limit of Quantitation; LLoQ) volgens de WHO-norm

De ondergrens voor kwantificering (Lower Limit of Quantitation; LLoQ) is vastgesteld als de laagste doelconcentratie waarbij er een detectie is van > 95% EN een TAE van $\leq 1,0$. Om de LLoQ te bepalen, werd de totale analytische fout (Total Analytical Error; TAE) berekend voor elke HBV-doelconcentratie waarbij er een detectie van > 95% werd gerapporteerd als onderdeel van de LoD-berekening. TAE wordt als volgt gedefinieerd:

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

De vertekening is de absolute waarde van het verschil tussen het gemiddelde van de berekende concentratie en de verwachte concentratie. SD verwijst naar de standaardafwijking (Standard Deviation) van de gekwantificeerde waarde van het monster.

De verzamelde resultaten voor de 5 niveaus van HBV-specimens gebruikt in het LLoQ-onderzoek met behulp van de 4^e internationale norm van de WHO worden weergegeven in *tabel 3*. De LLoQ voor de 4^e internationale norm van de WHO in plasma met behulp van de NeuMoDx HBV Quant Assay (workflow voor specimenvolume van 550 μ l) is vastgesteld op 5,5 IE/ml (0,74 \log_{10} IE/ml). Een afzonderlijke studie werd uitgevoerd om de LLoQ te bevestigen bij gebruik van de workflow voor specimenvolume van 200 μ l, en deze resultaten tonen een LLoQ van 25 IE/ml aan, welke eveneens wordt weergegeven in *tabel 3*.

De LLoQ van de NeuMoDx HBV Quant Assay voor serumspecimens werd vastgesteld op 6,0 IE/ml met behulp van de workflow voor specimenvolume van 550 μ l, en 25 IE/ml voor de workflow voor specimenvolume met laag volume (200 μ l), zoals weergegeven in *tabel 3*.

Tabel 3: LLoQ NeuMoDx HBV Quant Assay, met vertekening en TAE

| | Doelconc. [IE/ml] | Doelconc. [\log_{10} IE/ml] | Plasma | | | | | Serum | | | | |
|-------------|-------------------|--------------------------------|---------------------------------------|--------------|------|-------------|------|---------------------------------------|--------------|------|-------------|------|
| | | | Gemiddelde conc. [\log_{10} IE/ml] | Detectie (%) | SD | Vertekening | TAE | Gemiddelde conc. [\log_{10} IE/ml] | Detectie (%) | SD | Vertekening | 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 |

Analytische gevoeligheid - LoD en LLoQ over HBV-genotypes

De LoD werd eerst vastgesteld voor genotype A (4^e internationale norm van de WHO). Daarna werden er aanvullende tests uitgevoerd naar de vastgestelde LoD voor elk van de andere 7 genotypes. Er werden zesendertig (36) replica's getest met concentraties die overeenkwamen met 2X, 1X en 0,5X van de bovengrens van de LoD (~7 IE/ml) (95% BI) met behulp van de NeuMoDx HBV Quant Assay met plasma met behulp van de workflow voor specimenvolume van 550 µl. De positieve detectiepercentages voor elk genotype bij elk van deze geteste concentraties werden in een tabel genoteerd en gebruikt om met een probitanalyse de LoD te berekenen.

De totale analytische fout bij deze geteste niveaus werd ook berekend. Het laagste niveau met 95% positieve detectie en berekende TAE van ≤ 1,0 werd opnieuw beschouwd als de LLoQ voor het genotype. Bij alle genotypen was de detectielimiet van de NeuMoDx HBV Quant Assay voor plasmaspecimens met de workflow voor specimenvolume van 550 µl vastgesteld op 6,2 IE/ml (0,79 log₁₀ IE/ml) en was de LLoQ vastgesteld op 7,6 IE/ml (0,88 log₁₀ IE/ml), zoals aangegeven in *tabel 4*.

Tabel 4. HBV-genotypen getest in plasma met behulp van workflow voor specimenvolume van 550 µl

| 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 |

Op basis van de uitkomsten van deze onderzoeken claimt NeuMoDx een **LoD en LLoQ van 25 IE/ml (1,4 log₁₀ IE/ml)** voor de NeuMoDx HBV Quant Assay in *plasma en serum* met gebruik van de **workflow voor specimenvolume van 200 µl**.

NeuMoDx claimt een **LoD en LLoQ van 8,0 IE/ml (0,9 log₁₀ IE/ml)** voor de NeuMoDx HBV Quant Assay in *plasma en serum* met gebruik van de **workflow voor specimenvolume van 550 µl**.

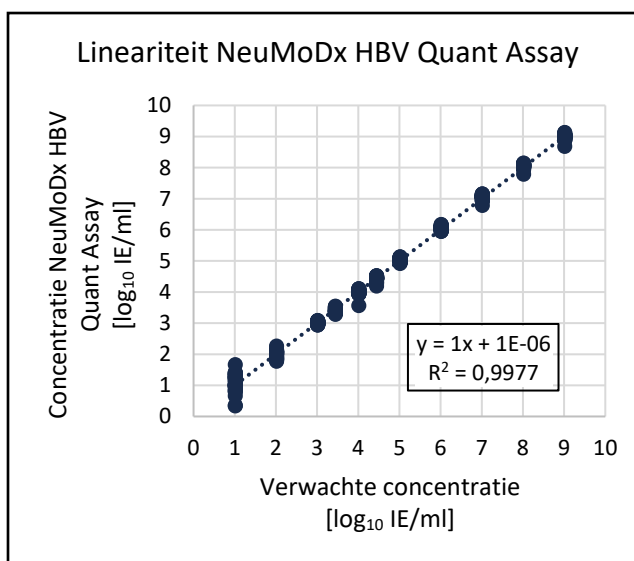
Analytische gevoeligheid – Lineariteit en het bepalen van de bovengrens voor kwantificering (Upper Limit of Quantitation; ULoQ)

De lineariteit en de bovengrens voor kwantificering (Upper Limit of Quantitation; ULoQ) van de NeuMoDx HBV Quant Assay werden in plasma vastgesteld door een reeks verdunningen te bereiden met hoog-positief HBV klinisch monster (Access Biologicals, Vista, CA) met een vastgestelde herleidbaarheid naar de 4^e internationale norm van de WHO. Er werd een 11-ledenpanel bereid in gebundeld HBV-negatief plasma om een testpanel te creëren met een concentratiebereik van 9,02-1,02 log₁₀ IE/ml. Het testpanel werd verwerkt met 6 replica's op elk niveau over 2 NeuMoDx Systems en 3 partijen hoofdreagentia. Er werd aangetoond dat de NeuMoDx HBV Quant Assay in staat was HBV te kwantificeren over het 8 log₁₀ lineaire bereik (inclusief kritische medische beslissingspunten) met een afwijking van ± 0,22 log₁₀ IE/ml. Er werd geen significant voordeel behaald met het gebruik van de regressie-analyse van de 2^e en 3^e orde. De ULoQ werd volgens de gegevens uit dit onderzoek vastgesteld op 9,02 log₁₀ IE/ml [*tabel 5 en afbeelding 3*].

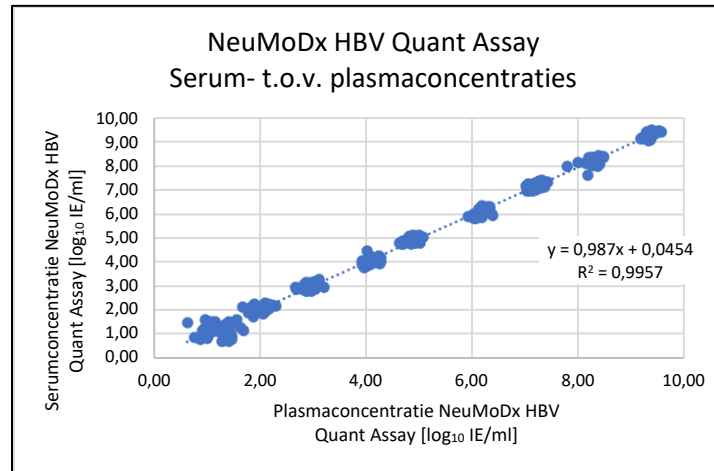
Tabel 5: Lineariteit van de NeuMoDx HBV Quant Assay (geëvalueerd met genotype A)

| Doelconc. (IE/ml) | Doelconc. (log ₁₀ IE/ml) | Gemiddelde conc. (log ₁₀ IE/ml) | Standaarddeviatie | Vertekening | Voorspelde lineaire fitting | Afwijking van niet-lineaire fitting |
|-------------------|-------------------------------------|--|-------------------|-------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| 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 |

*Bijna-kritieke medische beslissingspunten.

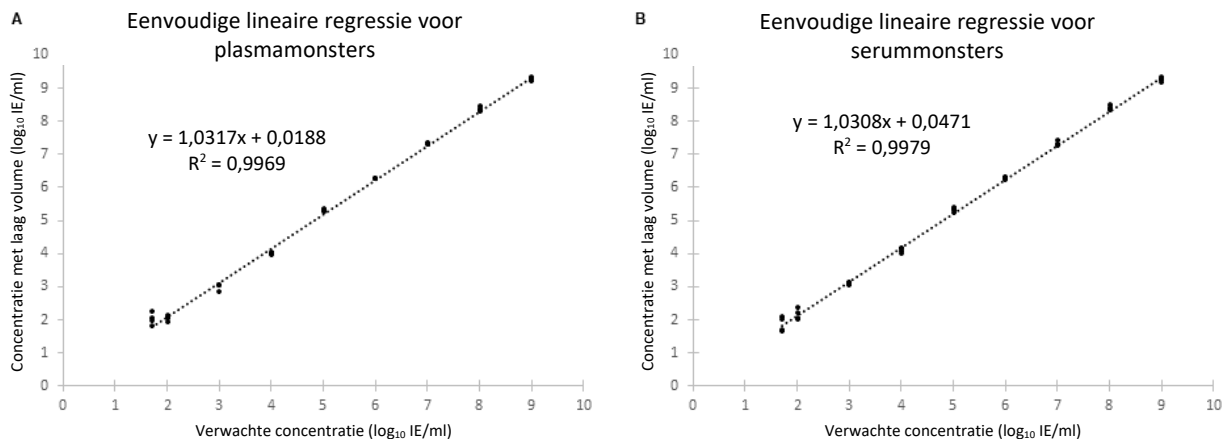

Afbeelding 3: Lineair bereik van de NeuMoDx HBV Quant Assay in plasma

Er werd aanvullend onderzoek uitgevoerd om matrixequivalentie aan te tonen. Bij deze analyse werden de kwantitatieve resultaten van de NeuMoDx HBV voor in plasma en serum bereide monsters vergeleken met behulp van twee verschillende regressieanalysemodellen, waaronder de MS Excel-regressietool en de Passing-Bablok-regressieanalyse. De resultaten duiden op een sterke correlatie die werd weergegeven door hellings- en interceptwaarden die erg dicht bij de respectievelijk 1,00 en 0,00 lagen en een R²-waarde van 0,99 (MS Excel-regressietool) of een p-waarde van 0,270 (Passing-Bablok-regressieanalyse). De concentraties van de HBV-assay gerapporteerd door het NeuMoDx System voor de plasmamatrix vergeleken met overeenkomstige serummonsters worden voorgesteld in *afbeelding 4*.



Afbeelding 4: Lineair bereik van de NeuMoDx HBV Quant Assay tussen matrices

De lineariteit en ULOQ werden dan bevestigd voor de workflow met specimenvolume van 200 µl over een bereik van 9,31-1,71 log₁₀ IE/ml. De equivalenties werden vergeleken tussen de concentraties gerapporteerd door de NeuMoDx Software voor de workflows van 200 µl en 550 µl. De regressieanalyse van Deming en Passing-Bablok toonde een uitstekende correlatie, helling dicht bij 1 en minimale intercepts (vertekening) van de gerapporteerde concentraties voor zowel plasma- als serummonsters over het lineaire bereik. Een Bland-Altman-vergelijking van de gerapporteerde concentratie voor de workflow met specimenvolume van 200 µl met de gemiddelde gerapporteerde concentratie voor de workflows met specimenvolume van 200 µl en 550 µl toonde minimale vertekening, wat nauwkeurigheid toekent aan het algoritme gebruikt om resultaten van de workflow van 200 µl te genereren. Bovendien had een eenvoudige lineaire regressie waarbij de verwachte concentratie werd vergeleken met de gerapporteerde concentratie voor de workflow van 200 µl een helling dicht bij 1, wat wijst op een uitstekende correlatie [afbeelding 5]. Samen genomen vormen deze vergelijkingen het bewijs van een nauwkeurige kwantificering van HBV over het lineaire bereik van de NeuMoDx HBV Quant Assay met behulp van de workflow met specimenvolume van 200 µl.



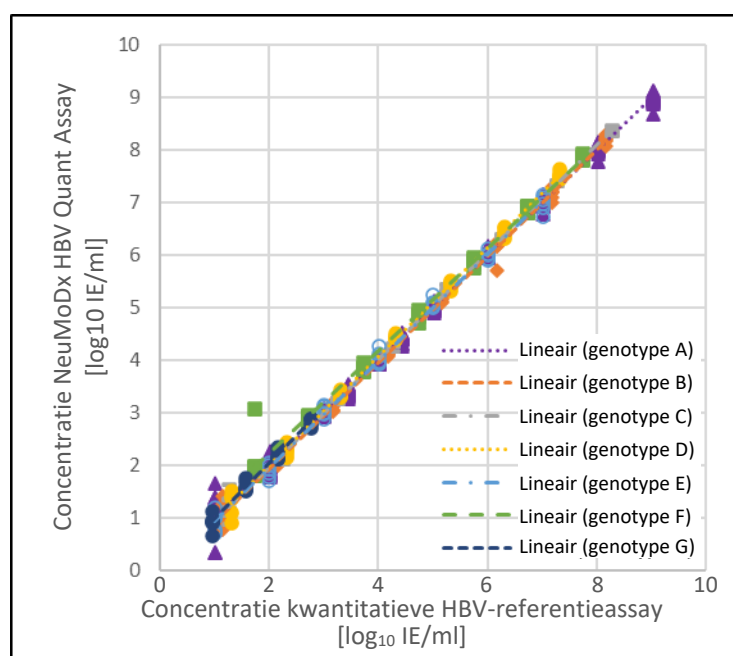
Afbeelding 5: Lineaire relatie tussen verwachte en door NeuMoDx gerapporteerde concentraties voor de workflow van 200 µl in a) plasma en b) serum

Lineariteit bij verschillende genotypes

De lineariteit van de NeuMoDx HBV Quant Assay in plasmaspecimen voor de HBV-genotypes werd gekenmerkt door het testen van ten minste vier (4) verschillende concentraties van elk genotype HBV dat in gebundeld HBV-negatief plasma werd bereid. De geteste waarden van de HBV-doelen die in dit onderzoek werden getest, waren afhankelijk van de concentratie van het bronspecimen, waardoor er verschillen waren tussen de genotypes. Het onderzoek werd uitgevoerd met elk genotype met behulp van 6 replica's op elk niveau. De lineariteit over de HBV-genotypes wordt voorgesteld in tabel 6 en afbeelding 6.

Tabel 6: Lineariteit van de NeuMoDx HBV Quant Assay over genotypes

| Genotype | Lineariteitsvergelijking y = kwantificering NeuMoDx HBV Quant Assay x = verwachte kwantificering | 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 |


Afbeelding 6: Lineariteit van de NeuMoDx HBV Quant Assay over genotypes

Analytische specificiteit en kruisreactiviteit

De analytische specificiteit is aangetoond door 32 organismen die vaak voorkomen in bloed-/plasmaspecimens en soorten die fylogenetisch vergelijkbaar zijn met HBV te testen op kruisreactiviteit. De organismen werden onderverdeeld in groepen van 4 tot 6 organismen en getest bij een hoge concentratie. De geteste organismen staan in *tabel 7*. Bij geen enkel getest organisme werd kruisreactiviteit waargenomen, waardoor bevestigd is dat de NeuMoDx HBV Quant Assay een analytische specificiteit van 100% heeft.

Tabel 7: Pathogenen die zijn gebruikt om analytische specificiteit en kruisreactiviteit aan te tonen

| | | | | | |
|-----------------|--------------------|-----------------------|--------|-----------------------|-------------|
| Adenovirus 2 | Dengue V1 | Hepatitis A | HPV 16 | Ilheus (ILHV) | Gele koorts |
| Adenovirus 5 | Dengue V2 | Hepatitis C | HPV 18 | Influenza A | Zikavirus |
| Banzivirus | Dengue V3 | Humaan herpesvirus 6a | HSV1 | Parvo B19 | |
| BK-virus | Dengue V4 | Humaan herpesvirus 8 | HSV 2 | Rodehond | |
| Cytomegalovirus | Epstein-Barr-virus | Hiv 1 | HTLV 1 | St.-Louis-encefalitis | |
| VZV | Vacciniavirus | Hiv 2 | HTLV 2 | Westnijlvirus | |

Interfererende stoffen - commensale organismen

De NeuMoDx HBV Quant Assay werd geëvalueerd op interferentie in de aanwezigheid van niet-doelorganismen met gebruikmaking van dezelfde organismegroepen die voor het testen van de analytische specificiteit zijn bereid. De organismen werden ofwel individueel getest of onderverdeeld in groepen van 4 tot 6 organismen in gescreend HBV-negatief plasma, en vervolgens verrijkt met HBV-controles in een concentratie van $3,7 \log_{10}$ IE/ml. Er werd geen significante interferentie waargenomen in de aanwezigheid van deze commensale organismen, wat wordt aangeduid met de minimale afwijking in kwantificering met de controlespecimens die geen interfererend middel bevatten [tabel 8].

Tabel 8: Interferentietests – Commensale organismen

| Niet-doelorganismen | Gemiddelde conc. (\log_{10} IE/ml) | Vertekening (\log_{10} IE/ml) |
|---|---------------------------------------|----------------------------------|
| Groep 1 [BK-virus, cytomegalovirus, Epstein-Barr-virus, humaan herpesvirus 6a, humaan herpesvirus 8] | 3,51 | 0,10 |
| Groep 2 [Adenovirus 2, adenovirus 5, dengue V2, dengue V3, dengue V4] | 3,38 | 0,22 |
| Groep 3 [Parvo B19, HTLV 1, HTLV 2, ilheus (ILHV), gele koorts, zikavirus] | 3,62 | 0,06 |
| Groep 4 [HPV 16, HPV 18, HSV 1, HSV 2, dengue V1] | 3,57 | 0,04 |
| Groep 5 [St.-Louis-encefalitis, VZV, vacciniavirus, westnijlvirus] | 3,57 | 0,03 |
| HAV | 3,58 | 0,05 |
| Banzivirus | 3,41 | 0,19 |
| Hiv-1 | 3,47 | 0,15 |
| Hiv-2 | 3,56 | 0,05 |
| Rodehond | 3,16 | 0,44 |
| Influenza A | 3,60 | 0,03 |
| HCV | 3,58 | 0,04 |

Interfererende stoffen – Endogene en exogene stoffen

De prestaties van de NeuMoDx HBV Quant Test Strip zijn beoordeeld in de aanwezigheid van typisch exogene en endogene interfererende stoffen die in klinische HBV-plasmaspecimens worden aangetroffen. Dat waren onder meer abnormaal hoge waarden van bloedcomponenten en vaak voorkomende antivirale geneesmiddelen, die zijn geclassificeerd in *tabel 9*. Elk van de hieronder in *tabel 10* vermelde endogene en exogene stoffen werden toegevoegd aan gescreend HBV-negatief menselijk plasma, verrijkt met 3,7 log₁₀ IE/ml HBV, en de gegevens werden gecontroleerd op interferentie. Bovendien werd plasma met veelvoorkomende ziektekiemen die met een hepatitis B-infectie worden geassocieerd ook op mogelijke interferentie getest.

Tabel 9: Interferentietests - Exogene stoffen (geneesmiddelclassificaties)

| Pool | Geneesmiddel | Classificatie |
|------|---------------------------|---------------------------------|
| 1 | Zidovudine (ZDV) | Reverse-transcriptaseremmer |
| | Saquinavir | Hiv-proteaseremmer |
| | Ritonavir | Hiv-proteaseremmer |
| | Clarithromycine | Antibioticum |
| | Interferon alfa-2a | Immuunmodulator |
| | Interferon alfa-2b | Immuunmodulator |
| 2 | Abacavirsulfaat | Reverse-transcriptaseremmer |
| | Amprenavir | Proteaseremmer |
| | Ribavirine | Immuunmodulator |
| | Entecavir | Antiviraal middel tegen HBV |
| | Fluoxetine | SSRI-antidepressivum |
| | Valaciclovirhydrochloride | Antiviraal middel |
| 3 | Tenofoviridisoproxil | Antiviraal middel tegen HBV/hiv |
| | Lamivudine | Antiviraal middel tegen HBV/hiv |
| | Ganciclovir | Antiviraal middel tegen CMV |
| | Valganciclovir | Antiviraal middel tegen CMV |
| | Nevirapine | Reverse-transcriptaseremmer |
| 4 | Efavirenz | Reverse-transcriptaseremmer |
| | Lopinavir | Proteaseremmer |
| | Enfuvirtide | Hiv-fusieremmer |
| | Ciprofloxacine | Antibioticum |
| | Paroxetine | SSRI-antidepressivum |
| 5 | Adefovir (dipivoxil) | Antiviraal middel |
| | Azitromycine | Antibioticum |
| | Indinavirsulfaat | Hiv-proteaseremmer |
| | Sertraline | SSRI-antidepressivum |

Tabel 10: Interferentietests - Exogene en endogene stoffen

| Endoegen | Gemiddelde conc. (log ₁₀ IE/ml) | Vertekening (log ₁₀ IE/ml) |
|---|---|--|
| Hemoglobine | 3,50 | 0,20 |
| Triglyceriden | 3,51 | 0,09 |
| Bilirubine | 3,56 | 0,13 |
| Albumine | 3,51 | 0,17 |
| Exoegen (geneesmiddelen) | Gemiddelde conc. (log ₁₀ IE/ml) | Vertekening (log ₁₀ IE/ml) |
| Pool 1: Zidovudine (ZDV), Saquinavir, Ritonavir, Claritromycine, Interferon alfa-2a, Interferon alfa-2b | 3,58 | 0,08 |
| Pool 2: Abacavirsulfaat, Amprenavir, Ribavirine, Entecavir, Fluoxetine, Valaciclovirhydrochloride | 3,56 | 0,04 |
| Pool 3: Tenofoviridisoproxil, Lamivudine, Ganciclovir, Valganciclovir, Nevirapine | 3,59 | 0,06 |
| Pool 4: Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtide, Ciprofloxacine, Paroxetine | 3,60 | 0,07 |
| Pool 5: Adefovir (dipivoxil), Azitromycine, Indinavirsulfaat, Sertraline | 3,56 | 0,19 |
| Ziektebeeld | Gemiddelde conc. (log ₁₀ IE/ml) | Vertekening (log ₁₀ IE/ml) |
| Antinucleair antilichaam (ANA) | 3,61 | 0,10 |
| Systemische lupus erythematodes (SLE) | 3,63 | 0,10 |
| Reumatoïde artritis (RA) | 3,57 | 0,09 |
| HCV-antilichamen | 3,58 | 0,07 |
| HBV-antilichamen | 3,64 | 0,11 |
| Alcoholcirrose | 3,68 | 0,15 |
| Reumafactor (RF) | 3,63 | 0,10 |
| Niet-alcoholische steatohepatitis (NASH) | 3,49 | 0,06 |

Binnen-laboratoriumprecisie

De precisie van de NeuMoDx HBV Quant Test Strip is bepaald door een 8-ledenpanel met HBV-specimens te testen van genotype A t/m C op drie NeuMoDx Systems over een periode van 12 dagen. De precisie binnen een sessie, binnen een dag en binnen een systeem werd gekenmerkt en de algehele standaardafwijking bedroeg $\leq 0,22 \log_{10}$ IE/ml. Het verschil in precisie tussen bedieners is niet gekenmerkt, aangezien de bediener geen significante rol speelt bij het verwerken van monsters met het NeuMoDx System. De nauwkeurighedsresultaten binnen het lab staan vermeld in tabel 11.

Tabel 11: Onderzoeksresultaten binnen-laboratoriumprecisie

| PANELONDERDE EL | DOELCONC. [log ₁₀ IE/ml] | GEMIDDELDE CONC. [log ₁₀ IE/ml] | N | Vertekening | SD binnen een run | SD binnen een dag | SD binnen een systeem | Algehele SD |
|-----------------|--|---|----|-------------|-------------------|-------------------|-----------------------|-------------|
| Genotype A | 7,75 | 7,89 | 36 | 0,14 | 0,06 | 0,07 | 0,07 | 0,07 |
| | 5,75 | 5,83 | 36 | 0,11 | 0,07 | 0,10 | 0,10 | 0,10 |
| | 3,75 | 3,70 | 36 | 0,11 | 0,11 | 0,13 | 0,15 | 0,15 |
| | 1,75 | 1,54 | 36 | 0,23 | 0,16 | 0,22 | 0,22 | 0,22 |
| Genotype C | 6,27 | 6,23 | 36 | 0,10 | 0,08 | 0,09 | 0,10 | 0,10 |
| | 4,27 | 4,18 | 36 | 0,08 | 0,08 | 0,10 | 0,10 | 0,10 |
| | 3,27 | 3,14 | 36 | 0,09 | 0,08 | 0,12 | 0,12 | 0,12 |
| | 2,27 | 2,08 | 36 | 0,12 | 0,12 | 0,15 | 0,16 | 0,16 |

Reproduceerbaarheid van partij tot partij

De reproduceerbaarheid tussen partijen van de NeuMoDx HBV Quant Test Strip werd bepaald met behulp van drie verschillende partijen sleutelreagentia: NeuMoDx Lysis Buffer 1, een NeuMoDx Extraction Plate en een NeuMoDx HBV Quant Test Strip. Ter beoordeling van de prestaties werd een 8-ledenpaneel van HBV-genotype A en C gebruikt. De tests werden gedurende 6 dagen met drie NeuMoDx Systems en met de drie partijen reagentia uitgevoerd. De variaties binnen één partij en tussen de partijen werden geanalyseerd. De maximale algehele vertekening was 0,12 log₁₀ IE/ml en de maximale algehele standaardafwijking (Standard Deviation; SD) was 0,24 log₁₀ IE/ml. Er werd geen significant verschil in prestaties tussen de partijen waargenomen, aangezien de kwantificering van alle panelleden binnen de tolerantiespecificatie viel. Resultaten van de partij-tot-partij-reproduceerbaarheid staan hieronder vermeld in *tabel 12*.

Tabel 12: Onderzoeksresultaten reproduceerbaarheid van partij tot partij

| PANELONDERDEEL | DOELCONC. [log ₁₀ IE/ml] | GEMIDDELDE CONC. [log ₁₀ IE/ml] | N | Vertekening | Binnen partij SD | Tussen partijen SD | Totaal 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 |

Effectiviteit van controle

De effectiviteit van de SPC1 die in de NeuMoDx HBV Quant Assay is opgenomen voor het rapporteren van procesfouten of remmers die de prestaties van de NeuMoDx HBV Quant Assay beïnvloeden, werd beoordeeld met twee veelvoorkomende HBV-genotypes (A en C). De geteste condities zijn representatief voor cruciale procesfouten die tijdens de monsterverwerking kunnen optreden en *die mogelijk niet worden gedetecteerd* door de prestatiebewakingssensoren van het NeuMoDx System. De effectiviteit van de SPC1 werd beoordeeld door dergelijke foutcondities na te bootsen. Procesinefficiënties die een ongewenst effect hadden op de detectie/kwantificering van HBV, werden weerspiegeld door de prestaties van het SPC1-doel (aanwezigheid van remmer en het ontbreken van de Wash-stap). Bij condities waaronder de SPC1-amplificatie niet werd beïnvloed, bleek het HBV-doel ook geamplificeerd te zijn binnen een gerapporteerde kwantificering van 0,2 log₁₀ IE/ml van de controlemonsters.

Tabel 13: Effectiviteit van de monsterverwerkingscontrole

| Procesfout getest | Amplificatiestatus monsterverwerkingscontrole | Amplificatiestatus HBV- doel | Resultaat assay |
|--|--|--|---|
| Presence of Inhibitor (Aanwezigheid van remmer) | Not Amplified (Niet geamplificeerd) | Not Amplified (Niet geamplificeerd) | Unresolved (Onbekend) |
| No Wash Delivered (Geen Wash-oplossing afgegeven) | Not Amplified (Niet geamplificeerd) | Not Amplified (Niet geamplificeerd) | Unresolved (Onbekend) |
| No Wash Blowout (Geen Wash-lek) | Amplified (Geamplificeerd) | Amplified (Geamplificeerd) | Positive with Quantitation within 0.2 log ₁₀ IU/mL of Control (Positief met kwantificering in 0,2 log ₁₀ IE/ml controle) |

Kruisbesmetting

Het kruisbesmettingspercentage van de NeuMoDx HBV Quant Assay werd vastgesteld door drie sets HBV-specimens met afwisselend hoogpositieve en hoognegatieve specimens te testen. In totaal werden er 144 replica's van een normaal, HBV-negatief menselijk EDTA-plasmaspecimen getest en 144 replica's van een HBV-specimen met hoge titer met 8,0 log₁₀ IE/ml. Alle 144 replica's van het negatieve specimen waren negatief, wat aangeeft dat er geen kruisbesmetting was tijdens de monsterverwerking op het NeuMoDx System.

Matrxequivalentie van het specimen

Er werden tests uitgevoerd om aan te tonen dat plasmaspecimens afgenomen in buisjes met ethyleendiaminetetra-azijnzuur (EDTA) of met zuurcitraatdextrose (Acid Citrate Dextrose; ACD) equivalente resultaten opleverden. Er werden ook tests uitgevoerd om de equivalentie tussen verse en bevroren specimens te bepalen. Veertig individuele donorspecimens afkomstig van BioIVT werden verzameld in zowel EDTA- als ACD-afnamebuisjes. Deze verse monsters werden verrijkt met vier HBV-concentraties genotype A of C, waarna ze werden getest op equivalentie. De monsters werden vervolgens minimaal 24 uur bevroren, ontdooid en opnieuw getest. Er werd een uitstekende equivalentie aangetoond tussen verse en bevroren specimens, en EDTA- en ACD-specimens via regressieanalyse.

Tabel 14: Regressieanalyse van specimenequivalentieresultaten

| Parameter [aanvaardingscriteria] | Vers vs. bevroren | ACD vs. K2EDTA |
|--|-------------------|----------------|
| Helling [0,9-1,1] | 1,002 | 0,996 |
| Intercept [< 0,5] | -0,031 | 0,018 |
| Determinatiecoëfficiënt [$R^2 > 0,95$] | 0,995 | 0,993 |

Aanvullende tests werden uitgevoerd om de equivalentie van de prestaties van de NeuMoDx HBV Quant Assay met specimens in primaire t.o.v. secundaire afnamebuisjes aan te tonen. Panels van HBV-negatieve donorspecimens verrijkt met HBV-doelwit (AccuPlex™ HBV Control) werden eerst verwerkt uit de primaire specimenbuisjes. Het resterende plasma van elk specimen werd verdeeld in een secundair specimenbuisje en opnieuw verwerkt. Er werd geen significant verschil gevonden in de gerapporteerde resultaten tussen de verwerking van primaire en secundaire specimenbuisjes.

Ook de equivalentie van de prestaties van de NeuMoDx HBV Quant Assay in verse t.o.v. bevroren serumspecimens werd geëvalueerd met een panel van individuele, verse donorserumspecimens verrijkt met HBV bij concentraties die het lineaire bereik van de assay dekten. Na verwerking van de verse specimens werden de serummonsters bevroren gedurende minstens 24 uur op -20 °C. De bevroren monsters werden vervolgens ontdooid en opnieuw getest. De lineaire equivalentie tussen identieke verse en bevroren monsters werd geëvalueerd met de regressieanalyse van Passing-Bablok en Deming. De p-waarde van de Passing-Bablok-regressie van 0,329 (groter dan 0,05) en correlatiecoëfficiënt van de Deming-regressie van 0,989 wijzen op een uitstekende equivalentie tussen monsters die vers worden verwerkt en eerder bevroren monsters. De vertekening tussen de verse en bevroren toestand werd volgens Bland-Altman vastgesteld op een extreem verwaarloosbare waarde van -0,002 log₁₀ IE/ml en toont nogmaals de equivalentie van de verwerking van verse ten opzichte van bevroren specimens aan. Tot slot werd de correlatie tussen door het systeem gerapporteerde HBV-concentraties en verwachte concentraties voor verse en bevroren monsters bepaald door eenvoudige lineaire regressie met gerapporteerde R²-waarden van 0,991 en 0,985, respectievelijk.

Stabiliteit van specimens

HBV-negatieve EDTA-plasmaspecimens en -serumspecimens werden verrijkt met HBV bij 3,7 log₁₀ IE/ml en getest op verschillende tijdstippen tijdens opslag op het NeuMoDx System – onmiddellijk (tijd 0), na 4 uur, na 8 uur en na 24 uur. Er werd geen significant verschil in prestaties waargenomen over de tijdstippen, hetgeen aangeeft dat een specimen tot 24 uur geladen kan worden op NeuMoDx System zonder dat dit een impact heeft op de assayprestaties.

Vergelijkbare tests werden ook uitgevoerd met plasma- en serumspecimens die voorafgaand aan de test gedurende maximaal 7 dagen in een laboratoriumkoelkast werd bewaard (tussen 2 en 8 °C). Ook daar werd geen significant verschil in prestaties waargenomen.

Uiteindelijk werden specimens gedurende maximaal 6 maanden (plasma) en maximaal 4 maanden (serum) voorafgaand aan verwerking bij een temperatuur van ≤ -20 °C bewaard. Er was geen significant verschil in vergelijking met verse specimens. De cyclus van bevriezen/ontdooien werd herhaald en na 2 cycli van bevriezen/ontdooien (plasma) of 4 cycli van bevriezen/ontdooien (serum) was er geen verandering in de prestaties merkbaar.

Methodecorrelatie

Plasmaspecimens

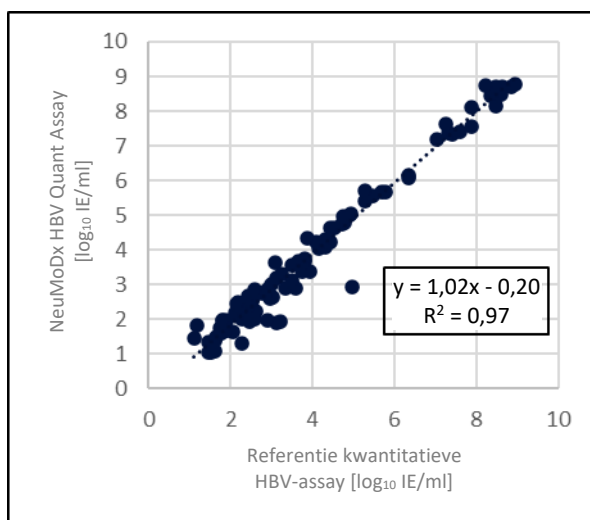
De kwalitatieve en kwantitatieve prestaties van de NeuMoDx HBV Quant Assay werden vergeleken met FDA-/CE-goedgekeurde vergelijkingsassays door onverdunde klinische plasmaspecimens van met HBV geïnfecteerde patiënten te testen. De tests werden intern bij NeuMoDx uitgevoerd door middel van een enkelblind onderzoek van klinische specimens die afkomstig waren van drie onafhankelijke referentielaboratoria. De resultaten van in totaal 308 HBV-positieve en HBV-negatieve monsters werden verzameld voor de kwalitatieve analyse om de klinische gevoeligheid en specificiteit van de NeuMoDx HBV Quant Assay te berekenen. De kwalitatieve analyse werd voltooid met en zonder de positieve monsters onder de LLoQ, omdat de classificatie van dergelijke lage monsters tussen tests kan variëren. In totaal werden er 97 HBV-positieve klinische specimens binnen het lineaire bereik voor beide tests gebruikt om de lineaire regressie te genereren om zo de kwantitatieve prestaties te kunnen bepalen. De NeuMoDx HBV Quant Test Strip leverde naast een uitstekende gevoeligheid en specificiteit ook een uitstekende kwantitatieve correlatie met de vergelijkingsassay. Op basis van deze resultaten werd de gevoeligheid van de NeuMoDx HBV Quant Assay geschat op 100% (BI 96,4%-100%) en specificiteit op 95,6% (BI 91,9%-97,7%). Deze betrouwbaarheidsintervallen van 95% werden berekend met behulp van de score van 95% volgens de betrouwbaarheidsintervalmethode van EP12-A2, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, Approved Guideline, Vol 28, No 3.⁶

Tabel 15: Metrieken voor klinische gevoeligheid en specificiteit van de NeuMoDx HBV Quant Assay voor plasmaspecimens op het NeuMoDx 288 Molecular System

| | Referentieassay (POS) | Referentieassay (NEG) | TOTAAL |
|---|-----------------------|-----------------------|--------|
| NeuMoDx HBV Quant Assay (POS) | 103 | 9 | 112 |
| NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG) | 0 | 196 | 196 |
| TOTAAL | 103 | 205 | 308 |
| GEVOELIGHEID = 100% 95% BI (96,4%-100%) SPECIFICITEIT = 95,6% 95% BI (91,9%-97,7%) | | | |

Tabel 16: Metrieken voor klinische gevoeligheid en specificiteit van de NeuMoDx HBV Quant Assay op het NeuMoDx 288 Molecular System, uitgezonderd plasmamonsters < LLoQ

| | Referentieassay (POS) | Referentieassay (NEG) | TOTAAL |
|---|-----------------------|-----------------------|--------|
| NeuMoDx HBV Quant Assay (POS) | 99 | 5 | 104 |
| NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG) | 0 | 196 | 196 |
| TOTAAL | 99 | 201 | 300 |
| GEVOELIGHEID = 100% 95% BI (96,3%-100%) SPECIFICITEIT = 97,5% 95% BI (94,3%-98,9%) | | | |



Afbeelding 7: Correlatieonderzoek naar kwantitatieve methoden met behulp van de NeuMoDx HBV Quant Assay

Met 159 resterende klinische plasmaspecimens zijn aanvullende tests uitgevoerd met het NeuMoDx 96 Molecular System. Net zoals bij de vorige tests die op de NeuMoDx 288 waren uitgevoerd, werden de resultaten van de NeuMoDx 96 vergeleken met de resultaten van de door de FDA goedgekeurde en/of CE-gemarkeerde assays die door bronlaboratoria werden gebruikt voor standaardzorgtests. De resultaten, met inbegrip van de waarheidstabel met de klinische gevoeligheid en specificiteit, met een betrouwbaarheidsinterval (BI) van 95% staan in *tabel 17*.

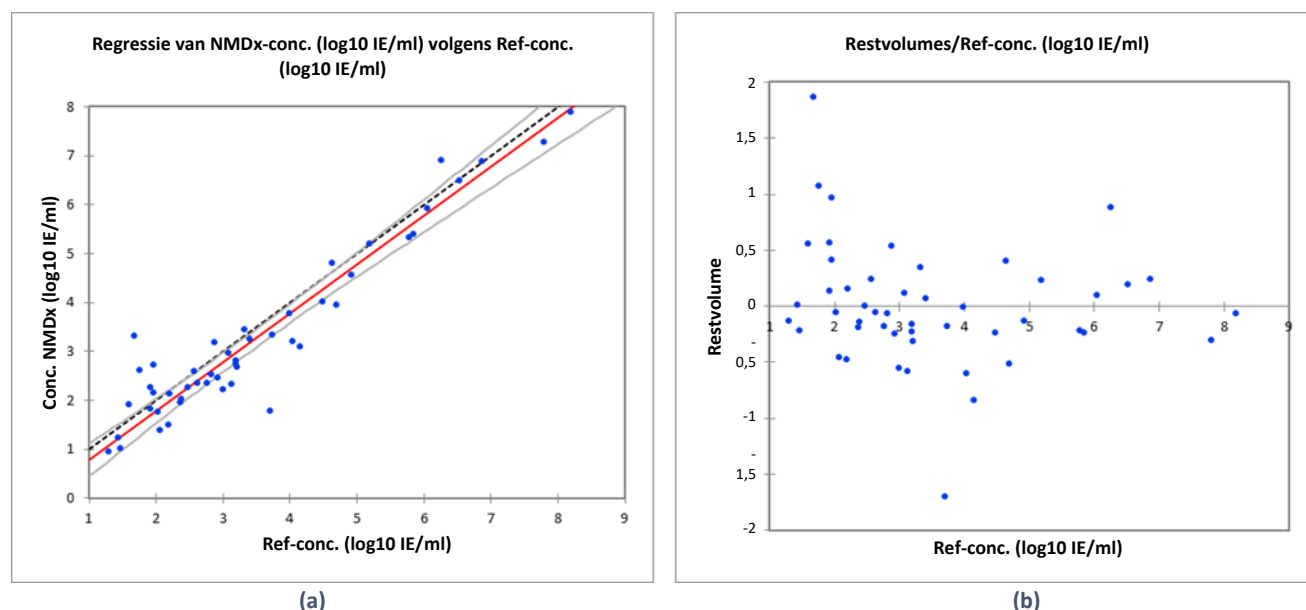
Tabel 17: Overzicht klinische prestaties – NeuMoDx HBV Quant Assay in het NeuMoDx 96 Molecular System

| | Referentieassay (POS) | Referentieassay (NEG) | TOTAAL |
|---|-----------------------|-----------------------|--------|
| NeuMoDx HBV Quant Assay (POS) | 60 | 2 | 62 |
| NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG) | 1 | 95 | 96 |
| TOTAAL | 61 | 97 | 158 |
| GEVOELIGHEID = 98% 95% BI (90%-100%) SPECIFICITEIT = 98% 95% BI (92%-100%) | | | |

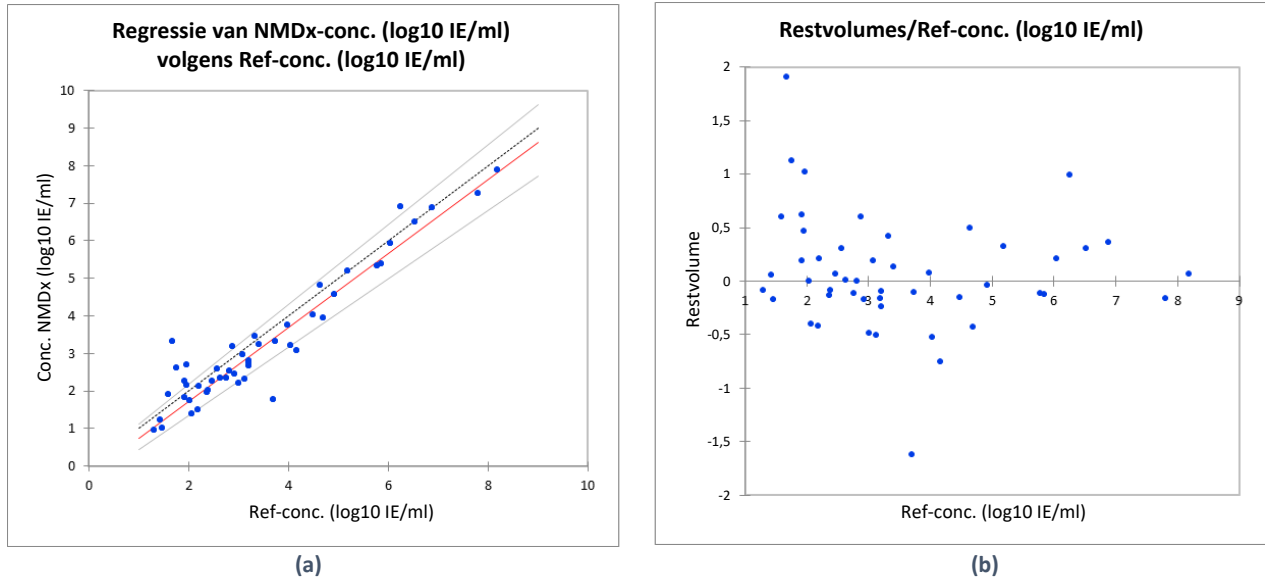
Serumspecimens

De kwantitatieve prestaties van de NeuMoDx HBV Quant Assay werden vergeleken met door FDA/CE goedgekeurde vergelijkingsassays door geanonimiseerde, residuele HBV-positieve serumspecimens van met HBV geïnfecteerde patiënten te testen. In totaal werden 66 klinisch bekende HBV-positieve serumspecimens van twee onafhankelijke referentielaboratoria met de NeuMoDx HBV Quant Assay, intern bij NeuMoDx getest. Van de bekende positieve serumspecimens die werden getest werden er 58 geïdentificeerd als positieve resultaten, waarvan negen (9) resultaten onder LLoQ en boven ULoQ lagen voor de NeuMoDx HBV Quant Assay en/of de referentietest. In totaal werden er 49 HBV-positieve klinische specimens binnen het lineaire bereik voor beide tests gebruikt om de regressieanalyses te genereren om zo de kwantitatieve prestaties te kunnen bepalen.

Er werden equivalentie- en restvolumegrafieken gegenereerd om de correlatie tussen de NeuMoDx HBV Quant Assay-concentraties en de concentratiewaarden van de referentietest voor alle geteste monsters voor te stellen met behulp van de regressieanalyse van Deming en Passing-Bablok. Deze zijn weergegeven in afbeelding 8 en afbeelding 9. De kwaliteit van de Deming-regressieanalyse blijkt uit een hellingscoëfficiënt van 0,99 met een 95% BI (0,93; 1,07) en een intercept (vertekening) van -0,22 met een 95% BI (-0,56; 0,12), wat aantoont dat de concentratieresultaten van de NeuMoDx HBV Quant Assay en de referentietests in hoge mate met elkaar correleren en een aanvaardbare vertekening hebben. De kwaliteit van de lineaire regressieanalyse van Passing-Bablok blijkt uit een hellingscoëfficiënt van 0,99 met een 95% BI (0,91; 1,06) en een intercept (vertekening) van -0,25 met een 95% BI (-0,48; 0,06), wat aantoont dat de concentratieresultaten van de NeuMoDx HBV Quant Assay en de referentietests in hoge mate met elkaar correleren en een aanvaardbare vertekening hebben, zoals weergegeven in tabel 18.



Afbeelding 8: Grafieken van equivalentie (a) en restvolume (b) – Cumulatieve analyse van NeuMoDx HBV Test-resultaten t.ov. referentietests – Deming-analyse.



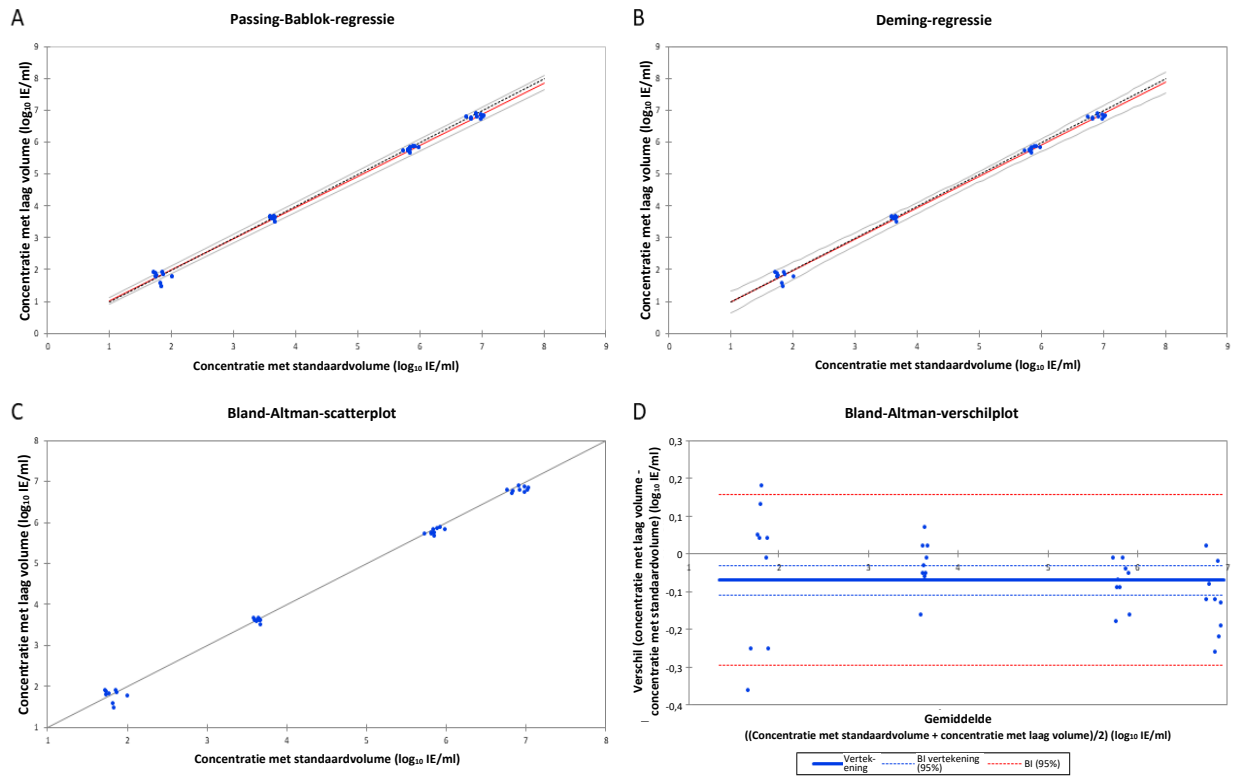
Afbeelding 9: Grafieken van equivalentie (a) en restvolume (b) – Cumulatieve analyse van NeuMoDx HBV Quant Assay-resultaten t.ov. referentietests – Passing-Bablok-analyse.

Tabel 18. Overzicht van lineaire regressieanalyse van Deming en Passing-Bablok voor serumspecimens

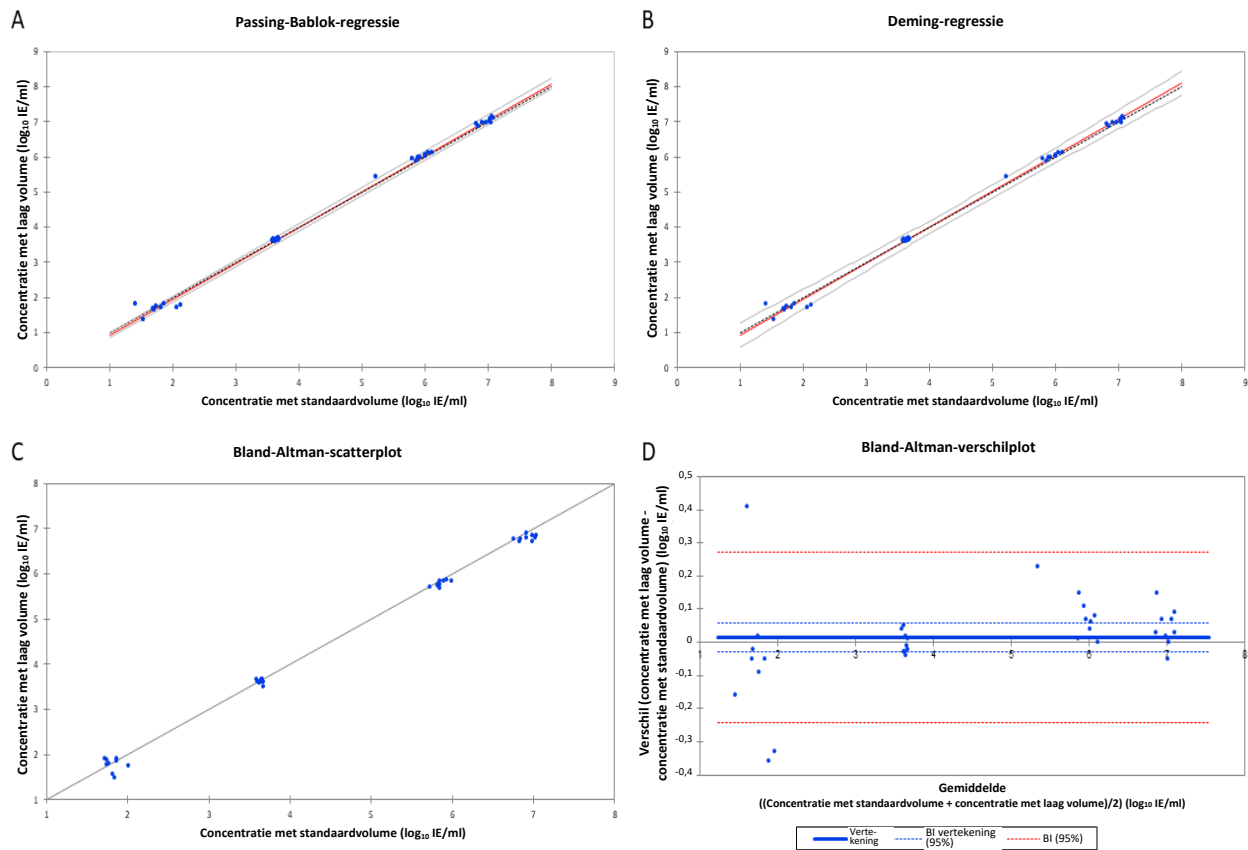
| Deming-analyse | | | Passing-Bablok-analyse | | |
|-------------------------------|-----------------------------|------|-------------------------------|-----------------------------|----------|
| Intercept | Hellingscoëfficiënt | R2 | Intercept | Hellingscoëfficiënt | p-waarde |
| -0,22 95% BI (-0,56, 0,12) | 0,99 95% BI (0,93, 1,07) | 0,95 | -0,25 95% BI (-0,48, 0,06) | 0,99 95% BI (0,91, 1,06) | 0,89 |

Testen van kunstmatige specimens – workflow voor specimenvolume van 200 µl

De kwantitatieve correlatie tussen de workflows voor specimenvolume van 200 µl en 550 µl werd bevestigd met een panel dat bestond uit individuele, HBV-negatieve plasma- en serummonsters verrijkt met vier bekende concentraties van HBV-controlemateriaal, die getraceerd kunnen worden naar de 4^e internationale norm voor HBV-DNA voor nucleïnezuurtests van de WHO. Deze individuele plasma- en serumspecimens werden verwerkt met de workflows voor specimenvolume van 550 µl en 200 µl voor 288 tests in totaal. De equivalenties tussen de concentratie gerapporteerd door de NeuMoDx Software voor de workflows met specimenvolume van 200 µl en 550 µl met het kunstmatige panel werden vergeleken op basis van de individuele monsters. De regressieanalyse van Deming en Passing-Bablok had een helling van 0,985 en 0,998 met intercepts van -0,001 en 0,053, respectievelijk in plasma en 1,024 en 1,018 met intercepts van 0,095 en 0,070, respectievelijk in serum. Dit wijst op een uitstekende overeenkomst van HBV-kwantificeringen tussen de twee verwerkte volumes. Een Bland-Altman-vergelijking toonde een minimale vertekening tussen beide workflows aan. Bovendien hadden analyses van eenvoudige lineaire regressie met de verwachte en gerapporteerde concentratie voor de workflow van 200 µl een helling van 1,047 en een correlatiecoëfficiënt van 0,998 (plasma) en van 1,113 en 0,992 (serum). Dit ondersteunt nog meer de uitstekende prestaties met behulp van de workflow met specimenvolume van 200 µl voor de NeuMoDx HBV Quant Assay. De resultaten van deze studies worden hieronder samengevat in *afbeelding 10* en *afbeelding 11*.



Afbeelding 10: Equivalentieplot vergelijkingen van gerapporteerde concentraties met laag volume en gerapporteerde concentraties met standaard specimenvolume. A) Passing-Bablok-regressie. B) Deming-regressie. C) Bland-Altman-scatterplot D) Bland-Altman-verschilplot – Plasmaspecimens



Afbeelding 11: Equivalenteplot vergelijkingen van gerapporteerde concentraties met laag volume en gerapporteerde concentraties met standaard specimenvolume. A) Passing-Bablok-regressie. B) Deming-regressie. C) Bland-Altman-scatterplot D) Bland-Altman-verschilplot – Serumspecimens

LITERATUUR














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.


HANDELSMERKEN

NeuMoDx™ is een handelsmerk van NeuMoDx Molecular, Inc.
 NeuDry™ is een handelsmerk van NeuMoDx Molecular, Inc.
 TaqMan® is een gedeponeerd handelsmerk van Roche Molecular Systems, Inc.

Alle andere productnamen, handelsmerken en gedeponeerde handelsmerken die in dit document kunnen voorkomen, zijn eigendom van hun respectieve eigenaars.

LIJST MET SYMBOLEN

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
| R only | Gebruik uitsluitend op voorschrift |  | Temperatuurbepanking |
|  | Fabrikant |  | Niet hergebruiken |
|  | <i>In-vitro</i> diagnostisch medisch hulpmiddel |  | Inhoud voldoende voor <n> tests |
|  | Geautoriseerde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap |  | Raadpleeg de gebruikshandleiding |
|  | Catalogusnummer |  | Voorzichtig |
|  | Batchcode |  | Biologische risico's |
|  | Uiterste gebruiksdatum |  | CE-markering |



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

Sponsor (AUS):
QIAGEN Pty Ltd
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148
Australië



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
Nederland



Technische ondersteuning/alertheidsmeldingen: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents