

REF 201300 NeuMoDx™ HBV Quant Test Strip -testiliuskat

R only

HUOMIO: Vain vietäväksi Yhdysvaltojen ulkopuolelle

IVD Tarkoitettu NeuMoDx 288 Molecular System- ja NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmillä tehtävää *in vitro* -diagnoosiikkaa varten

Selostepäivitykset ovat osoitteessa: www.qiagen.com/neumodx-ifu
Lisätietoja on NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa, tuotenumero 40600108
Lisätietoja on NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa, tuotenumero 40600317

KÄYTTÖTARKOITUS

NeuMoDx HBV Quant Assay -määritys on automaattinen nukleiinihappojen *in vitro* -monistustesti hepatiitti B -viruksen (HBV) DNA:n HBV-genotyyppien A–H kvantifiointiin HBV-infektioituneiden henkilöiden plasma- ja seeruminäytteistä. NeuMoDx 288 Molecular System- ja NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmissä (NeuMoDx System -järjestelmät) käytettävä NeuMoDx HBV Quant Assay -määritys sisältää automaattisen DNA:n eristämisen, jossa eristetään kohdenukleiinihappo näytteestä, sekä reaaliaikaisen polymeerasiketjureaktion (Polymerase Chain Reaction, qPCR), joka kohdistuu erittäin konservoituneisiin sekvensseihin hepatiitti B:n virusgenomissa.

NeuMoDx HBV Quant Assay on tarkoitettu käytettäväksi apuna HBV-infektioita sairastavien potilaiden hoidossa. NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksellä saadut tulokset on tulkittava kaikki asianmukaiset kliiniset löydökset ja laboratoriolöydökset huomioon. NeuMoDx HBV Quant Assay -määritystä ei ole tarkoitettu käytettäväksi veren tai verivalmisteiden seulontatestinä tai diagnostisena työkaluna HBV-infektion kliinisen tilan diagnosoimisessa.

YHTEENVETO JA SELITYKSET

Ihmisen kokoverta, joka on otettu etyleenediamiinitetraetikkahappoa (Ethyleenediamiinetetraacetic Acid, EDTA) tai happositraattidekstroosia (Acid Citrate-Dextrose, ACD) antikoagulanttina sisältäviin steriileihin näyteputkiin tai plasman valmisteluputkiin (Plasma Preparation Tubes, PPT), voidaan käyttää plasman valmisteluun, kun taas seerumi on otettava seerumin keräysputkiin tai erotteluputkiin (Serum Separation Tubes, SST). Testin valmisteluvaiheessa toissijaisessa näyteputkessa oleva plasma tai seerumi tai ensisijaisessa näyteputkessa oleva fraktioitu veri ladataan NeuMoDx System -järjestelmään soveltuvassa näyteputkelineessä. Myös näyteputkien on oltava NeuMoDx System -järjestelmän kanssa yhteensopivia. Jokaista näytettä varten plasma-/seeruminäytteen alikvoottia sekoitetaan NeuMoDx Lysis Buffer 1 -lyysauspuskurin kanssa. NeuMoDx System -järjestelmä suorittaa kaikki vaiheet automaattisesti: se eristää kohdenukleiinihapon, tekee eristetyn DNA:n valmistelut reaaliaikaisen PCR:n monistusvaihetta varten sekä monistaa ja tunnistaa monistamisen tuotteet, jos niitä on näytteessä (HBV:n kohdegenomin osat erittäin konservoituneilla *X-proteiinilla* ja *preC-proteiinilla* koodaavilla alueilla). NeuMoDx HBV Quant Assay -määritys sisältää DNA-näytteen prosessikontrollin (Sample Process Control 1, SPC1), jolla valvotaan mahdollisia estäviä aineita sekä eristämisen- ja monistamisprosessien aikaisia NeuMoDx System -järjestelmän ja reagenssien toimintahäiriöitä.

Hepatiitti B -virus (HBV) aiheuttaa hepatiitti B -maksainfektion ja on maailmanlaajuinen terveysongelma. Hepatiitti B voi aiheuttaa joko akuutin maksatulehduksen tai edetä krooniseksi tilaksi, joka johtaa kirroosiin tai maksasyöpään. Kroonisen tilan kehittyminen on ikäsidonnaista: jos virus tarttuu syntymässä, kroonisen tilan kehittymisen todennäköisyys on > 90 %, mutta jos aikuinen saa tartunnan, tila kehittyy krooniseksi 2–6 % todennäköisyydellä.¹ HBV tarttuu joko verikontaktissa infektoituneeseen ihmiseen, seksuaalisessa kanssakäymisessä, jaettaessa neuloja infektoituneen henkilön kanssa suonensisäisiä huumeita käytettäessä tai vertikaalisena tartuntana äidiltä vauvalle synnytyksen aikana. Yhdysvalloissa noin 850 000 ihmisellä on HBV-infektio, ja suurin osa uusista infektiotapauksista aiheutuu seksuaalisesta kanssakäymisestä tai suonensisäisten huumeiden käytöstä.² Afrikassa ja läntisen Tyynenmeren alueella jopa 5 %:n väestöstä tiedetään olevan infektoitunut. Vuonna 2015 HBV-infektio aiheutti maailmanlaajuisesti 885 000 kuolemaa, useimmat kirroosin tai hepatosellulaarisen karsinoman kautta.³ On olemassa rokote, joka 95 %:n tehokkuudella estää HBV-infektion, joten tapauksia diagnosoidaan vähemmän joka vuosi.⁴

Nykyinen HBV-infektion hoitostandardi on viroslääkehoito, joka edellyttää jatkuvaa seuranta sen varmistamiseksi, että hoito etenee halutusti. Hoidon seuranta NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksellä voi antaa lääkäreille tarvittavia tietoja HBV-infektiopotilaiden hoitamiseen.

MENETELMÄN TOIMINTAPERIAATE

NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksessä yhdistyvät automaattinen DNA:n eristys, monistus ja tunnistus reaaliaikaisella PCR:llä. Kokoverinäytteet otetaan EDTA, ACD- tai PPT-näyteputkiin plasman valmistelua varten ja/tai SST-putkiin seerumin valmistelua varten. Ensisijaiset (fraktioidut) verinäytteet tai plasma-/seerumialikvoottit siirretään järjestelmän kanssa yhteensopiviin toissijaisiin näyteputkiin, jotka merkitään viivakoodilla ja asetetaan NeuMoDx System -järjestelmään. NeuMoDx System -järjestelmä aloittaa käsittelyn automaattisesti aspiroimalla plasma-/seerumialikvoottin ja sekoittamalla siihen NeuMoDx Lysis Buffer 1 -lyysauspuskuria ja NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevyn sisältämiä aineita. NeuMoDx System -järjestelmä suorittaa automaattisesti ja järjestelmän sisäisesti DNA:n eristämisen ja rikastamisen, reagenssien valmistelun sekä nukleiinihapon monistamisen ja kohdesekvenssin tunnistuksen reaaliaikaisella PCR:llä. Testiin sisältyvällä näytteen prosessikontrollilla (Sample Process Control 2, SPC1) etsitään mahdollisia estäviä aineita sekä järjestelmän, prosessin ja reagenssien toimintahäiriöitä. Kun näyte on asetettu NeuMoDx System -järjestelmään, käyttäjän toimia ei enää tarvita.

NeuMoDx System -järjestelmä käyttää lämmön, hajottavan entsyymien ja eristysreagenssien yhdistelmää automaattisessa lyysauksessa, DNA:n eristämiseksi ja estäjien poistamiseksi. Vapautuneet nukleiinihapot tarttuvat paramagneettisiin hiukkasiin. Hiukkaset, joihin nukleiinihappo on sitoutunut, latautuvat NeuMoDx Cartridge -kasettiin, missä sitoutumattomat elementit pestään pois NeuMoDx Wash Reagent -pesureagenssilla. Sitoutunut DNA eluoidaan käyttämällä NeuMoDx Release Reagent -irrotusreagenssia. NeuMoDx System -järjestelmä rehydroi eluoidun DNA:n avulla omistusoikeudelliset NeuDry™-monistusreagenssit, jotka sisältävät kaikki HBV-kohteen ja SPC1-kohteen monistamiseen tarvittavat osat.

Näin molemmat kohde- ja kontrolli-DNA-sekvenssit voidaan monistaa ja tunnistaa samanaikaisesti. Kun kuivatut PCR-reagenssit on valmisteltu, NeuMoDx System -järjestelmä annostelee PCR-ajoa varten valmiin seoksen NeuMoDx Cartridge -kasetin yhteen PCR-kammioon (näytekohtaisesti). Kontrolli- ja kohde-DNA-sekvenssit (jos niitä on) monistetaan ja tunnistetaan PCR-kammiossa. NeuMoDx Cartridge -kasetti on suunniteltu niin, että amplikoni jää kasettiin PCR:n jälkeen, mikä käytännössä katsoen eliminoi monistuksen jälkeisen kontaminaation vaaran.

Monistetut kohteet tunnistetaan reaaliaikaisesti hydrolyysikoettimien avulla (eli TaqMan®-tekniikalla), jossa käytetään kohdeamplikonikohtaisia fluoresoivia oligonukleotidikoettimen molekyylejä. TaqMan-koettimet koostuvat fluoresoivasta aineesta, joka on kovalenttisesti kiinnittynyt oligonukleotidikoettimen 5'päähän, ja 3'päässä olevasta sammuttajasta. Koettimen ollessa ehjä fluoresoivan aineen ja sammuttajamolekyylin läheisyys tukahduttaa fluoresoivan aineen lähettämän fluoresenssin Förster-tyyppinen energiansiirto (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan-koettimet on suunniteltu kiinnittymään tietyn alukejoukon monistamalla DNA:n alueella. Kun Taq DNA -polymeraasi pidentää aluketta ja syntetisoi uuden juosteen, Taq DNA -polymeraasin 5'-3'-eksonukleaasiaktiivisuus hajottaa malliin kiinnittyneen koettimen. Koettimen hajoaminen vapauttaa fluoresoivan aineen, ja koetin ja sammuttaja erkanevat toisistaan, jolloin FRET:n tukahduttamisvaikutus estyy ja fluoresoivan aineen havaitseminen voi tapahtua. NeuMoDx System -järjestelmän kvantitatiivisessa PCR-laitteessa havaittu fluoresenssisignaali on suoraan verrannollinen vapautuneeseen fluoresoivaan aineeseen ja voi korreloida kohteen määrän kanssa.

Fluoresoivalla aineella leimattu TaqMan-koetin (heräte: 490 nm ja emissio: 521 nm) 5'päässä ja pimeä sammuttaja 3'päässä auttavat havaitsemaan HBV:n DNA:n. TaqMan-koetin on leimattu vaihtoehtoisella fluoresoivalla värillä SPC1-prosessikontrollin tunnistusta varten (heräte: 535 nm ja emissio: 556 nm) 5'päässä ja pimeä sammuttaja 3'päässä. NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto valvoo TaqMan-koettimien lähettämää fluoresenssisignaalia jokaisen monistamissyklin lopussa. Monistumisen päätyttyä NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto analysoi tiedot ja laatii raportin lopullisista tuloksista (POSITIVE [Positiivinen] / NEGATIVE [Negatiivinen] / INDETERMINATE [Epäselvä] / UNRESOLVED [Ratkaisematon] / NO RESULT [Ei tulosta]). Jos tulos on positiivinen ja laskettu pitoisuus on kvantifiointirajojen sisällä, NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto tuo näkyviin myös näytteeseen liittyvän kvantitatiivisen arvon.

REAGENSIT/TARVIKKEET

Toimitetut materiaalit

REF	Sisältö	Yksiköt pakkauksessa	Testejä/yksikkö	Testejä/pakkaus
201300	NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuska Kuivatut PCR-reagenssit, jotka sisältävät HBV- ja SPC1 -spesifisen TaqMan-koettimen ja alukkeet	6	16	96

Tarvittavat materiaalit, jotka eivät sisälly toimitukseen (saatavilla erikseen NeuMoDx-yhtiöltä)

REF	Sisältö
100200	NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevy Kuivatut paramagneettiset hiukkaset, hajottava entsyymi ja näytteiden prosessikontrollit
800100 tai 800102	NeuMoDx HBV Calibrator -kalibraattori Kertakäyttöiset HBV korkean ja matalan kalibraattorin sarjat kalibrointikäyrän validiteetin määrittämiseen
900101 tai 900102	NeuMoDx HBV External Control -kontrollit Kertakäyttöiset positiiviset ja negatiiviset kontrollisarjat
400400	NeuMoDx Lysis Buffer 1 -lyysauspuskuri
400100	NeuMoDx Wash Reagent -pesureagenssi
400200	NeuMoDx Release Reagent -irrotusreagenssi
100100	NeuMoDx Cartridge -kasetti
235903	Hamilton® CO-RE/CO-RE II -kärjet (300 µl) ja suodattimet
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II -kärjet (1 000 µl) ja suodattimet

Tarvittavat laitteet

NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmä [REF 500100] tai NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmä [REF 500200]

VAROITUKSET JA VAROTOIMET

- NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuska on tarkoitettu *in vitro* -diagnostiikkaan vain NeuMoDx System -järjestelmällä.
- Älä käytä reagensseja tai tarvikkeita viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.
- Reagensseja ei saa käyttää, jos suojaosien on rikki tai pakkaus on vahingoittunut vastaanotettaessa.
- Älä käytä tarvikkeita ja reagensseja, jos suojaosien on avautunut tai rikki vastaanotettaessa.

- Validin testikalibroinnin (jonka generoi NeuMoDx HBV Calibrators -sarjan korkean ja matalan kalibraattorin käsittely) täytyy olla käytettävissä, ennen kuin kliinisistä näytteistä voidaan saada testituloksia.
- NeuMoDx HBV External Controls -kontrollit on käsiteltävä aina 24 tunnin välein testaamalla ne NeuMoDx HBV Quant Assay -määrittelyksillä.
- Näytteen vähimmäismäärä riippuu näyteputken koosta, näytetelineestä ja käsiteltävästä näytemäärästä seuraavasti: Määritettyä minimiä pienempi määrä voi aiheuttaa virheen Quantity Not Sufficient (Määrä ei riitä).
- Väärissä lämpötiloissa tai liian pitkään säilytettyjen näytteiden käyttö voi aiheuttaa epäkelvöllisiä tai virheellisiä tuloksia.
- Vältä aina reagenssien ja tarvikkeiden mikrobi- ja deoksiribonukleaasi (DNAasi) -kontaminaatiota. Steriilien DNAasittomien kertakäyttösiirtoipettien käyttö on suositeltavaa, jos käytetään toissijaisia putkia. Käytä jokaiselle näytteelle uutta pipettiä.
- Vältä kontaminaatio: älä käsittele äläkä irrota NeuMoDx Cartridge -kasettia monistamisen jälkeen. Älä missään tapauksessa ota NeuMoDx Cartridge -kasetteja biovaarallisen jätteen säiliöstä (NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmässä) tai biovaarallisen jätteen astiasta (NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmässä). NeuMoDx Cartridge -kasetti on suunniteltu estämään kontaminaatiota.
- Kun laboratoriossa tehdään PCR-testejä myös avoimella putkella, on varottava, etteivät NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuska, muut testissä tarvittavat tarvikkeet ja reagenssit, suojavarusteet, kuten käsineet ja laboratoriotakit, ja NeuMoDx System -järjestelmä kontaminoidu.
- NeuMoDx:n reagensseja ja tarvikkeita käsiteltäessä on käytettävä puhtaita, puuterittomia nitrilikäsineitä. Varo, ettet kosketa NeuMoDx Cartridge -kasetin yläpintaa tai NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuskan tai NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevyn foliotiivistepintaa tai NeuMoDx Lysis Buffer 1 -lyysauspuskurin yläpintaa. Tarvikkeita ja reagensseja käsiteltäessä saa koskea vain sivupintoihin.
- Jokaiselle reagenssille on (soveltuvasti) saatavissa käyttöturvallisuustiedote (Safety Data Sheet, SDS) osoitteesta www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Pese kädet huolellisesti testin jälkeen.
- Älä pipetoi suun avulla. Älä tupakoi, syö tai juo tiloissa, joissa käsitellään näytteitä tai reagensseja.
- Käsittele näytteitä aina kuten tartuntavaarallisia näytteitä ja noudata laboratorion turvaohjeita: *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁵ ja CLSI Document M29-A 4.⁶
- Hävitä käyttämättömät reagenssit ja jäte paikallisten, alueellisten ja kansallisten säädösten mukaisesti.
- Ei saa käyttää uudelleen.



TUOTTEEN SÄILYTYS, KÄSITTELY JA STABIILISUUS

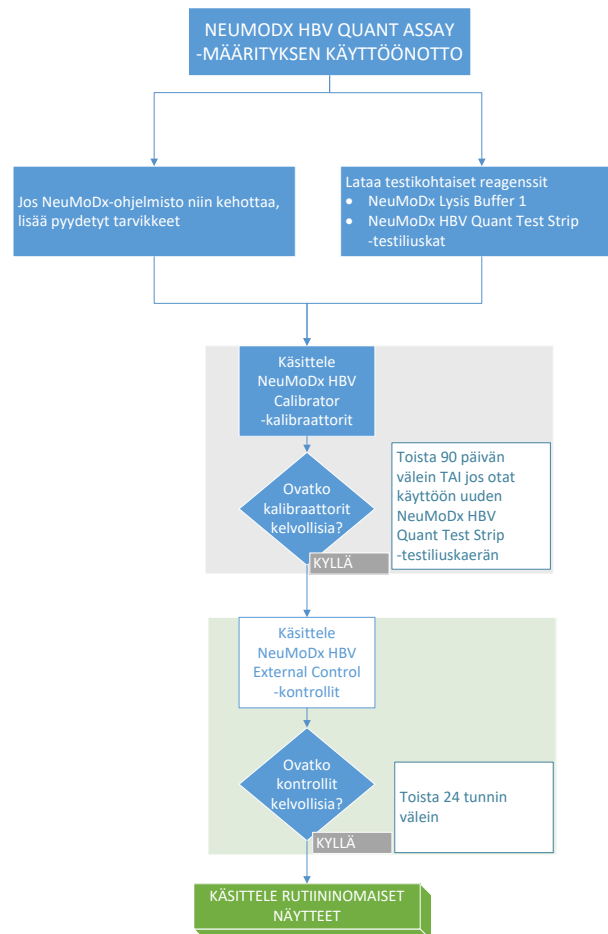
- NeuMoDx HBV Test Strips -testiliuskat ovat vakaita sisäpakkauksessa tuotteen etiketissä ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään asti, kun niitä säilytetään 4–28 °C:n lämpötilassa.
- Tarvikkeita ja reagensseja ei saa käyttää viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
- Älä käytä testituotetta, jos sen sisä- tai ulkopakkaus näyttää vahingoittuneelta.
- Älä aseta uudelleen mitään testituotetta, joka on aiemmin asetettu toiseen NeuMoDx System -järjestelmään.
- Kun NeuMoDx HBV Quant Test Strip on asetettu, se voi olla NeuMoDx System -järjestelmän sisällä 62 vuorokautta. Ohjelmisto seuraa järjestelmään asetettujen testiliuskojen jäljellä olevaa käyttöikää ja ilmoittaa sen käyttäjälle reaaliaikaisesti. Järjestelmä kehottaa vaihtamaan testiliuskan, joka on ollut käytössä sallittua pidemmän ajan.

NÄYTTEIDEN KERUU, KULJETUS JA SÄILYTYS

1. Käsittele kaikkia näytteitä, kalibraattoreita ja kontroleja kuin ne pystyisivät siirtämään eteenpäin tarttuvia taudinaiheuttajia.
2. Älä pakasta kokoverta tai ensisijaisissa putkissa olevia näytteitä.
3. Plasmanäytteiden valmistelua varten kokoveri on otettava steriileihin putkiin, joissa käytetään EDTA:a tai ACD:tä antikoagulanttina. Noudata näytteen keräysputken valmistajan antamia valmistelu- ja säilytysohjeita.
4. Seeruminäytteiden valmistelua varten tulee kerätä kokoverta SST-putkiin. Noudata näytteen keräysputken valmistajan antamia valmistelu- ja säilytysohjeita.
5. Näytteet voidaan testata ensisijaisissa keräysputkissa tai toissijaisissa näyteputkissa. Suositellut putket ensisijaisissa putkissa testaamiseen:
 - a. Plasmanäytteet: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD #368589) -putki tai BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799) -plasmanvalmisteluputki.
 - b. Seeruminäytteet: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD #367820) -putki tai BD Vacutainer SST™ Tube (BD #367988) -putki.
6. Valmisteltuja näytteitä voidaan säilyttää NeuMoDx System -järjestelmässä enintään 8 tuntia (plasmanäytteet) tai 24 tuntia (seeruminäytteet) ennen käsittelyä. Jos tarvitaan pidempi säilytysaika, on suositeltavaa asettaa näytteet joko jääkaappiin tai pakastimeen toissijaisina alikvotteina.

7. Valmisteltuja näytteitä saa säilyttää 2–8 °C:n lämpötilassa enintään 7 vuorokautta ennen testausta ja enintään 8 tuntia (plasmanäytteet) tai 24 tuntia (seeruminäytteet) huoneenlämmössä.
8. Valmisteltuja näytteitä voi säilyttää ≤ –20 °C:ssa korkeintaan 4 viikkoa (seeruminäytteet) tai 6 kuukautta (plasmanäytteet) ennen käsittelyä. Pakastetut näytteet saa pakastaa ja sulattaa korkeintaan 2 kertaa (plasmanäytteet) tai 4 kertaa (seeruminäytteet) ennen käyttöä.
 - a. Jos näytteet on pakastettu, niiden on annettava sulaa kokonaan huoneenlämmössä (15–30 °C). Vorteksoi näytteitä, jotta ne jakautuvat tasaisesti.
 - b. Kun pakastetut näytteet on sulatettu, testaus on tehtävä 24 tunnin sisällä.
 - c. Plasman/seerumin pakastamista ensisijaisissa putkissa ei suositella.
9. Jos näytteitä kuljetetaan, ne on pakattava ja merkittävä sovellettavien maakohtaisten ja/tai kansainvälisten säädösten mukaisesti.
10. Merkitse näytteet selvästi ja ilmoita, että näytteet ovat HBV-testaukseen.
11. Siirry *Testin valmistelut* -kohtaan.

NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen käyttöönottoprosessin yhteenveto on ohessa *kuvassa 1*.



Kuva 1: NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen käyttöönottoprosessin yhteenveto

KÄYTTÖOHJEET

Testin valmistelut

NeuMoDx HBV Quant Assay -määritys voidaan tehdä suoraan ensisijaisista verinäyteputkista tai toissijaisissa putkissa olevista näytealikoosteista. Käsittely aloitetaan valitsemalla toinen näytemäärien mukaan määritetyistä työkuluista—550 µl:n näytemäärän työkulku tai 200 µl:n näytemäärän työkulku. Kiinnitä näytteen viivakoodietiketti NeuMoDx System -järjestelmän kanssa yhteensopivaan näyteputkeen.

- Kiinnitä näytteen viivakoodietiketti NeuMoDx System -järjestelmän kanssa yhteensopivaan näyteputkeen. Ensisijainen verinäyteputki voidaan valmistajan ohjeiden mukaisen sentrifugissa käytön jälkeen merkitä ja asettaa suoraan 32-paikkaiseen näyteputkelineeseen. Vaihtoehtoisesti plasma-/seerumialikvootti voidaan siirtää toissijaiseen putkeen NeuMoDx System -järjestelmässä käsittelyä varten.
- Jos näyte testataan ensisijaisessa näyteputkessa, aseta viivakoodilla merkitty putki näyteputkelineeseen ja varmista, että korkki on poistettu ennen telineen asettamista NeuMoDx System -järjestelmään. Geeli-/valkosolukerroksen **yläpuolella** olevat vähimmäismäärät on ilmoitettu alla ja ne toteutuvat, jos näytteet kerätään ja käsitellään putken valmistajan ohjeiden mukaan. Määrittämisen suorituskyky ei taata virheellisesti otettujen näytteiden käsittelyssä.

Putkityyppi	Vaadittu vähimmäisnäytemäärä	
	550 µl:n työnkulkuk	200 µl:n työnkulkuk
SST – 3,5 ml	1 550 µl	1 200 µl
PPT/SST – 5,0 ml	1 800 µl	1 450 µl
PPT/SST – 8,5 ml	2 500 µl	2 200 µl
K ₂ EDTA/seerumi – 4,0 ml	1 050 µl	700 µl
K ₂ EDTA/seerumi – 6,0 ml	1 250 µl	900 µl
K ₂ EDTA/seerumi – 10,0 ml	1 600 µl	1 250 µl

- Jos testissä käytetään toissijaista putkea, siirrä plasma-/seerumialikvootti viivakooditarralla varustettuun NeuMoDx System -järjestelmän kanssa yhteensopivaan näyteputkeen. Täyttömäärät on esitetty alla:

Näyteputkeline	Putken koko	Vaadittu vähimmäisnäytemäärä	
		550 µl:n työnkulkuk	200 µl:n työnkulkuk
32 putken näyteputkeline	halkaisija 11–14 mm, korkeus 60–120 mm	700 µl	400 µl
24 putken näyteputkeline	halkaisija 14,5–18 mm, korkeus 60–120 mm	1 100 µl	800 µl
Low Volume Specimen Tube Carrier (Pienen tilavuuden näyteputkeline)	1,5 ml:n kartiomikrosentrifugiputki	650 µl	300 µl

NeuMoDx System -järjestelmän käyttö

Lisätietoja on NeuMoDx 288/96 Molecular System -järjestelmän käyttöoppaassa (os numerot 40600108 ja 40600317)

- Lataa testiliuska NeuMoDx System -järjestelmään halutun näytemäärän työnkulun ja näyteputkityypin mukaisesti:
 - 550 µl:n näytteet testataan määrittämällä näytetyypiksi **Plasma** tai **Serum** (Seerumi).
 - 200 µl:n näytteet testataan määrittämällä näytetyypiksi **Plasma2** tai **Serum2** (Seerumi2).
 - Plasma**-näytetyypille käytetään oletusasetuksena **Secondary Tube** (Toissijainen putki) -asetusta, jos testiliuksessa ei ole määritetty toisin.
- Aseta vähintään yhteen NeuMoDx System -järjestelmän testiliuskatelineeseen NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuskoja ja lisää testiliuskatelineet NeuMoDx System -järjestelmään kosketusnäytön avulla.
- Jos NeuMoDx System -järjestelmän ohjelma pyytää lisäämään tarvikkeita, lisää tarvittavat tarvikkeet NeuMoDx System -järjestelmän tarviketelineisiin ja lisää telineet NeuMoDx System -järjestelmään kosketusnäytön avulla.
- Jos NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmisto niin kehottaa, vaihda NeuMoDx Wash Reagent -pesureagenssi, NeuMoDx Release Reagent -irrotusreagenssi, tyhjä esitaytön jätte, biovaarallisen jätteen säiliö (vain NeuMoDx 288 Molecular System), kärkien jätteastia (vain NeuMoDx 96 Molecular System) tai biovaarallisen jätteen astia (vain NeuMoDx 96 Molecular System) kehotteen mukaan.
- Jos NeuMoDx System -järjestelmän ohjelman näyttöön tulee sitä koskeva kehote, käsittele NeuMoDx HBV Calibrator -kalibraattorit ja/tai NeuMoDx HBV External Control -kontrollit. Lisätietoa kalibraattoreista ja kontrolleista on *Tulosten käsittely* -osassa.
- Aseta näytteen/kalibraattorin/kontrollin putki/-putket näyteputkelineeseen ja varmista, että kaikkien putkien korkit on poistettu.
- Aseta näyteputkeline(et) automaattilataimen hyllylle ja lisää teline(et) NeuMoDx System -järjestelmään kosketusnäytön avulla. Tämä käynnistää lisättyjen näytteiden käsittelyn määritetyissä testeissä, kunhan järjestelmässä on voimassa oleva testiliuska.

RAJOITUKSET

1. NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuskaa voidaan käyttää vain NeuMoDx System -järjestelmissä.
2. NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuskan suorituskyky on määritetty plasmanäytteille, jotka on valmisteltu EDTA:ta/ACD:ta antikoagulanttina käyttäen, tai seeruminerotteluputkissa valmistetuille seeruminäytteille. NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuskan käyttöä muiden lähteiden kanssa ei ole arvioitu eikä niiden suorituskykyominaisuuksia muilla näytetyypeillä tunneta.
3. NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuskan suorituskykytietoja luotaessa on testauksessa käytetty BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tube -putkia, BD Vacutainer PPT Plasma Preparation Tube -putkia, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube -putkia ja BD Vacutainer SST Tube -putkia ensisijaisina putkina.
4. NeuMoDx HBV Quant Assay -määrittelyn havaitsemisrajassa ja kvantifioinnin alarajassa havaittiin pientä kasvua, kun käytettiin 200 µl:n näytemäärälle tarkoitettua työnkulkua.
5. NeuMoDx HBV Quant Assay -määrittelyä käytetään vain kvantitatiivisessa tarkkailussa. Sitä ei ole tarkoitettu kvalitatiiviseen tunnistamiseen.
6. NeuMoDx HBV Quant Assay -määrittelyä ei saa käyttää veren hyytymistä estäviä aineita saaneilta ihmisiltä otettujen näytteiden käsittelyyn.
7. Koska näytteessä olevien DNA-partikkelien määrä vaikuttaa HBV:n tunnistamiseen, näytteiden oikeanlainen kerääminen, käsittely ja säilytys vaikuttavat tulosten luotettavuuteen.
8. NeuMoDx HBV Calibrators -kalibraattorit ja ulkoiset NeuMoDx HBV External Controls -kontrollit on käsiteltävä pakkauselosteen ohjeiden ja NeuMoDx System -järjestelmän ohjelman kehotteiden mukaisesti ennen rutiininomaisten kliinisten näytteiden käsittelyä.
9. Näytteiden virheellinen ottaminen, käsittely, säilytys, tekninen virhe tai näyteputkien sekaantuminen voivat aiheuttaa virheellisiä testituloksia. Vääriä negatiivisia testituloksia voidaan saada myös silloin, kun näytteessä olevien virushiukkasten määrä on NeuMoDx HBV Quant Assay -määrittelyn tunnistusrajan alapuolella.
10. NeuMoDx System -järjestelmää saa käyttää ainoastaan NeuMoDx System -järjestelmän käyttökoulutusta saanut henkilöstö.
11. Jos sekä HBV-kohde tai SPC1-kohde eivät kumpikaan monistu, järjestelmä raportoi epäkelvollisen tuloksen (Indeterminate [Epäselvä], No Result [Ei tulosta] tai Unresolved [Ratkaisematon]), ja testi on toistettava.
12. Jos NeuMoDx HBV Quant Assay -määrittelyn tulos on Positive (Positiivinen), mutta kvantifiointiarvo on kvantifiointirajojen ulkopuolella, NeuMoDx System -järjestelmä raportoi, oliko havaittu HBV *alle* kvantifioinnin alarajan (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) vai *yli* kvantifioinnin ylärajan (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
13. Mikäli havaittu HBV oli *alle* LLoQ-ajan, määrittely voidaan toistaa (tarvittaessa) toisella näytealivoitilla.
14. Mikäli havaittu HBV oli *ylä* ULoQ-ajan, NeuMoDx HBV Quant Assay -määrittely voidaan toistaa laimennetulla alkuperäisellä näytealivoitilla. Laimennus HBV-negatiivisella plasmalla tai Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA) -liuoksella suhteessa 1:1 000 on suositeltavaa. Alkuperäisen näytteen pitoisuus voidaan laskea seuraavasti:

$$\text{alkuperäisen näytteen pitoisuus} = \log_{10}(\text{laimennuskerroin}) + \text{laimennetun näytteen ilmoitettu pitoisuus}$$
15. Ajoittainen PCR-estäjien esiintyminen plasmassa voi johtaa kvantifiointivirheeseen järjestelmässä. Jos näin käy, suositellaan testin toistamista samalla näytteellä, joka laimennetaan Basematrix-aineella suhteessa 1:10 tai 1:100.
16. Positiivinen tulos ei välttämättä tarkoita, että näytteessä on elinkelpoisia organismeja. Positiivinen tulos kuitenkin viittaa hepatiitti B-viruksen DNA:n todennäköiseen läsnäoloon.
17. NeuMoDx HBV Quant Assay -määrittelyn konservoituneiden kohdealueiden deleetit tai mutaatiot voivat vaikuttaa tunnistukseen tai johtaa virheelliseen tulokseen käytettäessä NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuskaa.
18. NeuMoDx HBV Quant Assay -määrittelyn tuloksia tulisi käyttää kliinisten havaintojen ja muiden lääkärin käytettävissä olevien tietojen ohella. Määrittelyä ei ole tarkoitettu infektion diagnosointiin.
19. Kontaminoitumisen välttäminen edellyttää hyvän laboratoriokäytännön noudattamista, kuten käsinäiden käyttämistä aina potilaiden näytteitä käsiteltäessä.

TULOSTEN KÄSITTELEMINEN

Tuloksia voidaan katsella ja tulostaa NeuMoDx System -järjestelmän kosketusnäytöstä, Results (Tulokset) -ikkunan Results (Tulokset) -välilehdestä. NeuMoDx System -järjestelmän ohjelma generoi NeuMoDx HBV Quant Assay -määrittelyn tulokset automaattisesti käyttämällä ratkaisualgoritmia ja NeuMoDx HBV Quant Assay -testin määrittelytiedoston (HBV ADF) sisältämiä käsittelyparametreja. Tulos voi olla Negative (Negatiivinen), Positive (Positiivinen) ja ilmoitettu HBV-pitoisuus, Positive (Positiivinen) ULoQ-ajan yläpuolella, Positive (Positiivinen) LLoQ-ajan alapuolella, Indeterminate (IND) (Epäselvä), Unresolved (UNR) (Ratkaisematon) tai No Result (NR) (Ei tulosta) kohteen monistustilan ja näytteen käsittelykontrollin perusteella. Tulokset raportoidaan ADF-ratkaisualgoritmin perusteella ja niistä on yhteenveto *taulukossa 1*.

Taulukko 1: HBV Quant Assay -määrityksen ratkaisualgoritmin yhteenveto

TULOS	HBV-kohde	Näytteen prosessikontrolli (Sample Process Control, SPC1)	Tulosten tulkinta
Positive (Positiivinen) ja raportoitu pitoisuus	Amplified (Monistettu) 0,9 ≤ [HBV] ≤ 9,0 log ₁₀ IU/ml (550 µl:n työnkulku) 1,4 ≤ [HBV] ≤ 9,0 log ₁₀ IU/ml (200 µl:n työnkulku)	Amplified (Monistettu) tai Not Amplified (Ei monistettu)	HBV:n DNA:ta havaittu kvantitatiivisen alueen puitteissa
Positive (Positiivinen), ULoQ-rajaa yläpuolella	Amplified (Monistettu) [HBV] > 9,0 log ₁₀ IU/ml	Amplified (Monistettu) tai Not Amplified (Ei monistettu)	HBV:n DNA:ta havaittu yli kvantitatiivisen rajan
Positive (Positiivinen), LLoQ-rajaa alapuolella	Amplified (Monistettu) [HBV] < 0,9 log ₁₀ IU/ml (550 µl:n työnkulku) [HBV] < 1,4 log ₁₀ IU/ml (200 µl:n työnkulku)	Amplified (Monistettu) tai Not Amplified (Ei monistettu)	HBV:n DNA:ta havaittu alle kvantitatiivisen rajan
Negative (Negatiivinen)	Not Amplified (Ei monistettu)	Amplified (Monistettu)	HBV:n DNA:ta ei havaittu
Indeterminate (Epäselvä)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Ei monistettu, järjestelmävirhe havaittu, näyte käsitelty)		Kaikki kohdetulokset olivat epäkelvoja; testaa näyte uudelleen†
No Result* (Ei tulosta)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Ei monistettu, järjestelmävirhe havaittu, näytteen käsittely keskeytetty)		Näytteen käsittely keskeytettiin, testaa näyte uudelleen†
Unresolved (Ratkaisematon)	Not Amplified, No System Error Detected (Ei monistettu, ei järjestelmävirhettä)		Kaikki kohdetulokset olivat epäkelvoja; testaa näyte uudelleen†

* No Result (Ei tulosta) -merkintä näkyy vain NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmistoversiossa 1.8 ja sitä uudemmissa versioissa

† NeuMoDx System -järjestelmässä on automaattinen Rerun (Uusinta-ajo) / Repeat (Toisto) -ominaisuus, jota käyttäjä voi päättää käyttäen varmistamaan, että IND (Epäselvä) / UNR (Ratkaisematon) / NR (Ei tulosta) -tulos käsitellään automaattisesti uudelleen tulosten raportoinnin viiveiden minimoimista varten.

Testilaskenta

- NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen kvantifiointialueella olevien näytteiden HBV DNA:n pitoisuus lasketaan käyttämällä tallennettua standardikäyrää ja kalibroitikerrointa sekä näytemäärää.
 - Kalibroitikerroin lasketaan käsiteltyjen NeuMoDx HBV Calibrators -kalibraattoreiden tulosten perusteella, jotta voidaan määrittää standardikäyrän validiteetti tietyn NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuskaerän osalta käytetyssä NeuMoDx System -järjestelmässä.
 - Kalibroitikerroin on sisällytetty HBV DNA:n pitoisuuden lopulliseen määritykseen.
 - NeuMoDx-ohjelmisto huomioi näytteen lähtömäärän määrittäessään HBV:n DNA:n pitoisuutta näytteen ml:a kohti.
- NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen tulokset ilmoitetaan arvoina log₁₀ IU/ml.
- Tuntemattomien näytteiden saatu kvantifointi on jäljitettävissä Maailman terveysjärjestön (World Health Organization, WHO)
- kansainväliseen HBV-standardiin.

Testin kalibrointi

Standardikäyrään perustuva validi kalibrointi vaaditaan näytteiden HBV:n DNA:n kvantifoinnissa. Hyväksyttävien tulosten saaminen edellyttää testikalibroinnin tekemistä NeuMoDx Molecular, Inc. -yhtiön toimittamilla ulkoisilla kalibraattoreilla.

kalibraattorit

- NeuMoDx HBV Calibrators -kalibraattorisetti on käsiteltävä kunkin uuden NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuskaerän yhteydessä tai jos uusi HBV Quant Assay -testin määritystiedosto ladataan NeuMoDx System -järjestelmään, jos nykyinen kalibraattorisetti on validiteettiajan (parhaillaan määritetty 90 päivään) ulkopuolella tai jos NeuMoDx System -järjestelmän ohjelmaa on muokattu.
- NeuMoDx System -järjestelmäohjelmisto ilmoittaa käyttäjälle, milloin kalibraattorit on käsiteltävä. Uutta testiliuskaerää ei voi käyttää testaamiseen, ennen kuin kalibraattorit on käsitelty onnistuneesti.

3. Kalibraation validiteetti määritetään seuraavasti:
 - a) Validiteetin määrittäminen edellyttää kahden kalibraattorin – yhden (1) korkean ja yhden (1) matalan – käsittelemistä.
 - b) Ainakin kahden (2) kolmesta (3) replikaatista täytyy tuottaa tuloksia, jotka ovat esimääritettyjen parametrien sisällä. Matalan kalibraattorin nimellinen tavoite on $3,7 \log_{10}$ IU/ml, ja korkean kalibraattorin nimellinen tavoite on $5,7 \log_{10}$ IU/ml.
 - c) Kalibrintikerroin lasketaan testiliuskaerien välistä odotettua vaihtelua varten. Tätä kalibrintikerrointa käytetään lopullisen HBV-pitoisuuden määrittämisessä.
4. Jos toinen tai molemmat kalibraattorit eivät läpäise validiteettitarkistusta, toista hylätyn kalibraattorin käsittely uudella putkella. Mikäli toisen kalibraattorin validiteettiä ei pystytä varmistamaan, on mahdollista toistaa vain tämän kalibraattorin testi, koska järjestelmä ei edellytä molempien kalibraattorien ajamista uudelleen.
5. Jos kalibraattori(t) eivät läpäise validiteettitarkistusta peräkkäisillä kerroilla, ota yhteyttä NeuMoDx Molecular, Inc. -yhtiöön.

Laadunvarmistus

Paikallisissa säädöksissä määritetään yleensä, että laboratorio vastaa sellaisten kontrollimenetelmien käytöstä, joilla valvotaan koko analysointiprosessin virheettömyyttä ja tarkkuutta. Laboratorion on määritettävä myös kontrollimateriaalien testauksen toistoväli, tyyppi ja määrä käyttämällä muuttamattoman, hyväksytyt testijärjestelmän verifioituja suoritustasotietoja.

Ulkoiset kontrollit

1. Positiivinen ja negatiivinen ulkoinen kontrolli on käsiteltävä aina 24 tunnin välein NeuMoDx HBV Quant Assay -määrittämisellä tehtävien testausten aikana. Jos hyväksytyt ulkoisten kontrollien tuloksia ei ole, NeuMoDx System -järjestelmäohjelmisto kehottaa käyttäjää käsittelemään kontrollit, ennen kuin näytteistä voidaan raportoida tuloksia.
2. NeuMoDx System arvioi ulkoisten kontrollien validiteetin odotetun tuloksen perusteella. Positiivisen kontrollin pitäisi antaa HBV Positive (Positiivinen) -tulos ja negatiivisen kontrollin HBV Negative (Negatiivinen) -tulos.
3. Ulkoisten kontrollien ristiriitaisia tuloksia on käsiteltävä seuraavasti:
 - a) Jos negatiivisella kontrollinäytteellä on raportissa Positive (Positiivinen) -testitulos, näyte voi olla kontaminoitunut.
 - b) Jos positiivisella kontrollinäytteellä on raportissa Negative (Negatiivinen) -testitulos, reagenssiin tai laitteeseen saattaa liittyä ongelmia.
 - c) Kummassakin tapauksessa tai jos tulokseksi saadaan Indeterminate (Epäselvä) (IND) tai No Result (Ei tulosta) (NR), siirrä kontrollit, joita ei voitu validoida, uusiin putkiin ja toista NeuMoDx HBV External Controls -kontrollien käsittelyä.
 - d) Jos positiivinen NeuMoDx HBV External Control -kontrolli tuottaa jatkuvasti negatiivisen tuloksen, ota yhteyttä NeuMoDx-yhtiön tekniseen asiakaspalveluun.
 - e) Jos negatiivinen NeuMoDx HBV External Control -kontrolli tuottaa jatkuvasti positiivisen tuloksen, yritä poistaa kaikki mahdollisen kontaminaation lähteet ja vaihda kaikki reagenssit, ennen kuin otat yhteyttä NeuMoDx-yhtiön tekniseen asiakaspalveluun.

Näytteen käsittelyn (sisäiset) kontrollit

Eksogeeninen näytteenkäsittelykontrolli (Sample Process Control 1, SPC1) sisältyy NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevyyn ja käy läpi koko prosessin nukleinihappojen eristyksestä reaaliaikaiseen PCR-monistukseen jokaisen näytteen osalta. SPC1-spesifiset alukkeet ja koettimet sisältyvät myös jokaiseen NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuskaan, mikä mahdollistaa SPC1:n ja kohde-HBV:n DNA:n (jos sitä on) tunnistuksen moninkertaisen PCR:n avulla. SPC1:n monistuksen tunnistuksen avulla NeuMoDx System -järjestelmä voi valvoa DNA:n eristämisen ja PCR:n monistamisprosessien tehokkuutta.

Epäkelvolliset tulokset

Jos NeuMoDx System -järjestelmällä tehdystä NeuMoDx HBV Quant Assay -testistä ei saada hyväksyttäviä tuloksia, sen kohdalla lukee raportissa Indeterminate (Epäselvä, IND), No Result (Ei tulosta, NR) tai Unresolved (Ratkaisematon, UNR) virhetyypin mukaan.

Raportissa on tuloksena IND (Epäselvä), jos NeuMoDx System -järjestelmä huomaa näytteen käsittelyn aikana järjestelmävirheen. Jos raportissa on IND (Epäselvä) -tulos, uusintatestausta suositellaan.

UNR (Ratkaisematon) -tulos saadaan, jos hyväksyttävää HBV:n DNA:tai SPC1:n monistusta ei havaita, mikä osoittaa mahdollisen reagenssivirheen tai häiritsevien aineiden läsnäolon. Jos raportissa on UNR (Ratkaisematon) -tulos, uusintatestausta suositellaan ensimmäisenä toimenä. Jos uusintatestaus epäonnistuu, näytteen inhibition vaikutuksia voidaan yrittää lieventää laimentamalla näytettä.

Jos NeuMoDx System -järjestelmällä tehty NeuMoDx HBV Quant Assay -määrittäminen ei tuota hyväksyttävää tulosta ja näytteen käsittely keskeytetään, ajon tulokseksi tulee No Result (Ei tulosta, NR). Jos raportissa on NR (Ei tulosta) -tulos, uusintatestausta suositellaan.

SUORITUSKYKYMINAISUUDET

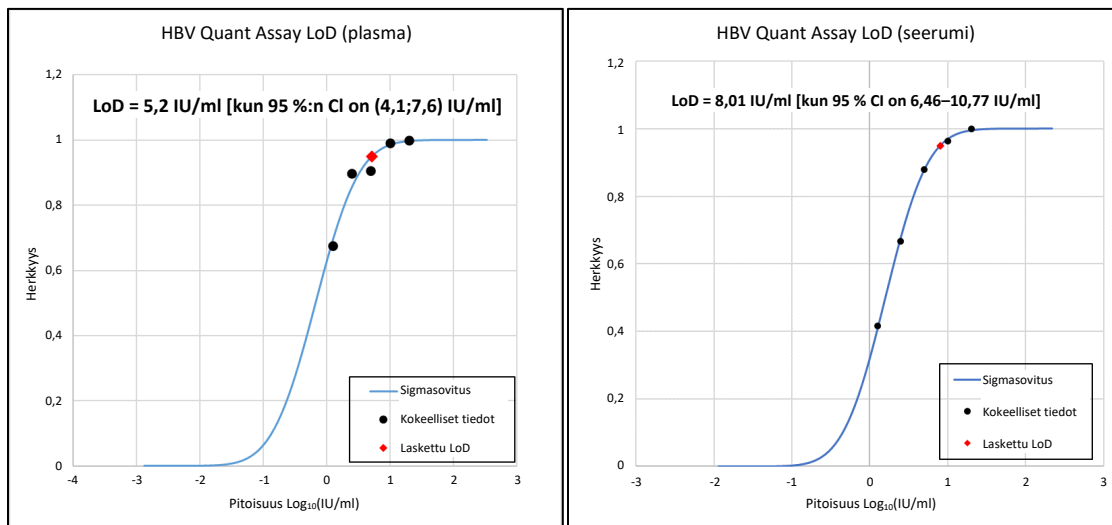
Analyttinen herkkyys – havaitsemisraja WHO:n standardin perusteella

NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen analyttinen herkkyys määritettiin testaamalla negatiivisia näytteitä ja WHO:n 4. kansainvälisen standardin mukaista laimennussarjaa seulottuun negatiiviseen ihmisen plasmassa ja seerumiin, jotta voitiin määrittää havaitsemisraja (Limit of Detection, LoD) NeuMoDx System -järjestelmissä. LoD:ksi määritettiin matalin kohdetaso, joka havaittiin 95-prosenttisesti Probit-tyyppisen analyysin mukaan. Tutkimus tehtiin kolmena päivänä useilla NeuMoDx System -järjestelmillä ja useilla NeuMoDx-reagenssierillä. NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen LoD 200 µl:n näytteen työkululle varmistettiin lisätutkimuksella. Molempien tutkimusten havaitsemisasteet on ilmoitettu taulukossa 2.

Taulukko 2: Positiivisten tulosten havaitsemisasteet LoD-ajan määrittämistä varten NeuMoDx HBV Quant Assay -testillä

	Tavoitepitoisuus [IU/ml]	Tavoitepitoisuus [\log_{10} IU/ml]	PLASMA			SEERUMI		
			Hyväksytyjen testien määrä	Positiivisten määrä	Havaitsemisaste	Hyväksytyjen testien määrä	Positiivisten määrä	Havaitsemisaste
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	Ei oleellinen	108	0	0 %	107	0	0 %
200 µl	25	1,40	43	43	100 %	44	44	100 %

NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen LoD:n HBV:n genotyyppi A (WHO:n 4. kansainvälinen standardi) plasmasta määritettiin olevan 5,2 IU/ml (95 %-n CI: 4,1–7,6 IU/ml) [(0,72 \log_{10} IU/ml) (95 %-n CI 0,61–0,88 \log_{10} IU/ml)] käyttämällä 550 µl:n näytemäärän työkulkua (kuva 2). NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen LoD:n seeruminäytteille määritettiin olevan 8,0 IU/ml (95 %-n CI: 6,5–10,8 IU/ml) [(0,9 \log_{10} IU/ml) (95 %-n CI 0,8–1,0 \log_{10} IU/ml)] käytettäessä 550 µl:n näytemäärän työkulkua (kuva 2).



Kuva 2: Probit-tyyppisellä analyysillä määritettiin NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen LoD plasmalle (vasen) ja seerumille (oikea)

Analyttinen herkkyys – kvantifointiraja – kvantifoinnin alaraja (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) WHO:n standardin mukaan

Kvantifoinnin alaraja (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) on määritelmän mukaan matalin kohdetaso, jolla > 95 %-n tunnistus saavutetaan JA TAE on $\leq 1,0$. LLoQ-ajan määrittämiseksi laskettiin analyttinen kokonaisvirhe (Total Analytical Error, TAE) kustakin HBV-kohdetasosta, jolla todettiin > 95 %-n tunnistaminen osana LoD-laskentaa. TAE:n määritelmä on seuraava:

$$TAE = \text{vinouma} + 2 * SD \quad [\text{Westgard-tilasto}]$$

Vinouma on lasketun ja odotetun pitoisuuden välinen ero absoluuttisena arvona. SD tarkoittaa näytteen kvantifioidun arvon keskiahajontaa.

Kootut tulokset WHO:n 4. kansainvälisen standardin mukaan toteutetussa LLoQ-tutkimuksessa käytetyille viidelle HBV-näytepitoisuudelle on esitetty taulukossa 3. WHO:n 4. kansainvälisen standardin mukaan määritetty LLoQ plasmanäytteille NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksessä (550 µl:n näytemäärän työkulku) on 5,5 IU/ml (0,74 \log_{10} IU/ml). LLoQ käytettäessä 200 µl:n näytemäärän työkulkua vahvistettiin lisätutkimuksella, jotka osoittivat LLoQ:n olevan 25 IU/ml. Tulokset ovat nähtävissä myös taulukossa 3.

NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen seeruminäytteiden LLoQ:n osoitettiin olevan 6,0 IU/ml käytettäessä 550 µl:n näytemäärän työnkulkua, ja 25 IU/ml pienen näytemäärän (200 µl) työnkulussa, kuten *taulukossa 3* on esitetty.

Taulukko 3: NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen LLoQ sekä vinouma ja TAE

	Tavoitepit. [IU/ml]	Tavoitepit. [log ₁₀ IU/ml]	Plasma					Seerumi				
			Keskimmääräinen pit. [log ₁₀ IU/ml]	Havaitsemisen (%)	SD	Vinouma	TAE	Keskimmääräinen pit. [log ₁₀ IU/ml]	Havaitsemisen (%)	SD	Vinouma	TAE
550 µl	20	1,30	1,29	100	0,23	0,16	0,63	1,43	100	0,20	0,13	0,52
	10	1,00	1,07	99	0,25	0,20	0,71	1,21	96	0,24	0,21	0,69
	5	0,70	0,89	91	0,35	0,34	1,04	1,00	88	0,40	0,30	1,09
	2,5	0,40	0,75	90	0,44	0,51	1,39	0,96	67	0,44	0,56	1,46
	1,25	0,10	0,73	68	0,41	0,68	1,50	0,95	42	0,38	0,85	1,61
200 µl	25	1,40	1,61	100	0,35	0,21	0,91	1,81	100	0,18	0,41	0,78

Analyttinen herkkyys – LoD ja LLoQ HBV-genotyypeissä

LoD määritettiin alun perin genotyypille A (4. WHO:n kansainvälinen standardi) ja sen jälkeen lisätestausta tehtiin määritetyn LoD:n ympärillä käyttämällä kaikkia muita seitsemää (7) genotyyppiä. 36 replikaattia tasoilla, jotka vastasivat 2 x, 1 x ja 0,5 x 95 %:n CI:tä LoD:n ylärajasta (~7 IU/ml), testattiin NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksellä käyttämällä plasmaa 550 µl:n näytemäärän työnkulkua. Kunkin genotyypin positiivisten tulosten prosenttiaste kullakin testatulla tasolla lisättiin taulukkoon ja arvojen avulla laskettiin LoD Probit-tyyppisellä analysilla.

Lisäksi laskettiin analyttinen kokonaisvirhe näillä tasoilla. Genotyypin LLoQ:arvoksi katsottiin jälleen matalin taso 95 %:n positiivisten tulosten tunnistuksella ja lasketun TAE:n ollessa ≤ 1,0. Eri genotyypeissä NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen havaitsemisrajan plasmanäytteissä käytettäessä 550 µl:n näytemäärän työnkulkua määritettiin olevan 6,2 IU/ml (0,79 log₁₀ IU/ml) ja LLoQ:n olevan 7,6 IU/ml (0,88 log₁₀ IU/ml), kuten *taulukossa 4* on esitetty.

Taulukko 4. Plasmalla testatut HBV-genotyypit käytettäessä 550 µl:n näytemäärän työnkulkua

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

Näiden tutkimusten tulosten perusteella NeuMoDx ilmoittaa **LoD:ksi ja LLoQ:ksi 25 IU/ml (1,4 log₁₀ IU/ml)** NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksessä **plasmalle ja seerumille** käytettäessä **200 µl:n näytemäärän työnkulkua**.

NeuMoDx ilmoittaa **LoD:ksi ja LLoQ:ksi 8,0 IU/ml (0,9 log₁₀ IU/ml)** NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksessä **plasmalle ja seerumille** käytettäessä **550 µl:n näytemäärän työnkulkua**.

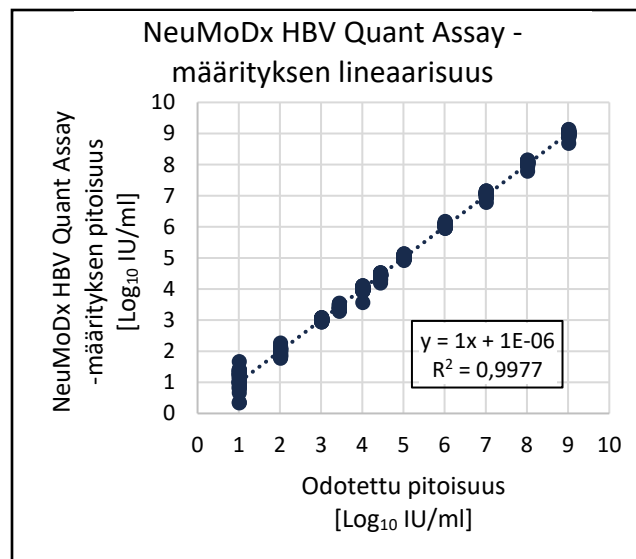
Analyttinen herkkyys– kvantifioinnin ylärajan (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) lineaarisuus ja määrittäminen

NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen lineaarisuus ja kvantifioinnin yläraja (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) määritettiin plasman osalta valmistelemalla laimennussarja erittäin positiivisia kliinisiä HBV-näytteitä (Access Biologicals, Vista, CA), jotka olivat jäljitettävissä WHO:n 4. kansainvälisen standardin mukaisesti. 11-osainen paneeli valmisteltiin yhdistetystä HBV-negatiivisesta plasmasta testauspaneeliksi, joka kattoi pitoisuusalueen 9,02–1,02 log₁₀ IU/ml. Testauspaneeli käsiteltiin 6 replikaattina jokaisella pitoisuustasolla kahdella NeuMoDx System -järjestelmällä ja kolmella kriittisellä reagenssierällä. NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen osalta osoitettiin sen kyky kvantifioida HBV:tä 8 log₁₀ -lineaarialueella (johon sisältyivät kriittiset lääketieteelliset päätöspisteet) poikkeamalla ± 0,22 log₁₀ IU/ml. Merkittävää etua ei saavutettu käyttämällä 2. ja 3. suuruusluokan regressiosovituksia. ULoQ määritettiin tämän tutkimuksen tietojen perusteella, ja arvoksi tuli 9,02 log₁₀ IU/ml [*Taulukko 5 ja Kuva 3*].

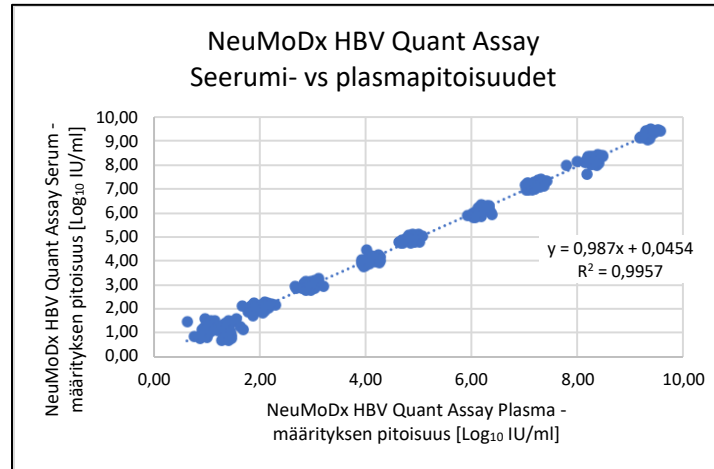
Taulukko 5: NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen lineaarisuus (arvoitu genotyypillä A)

Tavoitepit. (IU/ml)	Tavoitepit. (log ₁₀ IU/ml)	Keskim. pit. (log ₁₀ IU/ml)	Keskihajonta	Vinouma	Ennustettu lineaarisovitus	Poikkeama epälinearisesta sovituksesta
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

*Lähellä lääketieteellisiä päätöspisteitä


Kuva 3: NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen lineaarinen alue plasmassa

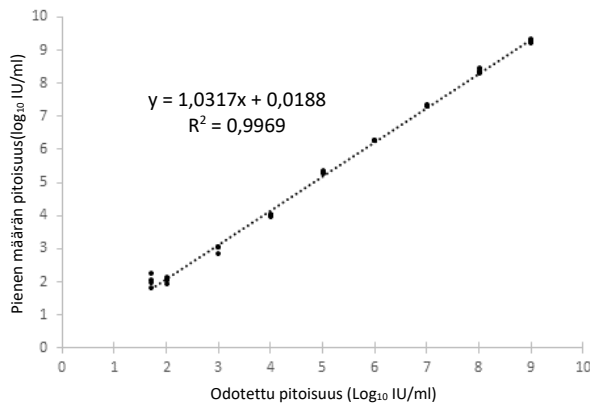
Matriisin ekvivalenssin osoittamiseksi tehtiin uusi tutkimus, ja analyysissä verrattiin NeuMoDx HBV:n kvantitatiivisia tuloksia plasmassa ja seerumissa valmisteltuihin näytteisiin käyttämällä kahta eri regressiosovitusmallia, MS Excelin regressiotyökalua ja Passing-Bablok -menetelmää. Tulokset osoittivat voimakkaan korrelaation, kun kulmakerron ja leikkauspistearvot olivat hyvin lähellä 1,00:ä ja 0,00:a ja R²-arvo oli 0,99 (MS Excelin regressiotyökalu) tai p-arvo 0,270 (Passing-Bablok). NeuMoDx System -järjestelmän raporttoimia HBV Quant Assay -määrityksen pitoisuuksia plasmamatriksille verrattiin vastaaviin seeruminäytteisiin. Tulokset on esitetty *kuvassa 4*.



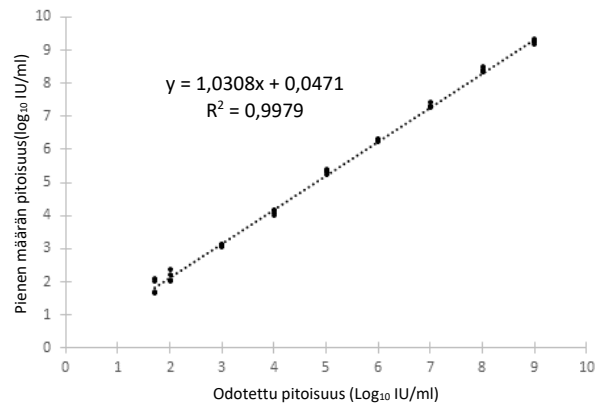
Kuva 4: NeuMoDx HBV Quant Assay -määrittymisen lineaarinen alue matriksien välillä

Tämän jälkeen lineaarisuus ja ULoQ vahvistettiin 200 µl:n näytemäärän työnkululle alueella 9,31–1,71 log₁₀ IU/ml. NeuMoDx-ohjelmiston 200 µl:n ja 550 µl:n näytemääriille raportoimille pitoisuuksille tehtiin ekvivalenssivertailu. Demingin ja Passing-Bablokin regressioanalyysit osoittivat erinomaisen korrelaation ja kulmakertoimen lähellä 1:tä sekä vähäisen leikkauksen (vinouma) sekä plasma- että seeruminäytteistä raportoituille pitoisuuksille koko lineaarisella alueella. Bland-Altman-vertailu 200 µl:n näytemäärän työnkulun raportoidun pitoisuuden ja sekä 200 µl:n että 550 µl:n näytemäärän työnkulkujen raportoidun keskipitoisuuden välillä osoitti vähäistä vinoumaa, jota pidettiin 200 µl:n työnkulun tulosten generointiin käytetyn algoritmin aiheuttamana. Lisäksi yksinkertainen lineaarinen regressio, jossa verrattiin odotettua pitoisuutta 200 µl:n työnkulun raportoitua pitoisuuteen, antoi tulokseksi kulmakertoimen lähellä 1:tä ja osoitti näin erinomaisen korrelaation [kuva 5]. Yhdessä nämä vertailut todistavat tarkan HBV:n kvantifioinnin NeuMoDx HBV Quant Assay -määrittymisen lineaarisella alueella 200 µl:n näytemäärän työnkulussa.

A Yksinkertainen lineaarinen regressio: plasmanäytteet



B Yksinkertainen lineaarinen regressio: seeruminäytteet



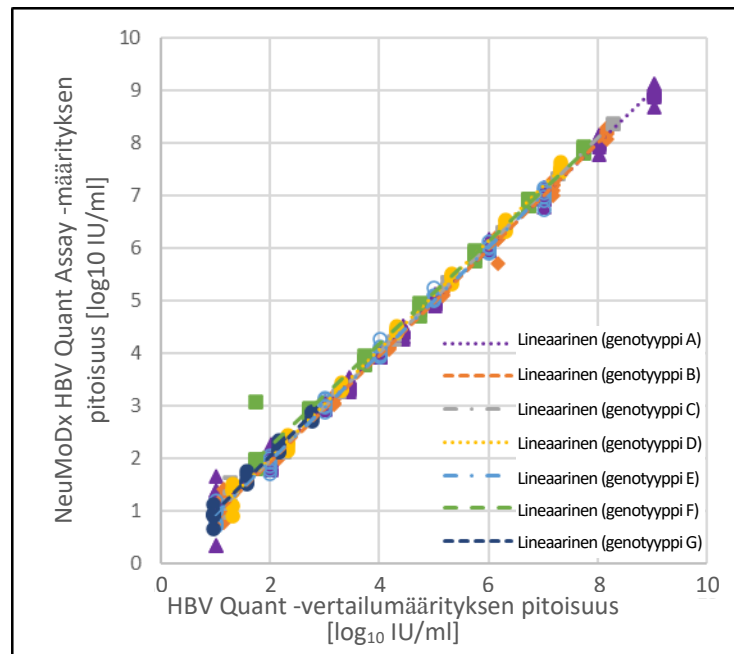
Kuva 5: Lineaarinen suhde odotetun pitoisuuden ja NeuMoDx-määrittymisen raportoimien pitoisuuksien välillä 200 µl:n työnkululle a) plasmassa b) seerumissa

Eri genotyyppien lineaarisuus

NeuMoDx HBV Quant Assay -määrittymisen lineaarisuutta HBV-genotyyppien osalta plasmanäytteissä tutkittiin testaamalla ainakin neljä (4) erilaista pitoisuutta kutakin HBV-genotyyppiä, jotka oli valmistettu yhdistetystä HBV-negatiivisesta plasmasta. Tässä tutkimuksessa käytetyt testatut HBV-tavoitetasot olivat riippuvaisia lähdennyttteen pitoisuudesta ja sen vuoksi ne olivat erilaisia eri genotyyppien osalta. Kukin genotyyppi testattiin kuudella (6) replikaatilla per taso. Lineaarisuus eri HBV-genotyypeissä on esitetty taulukossa 6 ja kuvassa 6.

Taulukko 6: NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen lineaarisuus eri genotyypeissä

Genotyyppi	Lineaarisuusyhtälö $y = \text{NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen kvantifiointi}$ $x = \text{odotettu kvantifiointi}$	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


Kuva 6: NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen lineaarisuus eri genotyypeissä

Analyttinen spesifisyys ja ristireaktiivisuus

Analyttinen spesifisyys määritettiin seulomalla 32:n yleisesti veri-/plasmanäytteistä löytyvän organismin sekä fylogeneettisesti HBV:n kaltaisten lajien ristireaktiiviteetti. Organismit valmisteltiin 4–6 organismin ryhmissä ja testattiin suurella pitoisuudella. Testatut organismit esitellään *taulukossa 7*. Ristireaktiiviteettia ei havaittu testattujen organismien osalta, mikä vahvisti NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen 100 prosentin analyttisen spesifisyyden.

Taulukko 7: Analyttisen spesifisyyden osoittamiseen käytetyt patogeenit – ristireaktiiviteetti

Adenovirus 2	Dengue V1	Hepatiitti A	HPV 16	Ilheus (ILHV)	Keltakuume
Adenovirus 5	Dengue V2	Hepatiitti C	HPV 18	Influenssa A	Zikavirus
Banzivirus	Dengue V3	Ihmisen herpesvirus 6a	HSV1	Parvo B19	
BK-virus	Dengue V4	Ihmisen herpesvirus 8	HSV 2	Rubella	
Sytomegalovirus	Epstein-Barr-virus	HIV 1	HTLV 1	St. Louisin enkefaliitti	
VZV	Vacciniavirus	HIV 2	HTLV 2	Länsi-Niilin virus	

Häiritsevät aineet – kommensaaliset organismit

NeuMoDx HBV Quant Assay arvioitiin häiriöiden varalta, kun näytteessä oli ei-kohdeorganismeja, käyttämällä samoja organismiryhmiä kuin analyttisen spesifisyyden testausta varten. Organismit testattiin joko yksittäin tai yhdistettynä 4–6 organismin ryhmiin seulotussa HBV-negatiivisessa plasmassa, johon oli lisätty HBV-kontrolleja pitoisuutena 3,7 log₁₀ IU/ml. Merkittäviä häiriöitä ei havaittu näiden kommensaalisten organismien läsnä ollessa, minkä osoitti minimaalinen kvantifointipoiikkeama kontrollinäytteistä, joissa häiritseviä aineita ei ollut (taulukko 8).

Taulukko 8: Häiriötestaus – kommensaaliset organismit

Ei-kohdeorganismit	Keskimääräinen pit. (log ₁₀ IU/ml)	Vinouma (log ₁₀ IU/ml)
Ryhmä 1 [BK-virus, Cytomegalovirus, Epstein Barr -virus, ihmisen herpesvirus 6a, ihmisen herpesvirus 8]	3,51	0,10
Ryhmä 2 [Adenovirus 2, Adenovirus 5, Dengue V2, Dengue V3, Dengue V4]	3,38	0,22
Ryhmä 3 [Parvo B19, HTLV 1, HTLV 2, Ilheus (ILHV), Keltakuume, Zikavirus]	3,62	0,06
Ryhmä 4 [HPV 16, HPV 18, HSV 1, HSV 2, Dengue V1]	3,57	0,04
Ryhmä 5 [St Louisin enkefaliitti, VZV, Vacciniavirus, Länsi-Niilin virus]	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
Rubella	3,16	0,44
Influenssa A	3,60	0,03
HCV	3,58	0,04

Häiritsevät aineet – endogeeniset ja eksogeeniset aineet

NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuskan suorituskyky arvioitiin sellaisten eksogeenisten ja endogeenisten häiritsevien aineiden läsnä ollessa, joita tyypillisesti löytyy kliinisistä HBV-plasmanäytteistä. Näitä olivat esimerkiksi epänormaalin suuret pitoisuudet veren komponentteja sekä yleiset antiviruseräkkeet, jotka on luokiteltu *taulukossa 9*. Oheisessa *taulukossa 10* luetellut kaikki endogeeniset ja eksogeeniset aineet lisättiin seulottuun HBV-negatiiviseen ihmisen plasmaan, johon oli lisätty 3,7 log₁₀ IU/ml HBV ja tietoja seurattiin häiriöiden varalta. Lisäksi hepatiitti B -infektioon liittyvät yleiset sairaustilat testattiin plasmasta mahdollisten häiriöiden varalta.

Taulukko 9: Häiriöiden testaus – eksogeeniset aineet (lääkeluokitukset)

Ryhmä	Lääke	Luokitus
1	Tsidovudiini (ZDV)	Käänteistranskriptaasin estäjä
	Sakinaviiri	HIV-proteasiinestäjä
	Ritonaviiri	HIV-proteasiinestäjä
	Klaritromysiini	Antibiootti
	Interferoni alfa-2a	Immuunimodulaattori
	Interferonialfa-2b	Immuunimodulaattori
2	Abakaviirisulfaatti	Käänteistranskriptaasin estäjä
	Amprenaviiri	Proteasiinestäjä
	Ribaviriini	Immuunimodulaattori
	Entekaviiri	HBV-antivirus
	Fluoksetiini	SSRI-masennuslääke
	Valasykloviirihiydrokloridi	Antiviruseräke
3	Tenofoviiridisoproksiili	HBV-/HIV-antiviruseräke
	Lamivudiini	HBV-/HIV-antiviruseräke
	Gansikloviiri	CMV-antiviruseräke
	Valgansikloviiri	CMV-antiviruseräke
	Nevirapiini	Käänteistranskriptaasin estäjä
4	Efavirentsi	Käänteistranskriptaasin estäjä
	Lopinaviiri	Proteasiinestäjä
	Enfuvirtidi	HIV-fuusion estäjä
	Siprofloksasiini	Antibiootti
	Paroksetiini	SSRI-masennuslääke
5	Adefoviiri (dipivoksiili)	Antiviruseräke
	Atsitromysiini	Antibiootti
	Indinaviirisulfaatti	HIV-proteasiinestäjä
	Sertraliini	SSRI-masennuslääke

Taulukko 10: Häiritsevien aineiden testaus – eksogeeniset ja endogeeniset aineet

Endogeeninen	Keskimääräinen pit. (log ₁₀ IU/ml)	Vinouma (log ₁₀ IU/ml)
Hemoglobiini	3,50	0,20
Triglyseridit	3,51	0,09
Bilirubiini	3,56	0,13
Albumiini	3,51	0,17
Eksogeeniset (lääkkeet)	Keskimääräinen pit. (log ₁₀ IU/ml)	Vinouma (log ₁₀ IU/ml)
Ryhmä 1: Tsidovudiini (ZDV), sakinaviiri, ritonaviiri, klaritromysiini, interferoni alfa-2a, interferoni alfa-2b	3,58	0,08
Ryhmä 2: Abakaviirisulfaatti, amprenaviiri, ribaviriini, entekaviiri, fluoksetiini, valasykloviirihydrokloridi	3,56	0,04
Ryhmä 3: Tenofoviiridisoproksiili, lamivudiini, gansikloviiri, valgansikloviiri, nevirapiini	3,59	0,06
Ryhmä 4: Efavirentsi, lopinaviiri, enfuvirtidi, siprofloksasiini, paroksetiini	3,60	0,07
Ryhmä 5: Adefoviiri (dipivoksiili), atsitromysiini, indinaviirisulfaatti, sertraliini	3,56	0,19
Sairaustila	Keskimääräinen pit. (log ₁₀ IU/ml)	Vinouma (log ₁₀ IU/ml)
Tumavasta-aine (Antinuclear Antibody, ANA)	3,61	0,10
Systeeminen lupus erythematosus (SLE)	3,63	0,10
Nivelreuma (RA)	3,57	0,09
HCV-vasta-aineet	3,58	0,07
HBV-vasta-aineet	3,64	0,11
Alkoholikirroosi	3,68	0,15
Reumatekijä (RF)	3,63	0,10
Ei-alkoholiperäinen steatohepatiitti (NASH)	3,49	0,06

Laboratorion tarkkuus

NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuskan tarkkuus määritettiin testaamalla 8-osainen paneeli HBV-näytteitä, jotka kattoivat genotyypit A ja C, käyttämällä kolmea NeuMoDx System -järjestelmää 12 päivänä. Ajon, päivän ja järjestelmän sisäiset tarkkuudet luokiteltiin, ja keskihajonta yhteensä oli $\leq 0,22 \log_{10}$ IU/ml. Käyttäjien välistä tarkkuutta ei luokiteltu, koska käyttäjällä ei ole merkittävää roolia näytteiden käsittelemisessä NeuMoDx System -järjestelmällä. Laboratorion sisäiset tarkkuustulokset on esitetty *taulukossa 11*.

Taulukko 11: Laboratorion sisäisen tarkkuuden tutkimustulokset

PANEELIN OSA	TAVOITEPIT. [Log ₁₀ IU/ml]	KESKIM. PIT. [Log ₁₀ IU/ml]	N	Vinouma	SD ajon sisällä	SD päivän sisällä	SD järjestelmän sisällä	SD yhteensä
Genotyyppi 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
Genotyyppi 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

Erienvälinen uusittavuus

NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuskan erienvälinen uusittavuus määritettiin käyttämällä kolmea eri avainreagenssierää – NeuMoDx Lysis Buffer 1 -lyysauspuskuria, NeuMoDx Extraction Plate -eristyslevyä ja NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuskaa. Suorituskyky arvioitiin HBV-genotyyppien A ja C 8-osaisella paneelilla. Testaus tehtiin käyttämällä kolmea reagenssierää kolmessa NeuMoDx System -järjestelmässä kuutena (6) päivänä. Erien sisäinen ja erienvälinen variaatio analysoitiin. Enimmäisvinouma oli yhteensä 0,12 log₁₀ IU/ml ja enimmäiskeskijajonta yhteensä 0,24 log₁₀ IU/ml. Merkittävää eroa ei havaittu suorituskyvyssä erien välillä, sillä kaikkien paneelin osien kvantifiointi oli toleranssimääritysten sisällä. Erienvälinen toistettavuus on esitetty ohessa *taulukossa 12*.

Taulukko 12: Erienvälisen toistettavuustutkimuksen tulokset

PANEELIN OSA	TAVOITEPIT. [log ₁₀ IU/ml]	KESKIM. PIT. [log ₁₀ IU/ml]	N	Vinouma	erän sisällä SD	erien sisällä SD	Yhteensä SD
Genotyyppi 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
Genotyyppi 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

Kontrollin teho

NeuMoDx HBV Quant Assay -määritykseen sisältyneen SPC1:n tehokkuus prosessivaiheen virheiden raportoinnissa tai NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen suorituskykyyn vaikuttava inhibiatio arvioitiin käyttämällä kahta yleistä HBV-genotyyppiä (A ja C). Testatut olosuhteet vastasivat prosessin kriittisten vaiheiden epäonnistumisia, joita voi tapahtua näytteenkäsittelyn aikana ja joita NeuMoDx System -järjestelmän toimintaa valvovat anturit *eivät välttämättä havaitse*. SPC1:n tehokkuus arvioitiin simuloimalla tällaiset virheolosuhteet. Prosessin epätehokkuuksia, joilla oli haitallinen vaikutus HBV:n havaitsemiseen/kvantifiointiin, heijasti SPC1-kohteen suorituskyky (estäjän läsnäolo ja Wash [Pesu] -vaiheen puute). Olosuhteissa, joissa vaikutusta SPC1:n monistukseen ei esiintynyt, HBV-kohteen osoitettiin monistuvan kontrollinäytteiden raportoidun kvantifiointin 0,2 log₁₀ IU/ml sisällä.

Taulukko 13: Näytteen prosessikontrollin tehokkuus

Prosessin vaiheen testattu virhe	Näytteen prosessikontrollin monistustila	HBV-kohteen monistustila	Määrittystulos
Presence of Inhibitor (Estäjän läsnäolo)	Not Amplified (Ei monistettu)	Not Amplified (Ei monistettu)	Unresolved (Ratkaisematon)
No Wash Delivered (Pesua ei tehty)	Not Amplified (Ei monistettu)	Not Amplified (Ei monistettu)	Unresolved (Ratkaisematon)
No Wash Blowout (Ei pesun tyhjennystä)	Amplified (Monistettu)	Amplified (Monistettu)	Positive (Positiivinen) ja kontrollin kvantifiointi arvon 0,2 log ₁₀ IU/ml sisällä

Ristikontaminaatio

NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen ristikontaminaatioaste määritettiin testaamalla kolme HBV-näyteryhmää, jotka sisälsivät vaihtelevasti erittäin positiivisia ja negatiivisia näytteitä. Tämä sisälsi yhteensä 144 normaalin, HBV-negatiivisen ihmisen EDTA-plasmanäytteen replikaattia ja 144 korkean titterin HBV-näyttereplikaattia, joiden konsentraatio oli 8,0 log₁₀ IU/ml. Negatiivisen näytteen kaikki 144 replikaattia olivat negatiivisia, mikä osoittaa, että ristikontaminaatiota ei tapahtunut NeuMoDx System -järjestelmässä näytteenkäsittelyn aikana.

Näytematriisin ekvivalenssi

Vastaavat plasmanäytteiden tulokset todennettiin testaamalla etyleenidiamiinitetraetikkahappoputkiin (EDTA-putki) ja happositraattidekstroosiputkiin (ACD-putki) otettuja näytteitä. Lisäksi testauksella todennettiin tuoreiden ja pakastettujen näytteiden välinen vastaavuus. 40 yksittäistä luovutettua näytettä (lähde BioIVT) kerättiin EDTA- ja ACD-putkiin. Näihin tuoreisiin näytteisiin lisättiin HBV-genotyyppiä A tai C neljänä tasona ja niiden vastaavuus testattiin. Näytteet pakastettiin tämän jälkeen vähintään 24 tunniksi, minkä jälkeen ne sulatettiin ja testattiin uudelleen. Erinomainen vastaavuus tuoreiden ja pakastettujen EDTA- ja ACD-näytteiden välillä todennettiin regressioanalyysillä.

Taulukko 14: Regressioanalyysi näytteen vastaavuustuloksista

Parametri [hyväksyntäkriteerit]	Tuore vs. pakastettu	ACD vs. K2EDTA
Kulmakerroin [0,9–1,1]	1,002	0,996
Leikkauspiste [< 0,5]	-0,031	0,018
Määrittyskerroin [$R^2 > 0,95$]	0,995	0,993

Lisätestauksella todennettiin NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen suorituskyvyn ekvivalenssi ensisijaisten ja toissijaisten näytteiden välillä. HBV-negatiivisista luovutetuista näytteistä, joihin oli lisätty HBV-kohdetta (AccuPlex™ HBV Control), koostuvat paneelit käsiteltiin ensin ensisijaisista näyteputkista. Kustakin näytteestä jäljelle jääneestä plasmasta tehtiin alikvootit toissijaisiin näyteputkiin, ja nämä alikvootit testattiin. Ensisijaisissa ja toissijaisissa näyteputkissa testattujen näytteiden tuloksissa ei havaittu merkitsevää eroa.

NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen tulosten vastaavuutta tuoreille ja pakastetuille näytteille arvioitiin paneelissa, joka muodostettiin yksittäisistä tuoreista luovuttajien seeruminäytteistä, joihin lisättiin HBV:tä koko määrityksen lineaarisen alueen kattavilla pitoisuuksilla. Tuoreiden näytteiden käsittelyn jälkeen seeruminäytteet pakastettiin vähintään 24 tunniksi -20 °C :seen. Pakastetut näytteet sulatettiin ja testattiin uudelleen. Lineaarinen vastaavuus identtisten tuoreiden ja pakastettujen näytteiden välillä arvioitiin sekä Passing-Bablok-menetelmällä että Demingin regressioanalyysillä. Passing-Bablokin regressioanalyysin p-arvo 0,329 (suurempi kuin 0,05) ja Demingin regressioanalyysin korrelaatiokerroin 0,989 todentavat erinomaisen vastaavuuden tuoreina ja pakastetusta sulatettujen näytteiden välillä. Tuoreiden ja pakastettujen näytteiden välinen vinouma määritettiin Bland-Altman-menetelmällä erittäin vähäpätöiseksi ($-0,002 \log_{10} \text{ IU/ml}$) ja tämä todistaa edelleen osaltaan tuoreiden ja pakastettujen näytteiden käsittelyn vastaavuutta. Lopuksi tuoreiden ja pakastettujen näytteiden välinen järjestelmän raportoimien HBV-pitoisuuksien ja odotettujen pitoisuuksien väliset korrelaatiot määritettiin yksinkertaisella lineaarisella regressiolla, jolloin R^2 arvoiksi saatiin 0,991 (järjestelmän raportoima pitoisuus) ja 0,985 (odotettu pitoisuus).

Näytteen stabiilitetti

HBV-negatiivisiin EDTA-plasmanäytteisiin ja seeruminäytteisiin lisättiin HBV:tä $3,7 \log_{10} \text{ IU/ml}$, ja näitä näytteitä säilytettiin NeuMoDx System -järjestelmässä ja ne testattiin eri ajankohtina: välittömästi (0-ajankohta), 4 tunnin kuluttua, 8 tunnin kuluttua ja 24 tunnin kuluttua. Eri ajankohtien välisessä määrityksen tehokkuudessa ei havaittu merkittävää eroa, mikä osoittaa, että näytteet voidaan asettaa NeuMoDx System -järjestelmään korkeintaan 24 tunniksi ilman vaikutuksia määrityksen suorituskykyyn.

Samankaltainen testaus tehtiin myös plasma- ja seeruminäytteille, joita säilytettiin laboratorion jääkaapissa (lämpötilassa $2-8\text{ °C}$) enintään 7 päivää ennen testausta, ja merkittävää eroa suorituskyvyssä ei havaittu.

Lopuksi testattiin näytteet, joita säilytettiin $\leq -20\text{ °C}$:n lämpötilassa enintään 6 kuukautta (plasma) tai enintään 4 kuukautta (seerumi) ennen käsittelyä, ja niissä ei esiintynyt merkittäviä eroja verrattuna tuoreisiin näytteisiin. Pakastus-sulatusjakso toistettiin, eikä siinä esiintynyt suorituskyky muutoksia 2 pakastus-/sulatusjakson (plasma) tai 4 pakastus-/sulatusjakson (seerumi) jälkeen.

Menetelmän korrelaatio

Plasma-näytteet

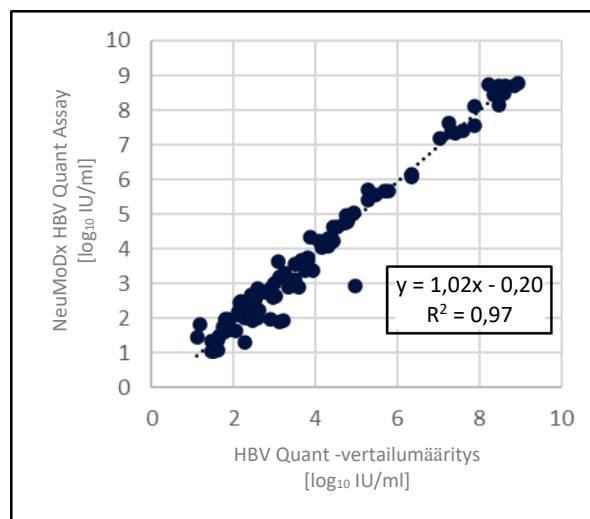
NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen kvalitatiivinen ja kvantitatiivinen suorituskyky arvioitiin vertaamalla FDA:n hyväksymään / CE-hyväksytyyn vertailumääritykseen testaamalla laimentamattomia kliinisiä plasmanäytteitä HBV-infektoituneilta potilailta. Testaus tehtiin sisäisesti NeuMoDx-yhtiön tiloissa yksöissokkoutetulla tutkimuksella, jossa käytettiin kolmesta erillisestä vertailulaboratoriosta saatuja kliinisiä näytteitä. Yhteensä 308 HBV-positiivisen ja -negatiivisen näytteen tulokset kerättiin kvalitatiiviseen analyysiin, jotta voitiin laskea NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen kliininen herkkyys ja spesifisyys. Kvalitatiivinen analyysi tehtiin niin, että alle LLoQ-arvon olevat positiiviset näytteet otettiin mukaan ja ilman niitä, koska näin heikosti positiivisten näytteiden luokitus voi vaihdella testien välillä. Yhteensä 97 HBV-positiivista kliinistä näytettä molempien testien yhteisellä lineaarisella alueella käytettiin pohjana lineaarisen regression luomisessa kvantitatiivisen suorituskyvyn määrittämistä varten. Erinomaisen herkkyyden ja spesifisyyden lisäksi NeuMoDx HBV Quant Test Strip -testiliuskalla oli erinomainen kvantitatiivinen korrelaatio vertailumäärityksen kanssa. Näiden tulosten perusteella NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen herkkyyden arvioitiin olevan 100 % (CI 96,4–100 %) ja spesifisyyden 95,6 % (CI 91,9–97,7 %). Nämä 95 %:n luottamusvälit laskettiin käyttämällä 95 %:n pisteen luottamusvälimenetelmää julkaisun EP12-A2, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, Approved Guideline, Vol 28, No 3, mukaisesti.⁶

Taulukko 15: NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen kliinisen herkkyyden ja spesifisyyden metriikka plasmanäytteille NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmällä

	Vertailumääritys (POS)	Vertailumääritys (NEG)	YHTEENSÄ
NeuMoDx HBV Quant Assay -määritys (POS)	103	9	112
NeuMoDx HBV Quant Assay -määritys (NEG)	0	196	196
YHTEENSÄ	103	205	308
HERKKYYS = 100 % 95 %-n CI (96,4–100 %) SPESIFISYYS = 95,6 % 95 %-n CI (91,9–97,7 %)			

Taulukko 16: NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen kliininen herkkyys ja spesifisyys NeuMoDx 288 Molecular System -järjestelmällä, kun plasmanäytteiden < LLoQ:n oli jätetty pois

	Vertailumääritys (POS)	Vertailumääritys (NEG)	YHTEENSÄ
NeuMoDx HBV Quant Assay -määritys (POS)	99	5	104
NeuMoDx HBV Quant Assay -määritys (NEG)	0	196	196
YHTEENSÄ	99	201	300
HERKKYYS = 100 % 95 %-n CI (96,3–100 %) SPESIFISYYS = 97,5 % 95 %-n CI (94,3–98,9 %)			



Kuva 7: Kvantitatiivinen menetelmänkorjaustutkimus NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksellä

NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmällä tehtiin lisätestausta 159 kliinisellä jäännösplasmanäytteellä. Kuten aiemmassa NeuMoDx 288 -järjestelmässä tehdyssä testauksessa, NeuMoDx 96 -järjestelmällä saatuja tuloksia verrattiin FDA:n hyväksymiin ja /tai CE-merkittyihin määrityksiin, joita lähdelaboratoriot käyttivät testauksen hoitovakiona. Tulokset sekä totuustaulukko ja kliininen herkkyys ja spesifisyys on esitetty 95 %-n luottamusväleillä *taulukossa 17*.

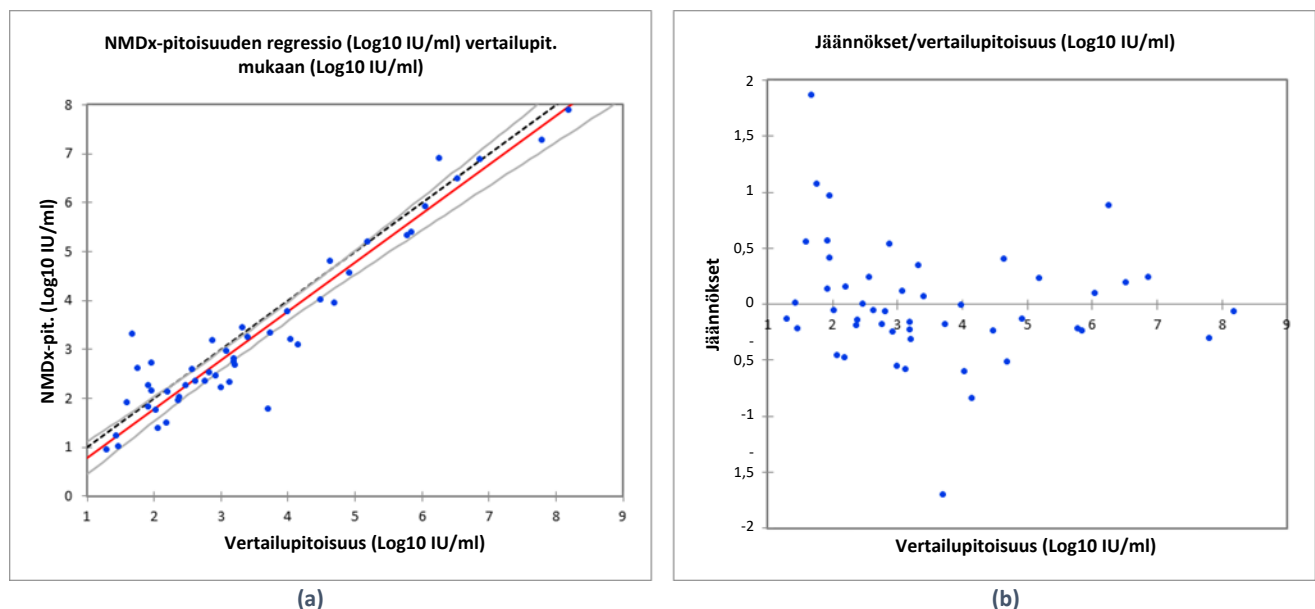
Taulukko 17: Kliinisen suorituskyvyn yhteenveto – NeuMoDx HBV Quant Assay -määritys NeuMoDx 96 Molecular System -järjestelmässä

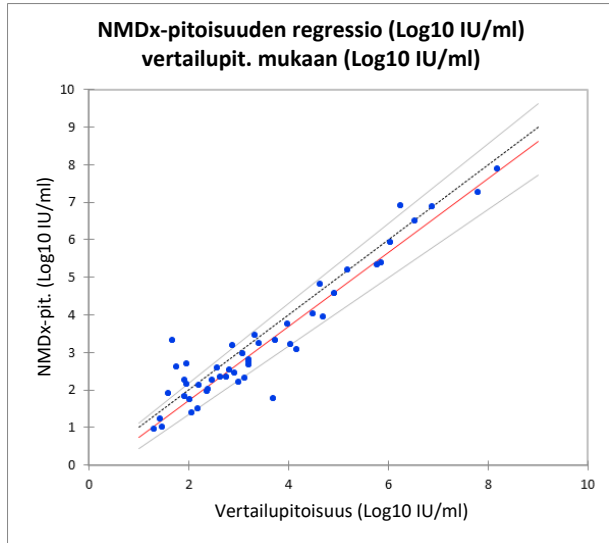
	Vertailumääritys (POS)	Vertailumääritys (NEG)	YHTEENSÄ
NeuMoDx HBV Quant Assay -määritys (POS)	60	2	62
NeuMoDx HBV Quant Assay -määritys (NEG)	1	95	96
YHTEENSÄ	61	97	158
HERKKYYS = 98 % 95 %:n CI (90–100 %)			
SPESIFISYYS = 98 % 95 %:n CI (92–100 %)			

Seeruminäytteet

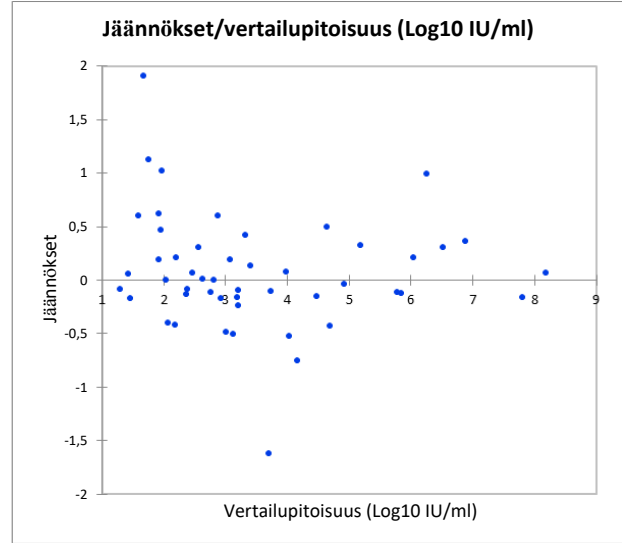
NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen kvantitatiivinen suorituskyky arvioitiin vertaamalla sitä FDA:n hyväksymään / CE-hyväksytyyn vertailumääritykseen testaamalla nimettömiksi tehtyjä HBV-infektioituneilta potilailta kerättyjen HBV-positiivisten seeruminäytteiden jäännöksiä. Yhteensä 66 kliinisesti HBV-positiiviseksi tiettyä seeruminäytettä saatiin kahdelta erilliseltä vertailulaboratoriolta, ja ne testattiin NeuMoDx-yrityksessä NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksellä. Testatuista positiiviseksi tiedetyistä näytteistä 58 tunnistettiin positiiviseksi tuloksin, joista yhdeksän (9) oli NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen ja/tai vertailumäärityksen LLoQ:n alapuolella ja ULoQ:n yläpuolella. Yhteensä 49 HBV-positiivista kliinistä näytettä molempien testien yhteiseltä lineaariselta alueelta käytettiin pohjana kvantitatiivisen suorituskyvyn määrittämisen regressioanalyyseissä.

Generoiduilla ekvivalenssi- ja jäännekyrillä esitettiin korrelaatio NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen pitoisuuksien ja vertailutestien pitoisuusarvojen välillä kaikkien testattujen näytteiden osalta käyttämällä Deming- ja Passing-Bablok-regressioanalyysejä. Ne on esitetty kuvissa 8 ja 9. Deming-regressiosovituksen laatu on esitetty kulmakertoimella 0,99 ja 95 %:n CI:llä (0,93; 1,07) ja poikkileikkauksella (vinoumalla) –0,22 95 %:n CI:llä (–0,56; 0,12), mikä osoittaa, että NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksellä ja vertailutesteillä saadut pitoisuustulokset ovat erittäin korreloivia ja hyväksyttävän vinouman sisällä. Passing-Bablok -linearisovituksen laatu on esitetty kulmakertoimella 0,99 ja 95 %:n CI:llä (0,91; 1,06) ja poikkileikkauksella (vinoumalla) –0,25 95 %:n CI:llä (–0,48; 0,06), mikä osoittaa, että NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksellä ja vertailutesteillä saadut pitoisuustulokset ovat erittäin korreloivia ja hyväksyttävän vinouman sisällä, kuten *taulukossa 18* on esitetty.


Kuva 8: Ekvivalenssin (a) ja jäänösten (b) kuvaajat – NeuMoDx HBV -testin ja vertailumäärityksen vertailun kumulatiivinen analyysi – Demingin analyysi.



(a)



(b)

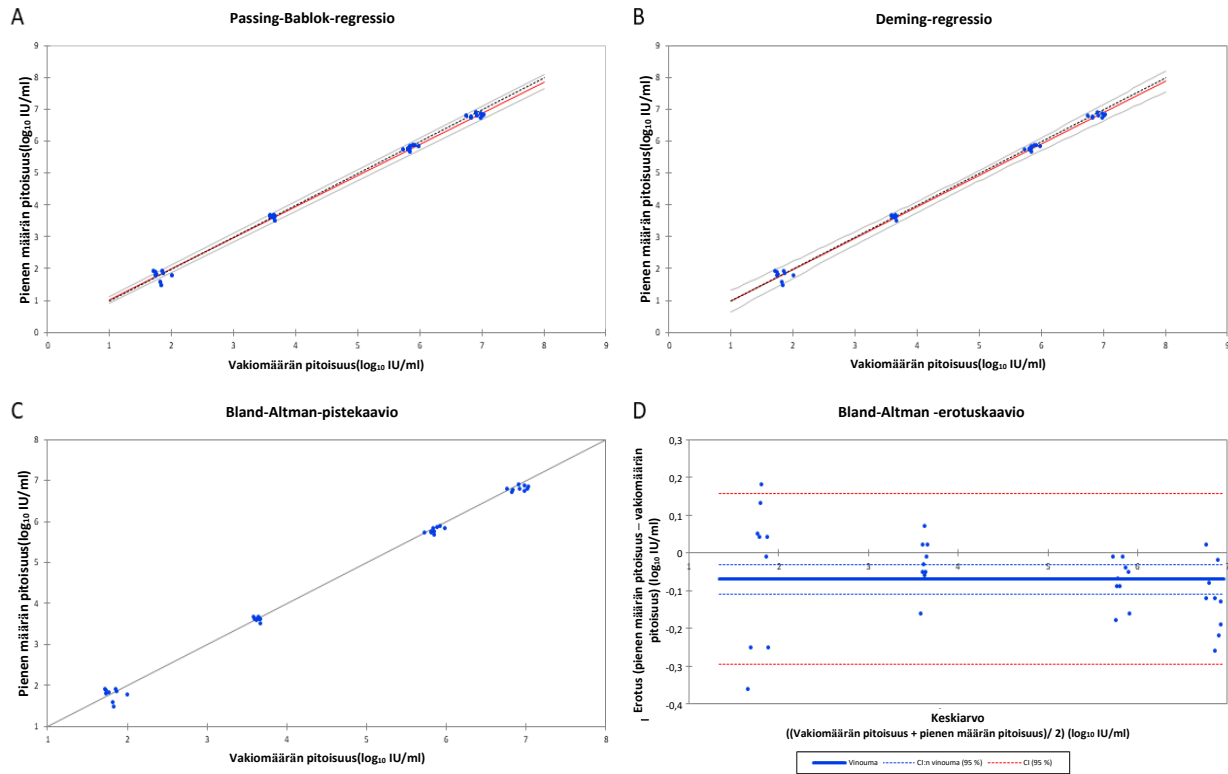
Kuva 9: Ekvivalenssin (a) ja jäännösten (b) kuvaajat – NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen ja vertailumäärityksen vertailun kumulatiivinen analyysi – Passing-Bablokin analyysi.

Taulukko 18. Demingin ja Passing-Bablokin lineaarisen regressioanalyysin yhteenveto: seeruminäytteet

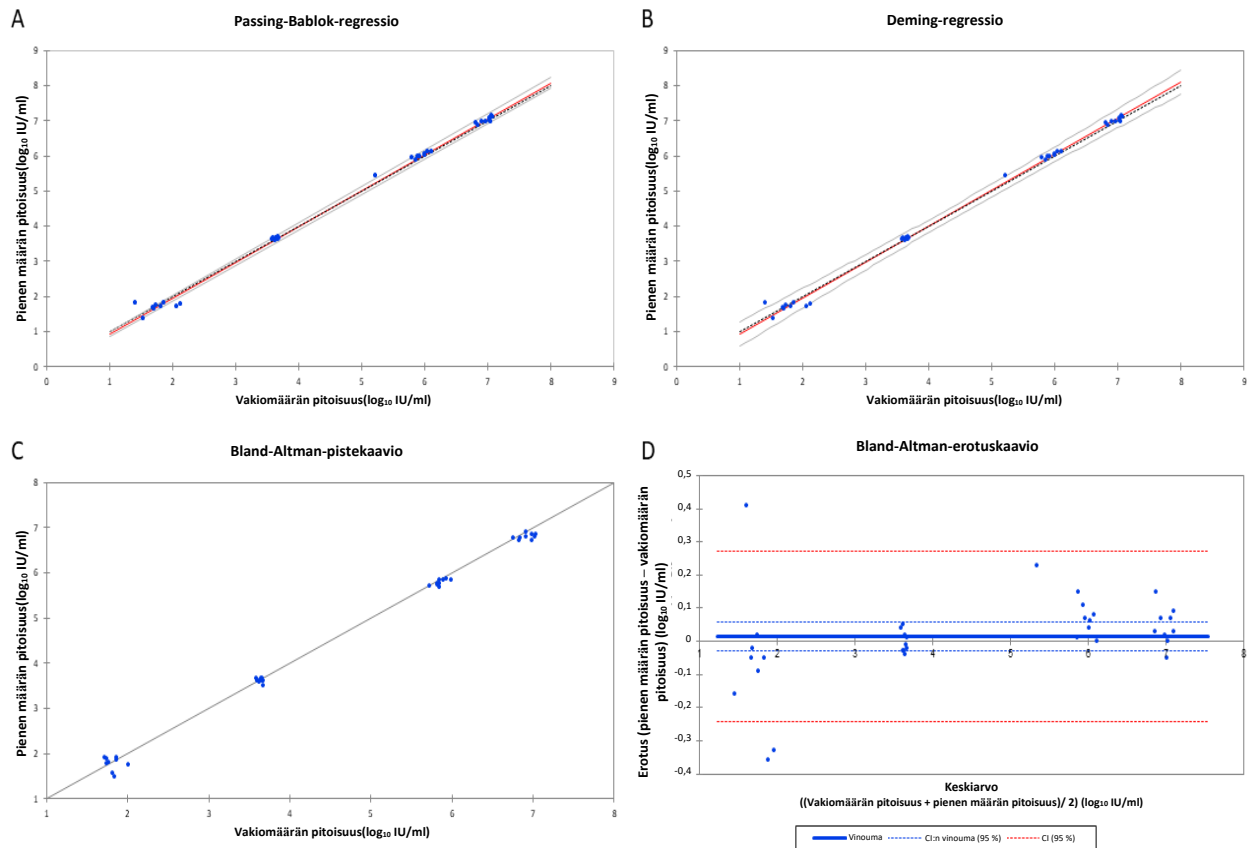
Deming-analyysi			Passing-Bablok-analyysi		
Leikkaus	Kulmakerroin	R2	Leikkaus	Kulmakerroin	p-arvo
-0,22 95 %:n CI (-0,56; 0,12)	0,99 95 %:n CI (0,93; 1,07)	0,95	-0,25 95 %:n CI (-0,48; 0,06)	0,99 95 %:n CI (0,91; 1,06)	0,89

Keinotekoisien näytteiden testaus – 200 µl:n näytemäärän työnkulku

Kvantitatiivinen korrelaatio 200 µl:n ja 550 µl:n näytemäärien työnkulkujen välillä vahvistettiin käyttämällä paneelia, johon sisältyi yksittäisiä HBV-negatiivisia plasma- ja seeruminäytteitä, joihin lisättiin neljällä tunnetulla tasolla HBV-kontrollimateriaalia (jäljitettävissä WHO:n HBV DNA -nukleiinihappotestauksesta annetun 4. kansainvälisen standardin mukaisesti). Nämä yksittäiset plasma- ja seeruminäytteet käsiteltiin sekä 550 µl:n että 200 µl:n näytemäärien työnkulussa, yhteensä 288 testiä tehtiin. NeuMoDx -ohjelmiston raportoima pitoisuuksien vastaavuusvertailu 200 µl:n ja 550 µl:n näytemäärien työnkuluille tehtiin tälle keinotekoiselle paneelille yksittäisiin näytteisiin perustuen. Demingin ja Passing-Bablokin regressioanalyysin kulmakertoimet olivat 0,985 ja 0,998 poikkileikkauksilla -0,001 ja 0,053 plasmanäytteille ja vastaavasti 1,024 ja 1,018 poikkileikkauksilla 0,095 ja 0,070 seeruminäytteille. Nämä tulokset osoittavat käsiteltävien näytemäärien HBV-kuantifioinnin erinomaisen yhtäpitävyyden. Bland-Altman -vertailu paljasti työnkulkujen välillä olevan erittäin pienen vinouman. Lisäksi yksinkertaisissa lineaarisissa regressioanalyysissä 200 µl:n työnkulun kulmakerroin oli 1,047 ja korrelaatiokerroin 0,998 plasmalle. Vastaavat arvot seerumille olivat 1,113 ja 0,992. Nämä tulokset tukevat entisestään havaintoa NeuMoDx HBV Quant Assay -määrityksen erinomaisesta suorituskyvystä 200 µl:n näytemäärän työnkululle. Näiden tutkimusten tulokset on koottu yhteen alla (kuva 10 ja kuva 11).



Kuva 10: Vastaavuuskaavioiden vertailu: pienen määrän raportoitu pitoisuus vrt. vakiomäärän raportoitu pitoisuus. A) Passing-Bablok-regressio. B) Deming-regressio. C) Bland-Altman-pistekaavio D) Bland-Altman-erotuskaavio – plasmanäytteet



Kuva 11: Vastaavuuskaavioiden vertailu: pienen määrän raportoitu pitoisuus vrt. vakiomäärän raportoitu pitoisuus. A) Passing-Bablok-regressio. B) Deming-regressio. C) Bland-Altman-pistekaavio D) Bland-Altman-erotuskaavio – seeruminäytteet

LÄHDEVIITTEET









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.

TAVARAMERKIT

NeuMoDx™ on NeuMoDx Molecular, Inc:n tavaramerkki.
 NeuDry™ on NeuMoDx Molecular, Inc:n tavaramerkki.
 TaqMan® on Roche Molecular Systems, Inc:n rekisteröity tavaramerkki.

Kaikki muut tuotenimet, tavaramerkit ja rekisteröidyt tavaramerkit, joita mahdollisesti tässä asiakirjassa mainitaan, ovat omien omistajiensa omaisuutta.

SYMBOLIEN SELITYKSET

R only	Vain lääkärin määräyksestä		Lämpötilarajoitus
	Valmistaja		Ei saa käyttää uudelleen
IVD	<i>In vitro</i> -diagnostinen lääkinällinen laite		Sisältö riittää <n> testiin
EC REP	Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä		Lue käyttöohjeet
REF	Luettelonumero		Huomio
LOT	Eräkoodi		Biologiset vaarat
	Viimeinen käyttöpäivämäärä	CE	CE-merkki



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

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



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

CE 2797

Tekninen tuki / haittatapahtumaraportointi: support@qiagen.com

Patentti: www.neumodx.com/patents