

REF 201300 NeuMoDx™ HBV Quant Test Strip**R only**

ETTEVAATUST. Ainult USA ekspordiks

IVD Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas koos seadmetega NeuMoDx 288 ja NeuMoDx 96 Molecular SystemVärskenduste sisestamiseks minge aadressile: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadme NeuMoDx 288 Molecular System käsiraamatut; tootekood 40600108

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadme NeuMoDx 96 Molecular System käsiraamatut; tootekood 40600317

SIHTOTSTARVE

Analüüs NeuMoDx HBV Quant Assay on automatiseeritud, *in vitro* nukleiinhapete amplifitseerimise analüüs C-hepatiidi viiruse (Hepatitis B virus, HBV) DNA kvantifitseerimiseks inimese plasma- ja seerumiproovides HBV-infektsiooniga indiviidide HBV genotüüpidega A kuni H korral. Kasutatuna seadmel NeuMoDx 288 Molecular System või NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)) võimaldab analüüs NeuMoDx HBV Quant Assay automatiseeritud DNA ekstraheerimist, et isoleerida proovidest sihtnukleiinhapped, ning reaalaajas polümeraasi ahelreaktsiooni (qPCR), et sihtida B-hepatiidi viiruse genoomis kõrgkonserveerunud järjestusi.

Analüüs NeuMoDx HBV Quant Assay on kasutamiseks abivahendina HBV-infektsiooniga patsientide käsitlemisel. Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay tulemusi tuleb tõlgendada oluliste kliiniliste ja laboratoorsete leidude kontekstis. Analüüs NeuMoDx HBV Quant Assay ei ole ette nähtud vere või veretoodete skriinimiseks ega diagnostilise vahendina HBV infektsiooni kliinilise seisundi diagnoosimiseks.

KOKKUVÕTE JA SELGITUSED

Plasmaproovide ettevalmistamiseks võib kasutada inimese täisverd, mis on kogutud steriilsetesse vere kogumise katsutitesse, milles on antikoagulantina kas etüleendiamiintetraäädikhape (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) või happeline tsitraatdextröös (acid citrate-dextrose, ACD), või plasma ettevalmistamise katsutitesse (plasma preparation tubes, PPT), samas kui seerum tuleks koguda seerumi kogumise või eraldamise katsutitesse (serum separator tubes, SST). Testimiseks ettevalmistamiseks laaditakse seadmega NeuMoDx System ühilduvas sekundaarses proovikatsutis olev plasma või seerum või esmases proovikatsutis olev verefraktsioon seadmesse NeuMoDx System selleks ettenähtud proovikatsuti kandja abil. Iga proovi jaoks segatakse plasma- või seerumiproovi alikvooti lüüsimispuhvriga NeuMoDx Lysis Buffer 1 ja seade NeuMoDx System teostab automaatselt kõik vajalikud etapid sihtnukleiinhapete ekstraheerimiseks, isoleeritud DNA reaalaaja PCR-i amplifikatsiooniks ettevalmistamiseks ning vajadusel amplifitseerib ja tuvastab amplifikatsiooniproduktid (HBV sihtgenoomi kõrgkonserveeritud piirkonna osad, mis kodeerivad *X valku* ja *preC valku*). Analüüs NeuMoDx HBV Quant Assay sisaldab DNA proovi töötlemise kontrolli (Sample Process Control, SPC1), et aidata jälgida võimalikke inhibeerivaid aineid ja ka süsteemi NeuMoDx System või reaktiivi tõrkeid, mis võivad ekstraheerimise ja amplifitseerimise protsessi käigus esineda.

B-hepatiidi viirus (HBV) on maksahaiguse B-hepatiit põhjustaja ning ülemaailmne terviseprobleem. B-hepatiit võib põhjustada kas ägedat hepatiiti või süveneda krooniliseks seisundiks, millega kaasneb tsirroos või maksavähk. Kroonilise seisundi tekke risk on peamiselt sõltuvuses east; kui viirus kandub edasi sünniga, on kroonilise seisundi tekke tõenäosus > 90%, samal ajal kui täiskasvanuna nakatunud on kroonilise seisundi tekke tõenäosus 2–6%.¹ HBV levib kas kokkupuute korral nakatunu verrega, sugulisel teel, jagades nakatunuga uimasti intravenoosel manustamisel nõela või vertikaalsel ülekandel emalt lapsele sünnitamise ajal. Ameerika Ühendriikides elab ligikaudu 850 000 inimest HBV infektsiooniga ja enamik uusi nakkusi saadakse sugulisel teel või uimasti süstimise teel.² Aafrikas ja Vaikse ookeani lääneosas on teadaolevalt nakatunud tervelt 5% elanikkonnast. Ülemaailmselt põhjustas HBV infektsioon 2015. aastal 885 000 surma, millest enamik tsirroosi või hepatotsellulaarse kartsinoomi tõttu.³ On olemas vaktsiin, mille efektiivsus HBV infektsiooni ennetamisel 95%, mis vähendab igal aastal kaasa diagnoositud juhtumite arvu.⁴

HBV infektsiooni ravimise praegune ravistandard on viirusevastane ravi, mis vajab pidevat jälgimist, et tagada ravi soovitud areng. Ravi jälgimine analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay abil annab arstidele HBV infektsiooniga patsientide käsitlemise hõlbustamiseks vajalikku teavet.

PROTSEDUURI PÕHIMÕTTED

Analüüs NeuMoDx HBV Quant Assay ühendab automatiseeritud DNA ekstraheerimise, amplifitseerimise ja tuvastamise reaalaaja PCR-i abil. Täisvere proovid kogutakse plasma ettevalmistamiseks EDTA-, ACD- või PPT-katsutitesse ja/või seerumi ettevalmistamiseks SST katsutitesse. Primaarne vereproov (verefraktsioon) või ühilduvas sekundaarses proovikatsutis plasma-/seerumialikvoot märgistatakse vöötkoodiga ja pannakse seadmesse NeuMoDx System. Töötlemise alustamiseks aspireerib seade NeuMoDx System automaatselt plasma-/seerumialikvoodi, et segada see lüüsimispuhvriga NeuMoDx Lysis Buffer 1 ja ekstraheerimisplaadil NeuMoDx Extraction Plate sisalduvate reaktiividega. Seade NeuMoDx System automatiseerib ja integreerib DNA ekstraheerimise ja kontsentreerimise, reaktiivide ettevalmistamise ning nukleiinhapete amplifitseerimise ja sihtjärjestuste tuvastamise reaalaaja PCR-i abil. Komplekti kuuluv proovi töötlemise kontroll (Sample Process Control, SPC1) aitab jälgida inhibeerivate ainete esinemist ja süsteemi, protsessi või reaktiivi tõrkeid. Kui proov on laaditud seadmesse NeuMoDx System, pole kasutaja sekkumine vajalik.

Seade NeuMoDx System kasutab lüüsimise, DNA ekstraheerimise ja inhibiitorite eemaldamise automaatseks teostamiseks kuumutamise, lüütilise ensüümi ja ekstraheerimisreaktiivide kombinatsiooni. Vabanenud nukleiinhapped püütakse kinni paramagnetiliste osakeste abil. Need osakesed, mis on seondunud nukleiinhapetega, laaditakse kasseti NeuMoDx Cartridge, kus mitteseondunud elemendid pestakse minema pesemisreaktiiviga NeuMoDx Wash Reagent. Seejärel elueeritakse seotud DNA reaktiiviga NeuMoDx Release Reagent. Seade The NeuMoDx System kasutab elueeritud DNA-d, et rehüdreerida patenditud NeuDry™ amplifikatsioonireaktiivid, mis sisaldavad kõiki HBV ja SPC1 sihtmärkide amplifitseerimiseks vajalikke elemente. See võimaldab nii siht- kui ka kontroll-DNA sekveneerimise samaaegset amplifikatsiooni ja tuvastamist. Pärast kuivatatud PCR-reaktiivide taastamist jaotab seade NeuMoDx System ettevalmistatud PCR-iks valmis segu kasseti NeuMoDx Cartridge ühte PCR-i kambris (proovi kohta). DNA kontroll- ja sihtmärk-sekveneerimise (kui see on olemas) amplifitseerimine ja tuvastamine toimub PCR-i kambris. NeuMoDx Cartridge on loodud sisaldama PCR-i järgselt amplikoni, mis põhimõtteliselt kõrvaldab amplifitseerimisjärgse saastumise riski.

Võimendatud sihtmärgid tuvastatakse reaajas hüdrolüüsisondide keemia abil (tavaliselt nimetatakse seda TaqMan®-i keemiaks), kasutades fluorogeensete oligonukleotiidide sondimolekule, mis on spetsiifilised amplikonidele nende vastavate sihtmärkide jaoks. Sondid TaqMan koosnevad fluorofoorist, mis on kovalentselt seotud oligonukleotiidi sondi 5'-otsaga, ja kustutist 3'-otsas. Kui sond on intaktne, on fluorofoor ja kustuti läheduses, võimaldades kustuti-molekulil summutada fluorestsentsi, mille fluorofoor emiteerib Försteri resonantsenergia ülekannet fluorestsentsi resonantsenergia ülekande (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) abil.

TaqMan sondid on sellise kujundusega, et need tugevnevad praimerite kindla komplektiga võimendatud DNA piirkonnas. Kui Taq DNA polümeeras pikendab praimerit ja sünteesib uue ahela, siis Taq DNA polümeerasi 5' kuni 3' eksonukleaasi aktiivsus lagundab matriitsiga kokkusulanud sondi. Sondide lagundamine vabastab fluorofoori ja katkestab läheduse kustutiga, vältides sellega FRET-ist tulenevat kustutusmõju ja võimaldades fluorofoori tuvastada. Seadme NeuMoDx System kvantitatiivse PCR termotsükleris tuvastatud tekkinud fluorestsentsisignaal on otseselt proportsionaalne vabanenud fluorofooriga ja seda saab korreleerida olemasoleva sihtmärgi hulga.

TaqMan-i sondi, mis on märgistatud fluorofooriga (stimuleerimine: lainepikkusel 490 nm ja kiirgus: lainepikkusel 521) 5'-otsas ja tumedat kustutit 3'-otsas kasutatakse HBV DNA tuvastamiseks. SPC1 tuvastamiseks märgistatakse TaqMan-i sond alternatiivse fluorestsentsvärviga (stimuleerimine: lainepikkusel 535 nm ja kiirgus: lainepikkusel 556 nm) 5'-otsas ja tumeda kustutiga 3'-otsas. Seadme NeuMoDx System tarkvara jälgib iga amplifitseerimistsükli lõpus TaqMani sondide poolt emiteeritud fluorestsentsignaali. Kui amplifikatsioon on lõpule jõudnud, analüüsib seadme NeuMoDx System tarkvara andmeid ja esitab lõpptulemuse (POSITIVE (POSITIIVNE) / NEGATIVE (NEGATIIVNE) / INDETERMINATE (MÄÄRAMATU) / UNRESOLVED (LAHENDAMATA) / NO RESULT (TULEMUS PUUDUB)). Kui tulemus on positiivne ja arvatud kontsentratsioon on kvantiteedi määramise piires, annab seadme NeuMoDx System tarkvara ka prooviga seostatud kvantitatiivse väärtuse.

REAKTIIVID/KULUKAUBAD

Kaasasolevad materjalid

REF	Sisukord	Ühikuid pakis	Teste ühikus	Teste pakis
201300	NeuMoDx HBV Quant Test Strip <i>HBV- ja SPC1-spetsiifilist TaqMan sondi ja praimereid sisaldavad kuivatatud PCR-reaktiivid</i>	6	16	96

Vajalikud, kuid tarnekomplekti mittekuuluvad materjalid (saadaval eraldi ettevõttelt NeuMoDx)

REF	Sisukord
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Kuivatatud paramagnetilised osakesed, lüütiline ensüüm ja proovi töötlemise kontrollid</i>
800100 või 800102	NeuMoDx HBV Calibrators <i>HBV kõrgete ja madalate kalibraatorite ühekordsed komplektid, et määrata kalibreerimiskõvera kehtivus</i>
900101 või 900102	NeuMoDx HBV External Controls <i>Positiivsete ja negatiivsete kontrollproovide ühekordsed komplektid</i>
400400	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Filtriga otsakud Hamilton® CO-RE/CO-RE II (300 µl)
235905	Filtriga otsakud Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µl)

Vajalikud mõõteseadmed

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

HOIATUSED JA ETTEVAATUSABINÕUD

- Testriba NeuMoDx HBV Quant Test Strip on kasutamiseks *in vitro* diagnostikas ainult seadmetega NeuMoDx Systems.
- Ärge kasutage reaktiive või kulukaupa pärast märgitud kõlblikuskuuäeva.
- Ärge kasutage ühtegi reaktiivi, kui turvasulgur on katki või kui pakend on saabumisel kahjustatud.
- Ärge kasutage kulukaupu ega reaktiive, kui kaitsekott on saabumisel avatud või katki.
- Enne kui testi tulemusi saab kliinilistele proovidele genereerida, peab olemas saadaval kehtiv testi kalibreering (saadud töödeldes kalibraatorite NeuMoDx HBV Calibrators kõrgeid ja madalaid kalibraatoreid).
- Väliseid kontrolle NeuMoDx HBV External Controls tuleb töödelda iga 24 tunni tagant kogu analüüsiga NeuMoDx HBV Quant Assay testimise vältel.

- Proovi väiksem maht sõltub katsuti suurusest, proovikandjast ning proovimahu töötlemisest, nagu see on määratletud allpool. Kindlaksmääratud miinimumist väiksem maht võib põhjustada tõrke „Quantity Not Sufficient“ (Kogus pole piisav).
- Valel temperatuuril või üle kindlaksmääratud säilitusajaga proovide kasutamine võib põhjustada kehtetuid või ekslikke tulemusi.
- Vältige alati kõikide reaktiivide ja kulukaupade saastumist mikroobide ja desoksüribonukleaasidga (DNAas). Sekundaarsete katsutite kasutamisel on soovitatav kasutada steriilseid DNAasi-vabu ühekordseid ülekandepipette. Kasutage iga proovi jaoks uut pipetti.
- Saastumise vältimiseks ärge käsitage ega eraldage pärast amplifikatsiooni ühtegi kasseti NeuMoDx Cartridge. Ärge mingil juhul võtke kassette NeuMoDx Cartridges bioohtlike jäätmete mahutist (NeuMoDx 288 Molecular System) ega bioohtlike jäätmete nõust (NeuMoDx 96 Molecular System). Kassett NeuMoDx Cartridge on loodud saastumise vältimiseks.
- Juhtudel, kui laboris viiakse läbi ka avatud katsuti PCR-teste, tuleb hoolitseda selle eest, et testribad NeuMoDx HBV Quant Test Strip, testimiseks vajalikud täiendavad kulukaubad ja reaktiivid, isikukaitsevahendid, nagu kindad ja laborikitlid, ja seade NeuMoDx System ei saastuks.
- NeuMoDx reaktiivide ja kulukaupade käsitsemisel tuleb kanda puhtaid, pulbrivabu nitrilkindaid. Ärge puudutage kasseti NeuMoDx Cartridge ülemist pinda, testriba NeuMoDx HBV Quant Test Strip või ekstraheerimisplaadi NeuMoDx Extraction Plate fooliumtihendi pinda ega lüüsimispuhvri NeuMoDx Lysis Buffer 1 ülemist pinda; kulukaupade ja reaktiivide käsitsemine peaks toimuma ainult külgpindu puudutades.
- Iga reaktiivi kohta on vastavalt vajadusele esitatud ohutuskaardid (Safety Data Sheets, SDS) aadressil www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Pärast testi tegemist peske hoolikalt käsi.
- Ärge pipeteerige suu abil. Ärge suitsetage, jooge ega sööge kohtades, kus käideldakse proove või reaktiive.
- Käideldes proove alati nakkusohtlikena ja vastavalt ohututele laboriprotseduuridele, mida on kirjeldatud sellistes väljaannetes nagu *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁵ ja CLSI dokumendis M29-A4.⁶
- Utiliseerige kasutamata reaktiivid ja jäätmed vastavalt riigi, föderaal-, provintsi, osariigi ja kohalikele seadustele.
- Mitte korduskasutada.



TOOTE SÄILITAMINE, KÄSITSEMINEN JA STABIILSUS

- Testribad NeuMoDx HBV Quant Test Strips on esimeses pakendis stabiilsed temperatuuril 4–28 °C kuni toote vahetel etiketil märgitud kõlblikkusaja lõpuni.
- Ärge kasutage kulukaupu ega reaktiive pärast märgitud kõlblikkuskuupäeva.
- Ärge kasutage ühtegi analüüsitoodet, kui visuaalsel vaatlusel on leitud esmase või sekundaarse pakendi kahjustusi.
- Ärge laadige uuesti ühtegi testitavat toodet, mis on varem laaditud teise seadmesse NeuMoDx System.
- Pärast laadimist võib testriba NeuMoDx HBV Quant Test Strip jääda süsteemi NeuMoDx System 62 päevaks. Laaditud testribade allesjäanud säilivusaega jälgib tarkvara ja teatab kasutajale reaajas. Süsteem soovib testriba eemaldamist, mis on olnud kasutuses pärast selle lubatud perioodi.

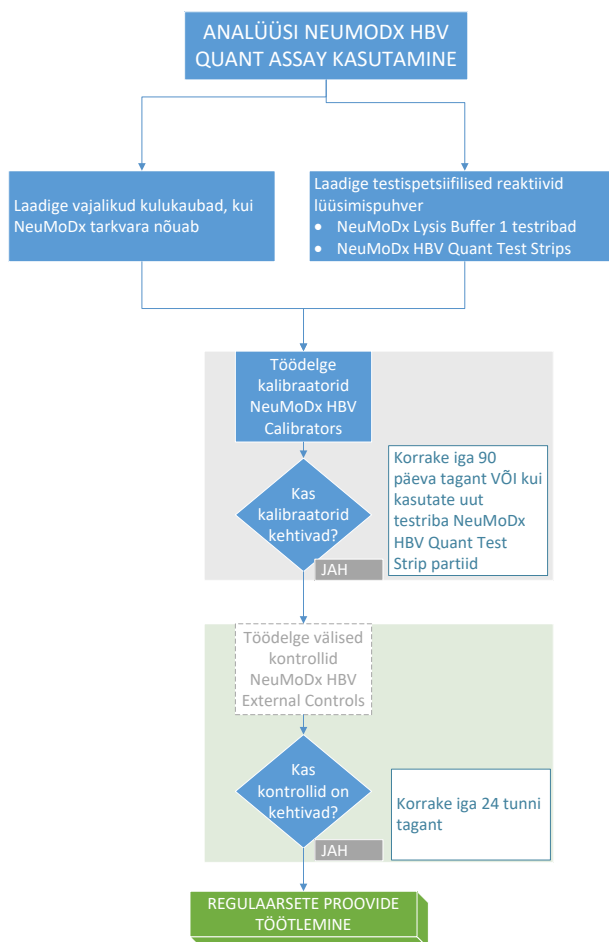
PROOVI KOGUMINE, TRANSPORTIMINE JA SÄILITAMINE

1. Käsitlege kõiki proove, kalibraatoreid ja kontrolle, nagu need oleks võimelised edasi kandma nakkustekitajaid.
2. Ärge külmutage täisverd ega primaarsetes katsutites hoitud proove.
3. Plasmaproovide ettevalmistamiseks tuleks täisverd koguda steriilsetesse katsutitesse, kasutades antikoagulantidena EDTA-d ja ACD-d. Järgige proovide kogumiskatsutite tootjapoolseid juhiseid ettevalmistamise ja hoiustamise kohta.
4. Seerumiproovide ettevalmistamiseks tuleb täisveri koguda SST katsutitesse. Järgige proovide kogumiskatsutite tootjapoolseid juhiseid ettevalmistamise ja hoiustamise kohta.
5. Proove võib testida primaarsetes kogumiskatsutites või sekundaarsetes proovikatsutites. Soovituslik primaarse katsutiga testimisel:
 - a. Plasmaproovid: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD #368589) või BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
 - b. Seerumiproovid: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD #367820) või BD Vacutainer SST™ Tube (BD #367988).
6. Ettevalmistatud proove võib plasma korral enne töötlemist hoiustada seadmes NeuMoDx System kuni 8 tundi ja seerumi korral 24 tundi. Kui hoiustada on vaja kauem, on soovituslik proovid enne jahutada või külmutada sekundaarsete alikvootidena.
7. Ettevalmistatud proove võib enne testimist hoida temperatuuril 2–8 °C mitte kauem kui 7 päeva ja toatemperatuuril plasma korral kuni 8 tundi ja seerumi korral kuni 24 tundi.
8. Plasma korral võib ettevalmistatud proove enne töötlemist hoida temperatuuril ≤ –20 °C kuni 4 nädalat ja seerumi korral 6 kuud: külmutatud proove ei tohi enne kasutust plasma korral rohkem kui 2 korda külmutada ja sulatada ning seerumi korral 4 korda külmutada ja sulatada.
 - a. Kui proovid külmutada, laske proovidel toatemperatuuril (15-30 °C) täielikult üles sulada; keerutage lähtemahutis, et saada ühtlaselt jaotunud proov.
 - b. Kui külmutatud proovid on üles sulanud, tuleb testida 24 tunni jooksul.
 - c. Plasmat/seerumit ei ole soovitatav külmutada esimeses kogumiskatsutis.
9. Proovide tarnimisel tuleb need pakendada ja märgistada vastavalt kehtivatele riiklikele ja/või rahvusvahelistele eeskirjadele.

10. Sildistage proovid selgelt ja näidake, et need proovid on HBV testimiseks.

11. Minge edasi jaotisesse *Testi ettevalmistamine*.

Analüüs NeuMoDx HBV Quant Assay analüüsi kasutamise üldine protsess on kokku võetud allpool *joonisel 1*.



Joonis 1. Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay kasutamise töövoog

KASUTUSJUHE

Testi ettevalmistamine

Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay saab kasutada otse esmaste vere kogumiskatsutitega või sekundaarsetes katsutites proovialikvootidega. Töödelda saab, kasutades ühte kahest proovimahus töötlemise töövoogu — 550 µl proovi töövoog või 200 µl proovi töövoog. Kandke proovikatsutile, mis ühildub seadmega NeuMoDx System, proovi vötkoodisilt.

1. Kandke proovikatsutile, mis ühildub seadmega NeuMoDx System, proovi vötkoodisilt. Primaarse vere kogumiskatsuti võib märgistada ja asetada otse 32-pesalisse proovikatsutikandjasse pärast tsentrifugimist vastavalt tootja juhiste. Alternatiivina võib plasma-/seerumialikvoodi viia sekundaarsetesse katsutisse, et töödelda seadmes NeuMoDx System.
2. Proovi testimisel esimeses kogumiskatsutis asetage vötkoodiga katsuti proovikatsuti kandjasse ja veenduge, et kork eemaldataks enne seadmesse NeuMoDx System laadimist. Väikseimad mahud **ülalpool** geeli/puhvri kihti on määratletud allpool ja neid järgitakse, kogudes ja töödeldes proove vastavalt katsuti tootja juhiste. Ebaõigesti kogutud proovide korral ei ole toimivus tagatud.

Katsuti tüüp	Proovi väikseim maht	
	550 µl töövoog	200 µl töövoog
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/seerum – 4,0 ml	1050 µl	700 µl
K ₂ EDTA/seerum – 6,0 ml	1250 µl	900 µl
K ₂ EDTA/seerum – 10,0 ml	1600 µl	1250 µl

3. Sekundaarse katsuti kasutamisel viige plasma-/seerumialikvoot võõtkoodiga proovikatsutisse, mis ühildub seadmega NeuMoDx System vastavalt allpool määratletud mahtudele:

Proovikatsutikandja	Katsuti suurus	Proovi väikseim maht	
		550 µl töövoog	200 µl töövoog
32-Tube Specimen Tube Carrier (32-kohaline proovikatsutikandja)	diameetriga 11–14 mm kõrgusega 60–120 mm	700 µl	400 µl
24-Tube Specimen Tube Carrier (24-kohaline proovikatsutikandja)	diameetriga 14,5–18 mm kõrgusega 60–120 mm	1100 µl	800 µl
Low Volume Specimen Tube Carrier (Väikese mahuga proovikatsutikandja)	1,5 ml koonuselise põhjaga mikrotsentrifuugi katsuti	650 µl	300 µl

Seadme NeuMoDx Systems kasutamine

Üksikasjalike juhiste saamiseks lugege seadmete NeuMoDx 288 ja 96 Molecular Systems käsiraamatuid; (tootekood 40600108 ja 40600317)

- Laadige testi tellimus seadmesse NeuMoDx System vastavalt soovitud proovi töötlusmahu töövoole ja proovikatsuti tüübile.
 - 550 µl proovimaht testitakse, määrates proovi tüübiks kas „**Plasma**” või „**Serum**” (Seerum)
 - 200 µl proovimaht testitakse, määrates proovi tüübiks kas „**Plasma2**” või „**Serum2**” (Seerum2)
 - Kui testi tellimuses ei ole tüüp määratletud, kasutatakse katsutis **Secondary Tube** (Sekundaarne katsuti) vaikimisi proovitüüpi **Plasma**.
- Täitke üks või enam süsteemi NeuMoDx System testribakandjat testriba(de)ga NeuMoDx HBV Quant Test Strip ja kasutage puutekraani, et laadida testribakandja(d) süsteemi NeuMoDx System.
- Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda soovib, lisage vajalikud kulukaubad seadme NeuMoDx System tarbitavatele kandjatele ja kasutage puutetundlikku ekraani kandja(te) laadimiseks seadmesse NeuMoDx System.
- Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda soovib, vahetage välja pesemisreaktiiv NeuMoDx Wash Reagent, vabastusreaktiiv NeuMoDx Release Reagent, tühjendage praimingujäätmed, bioohtlike jäätmete mahuti (ainult NeuMoDx 288 Molecular System), otsikute jäätmemahuti (ainult NeuMoDx 96 Molecular System) või bioohtlike jäätmete nõu (ainult NeuMoDx 96 Molecular System), vastavalt vajadusele.
- Kui seadme NeuMoDx System tarkvara seda palub, töödelge kalibraatorid NeuMoDx HBV Calibrators ja/või välised kontrollid NeuMoDx HBV External Controls. Rohkem teavet kalibraatorite ja kontrollide kohta leiab jaotisest *Tulemuste töötlemine*.
- Laadige proovi-/kalibraator-/kontrollkatsuti(d) proovikatsuti kandjasse ja veenduge, et kõigilt katsutitelt on korgid eemaldatud.
- Asetage proovikatsuti kandja(d) automaatlaadija riiulile ja kasutage puutetundlikku ekraani kandja(te) laadimiseks seadmesse NeuMoDx System. Sellega käivitatakse tuvastatavate testide jaoks laaditud proovide töötlemine, eeldusel, et süsteemis on kehtiv testitellimus.

PIIRANGUD

- Testriba NeuMoDx HBV Quant Test Strip saab kasutada ainult seadmel NeuMoDx Systems.
- Testriba NeuMoDx HBV Quant Test Strip toimivus on kindlaks tehtud plasmaproovide korral, mis on ette valmistatud antikoagulantidega EDTA/ACD, või seerumiproovide korral, mis on ette valmistatud seerumi eraldamise katsutites. Testriba NeuMoDx HBV Quant Test Strip kasutamist koos teiste allikatega ei ole hinnatud ja toimivusnäitajad on muud tüüpi proovide korral tundmatud.
- Testriba NeuMoDx HBV Quant Test Strip toimivust on kinnitatud primaarsete katsutite testimise korral, kasutades katsuteid BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tubes, BD Vacutainer PPT Plasma Preparation Tube, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube ja BD Vacutainer SST Tube.

4. Kui kasutada 200 µl proovimahuga töövoogu, on täheldatud analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay tuvastuspiiri ja kvantitatiivne alampiiri vähest tõusu.
5. Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay kasutatakse vaid kvantitatiivse jälgimise eesmärgil. See ei ole ette nähtud kvalitatiivseks tuvastamiseks.
6. Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay ei tohi kasutada proovide korral, mis on kogutud inimestelt, kellele on manustatud hepariini.
7. Kuna HBV tuvastamine sõltub proovis esinevate siht-DNA osakeste arvust, sõltuvad usaldusväärsed tulemused proovide nõuetekohasest kogumisest, käitlemisest ja säilitamisest.
8. Kalibraatorid NeuMoDx HBV Calibrators ja välised kontrollid NeuMoDx HBV External Controls tuleb töödelda vastavalt pakendis sisalduvatele soovitusetele, kui seda soovib seadme NeuMoDx System tarkvara enne tavapärase kliiniliste proovide töötlemist.
9. Proovide ebaõige kogumise, käitlemise, säilitamise, tehniliste vigade või proovikatsuti segijamise korral võivad tekkida segased tulemused. Lisaks võivad tekkida valenegatiivsed tulemused, kuna proovides leiduvate viiruseosakeste arv on väiksem kui analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay tuvastuspiir.
10. Süsteemi NeuMoDx System tohib kasutada ainult süsteemi NeuMoDx System kasutamise väljaõppe saanud personal.
11. Kui nii HBV sihtmärk kui ka SPC1 sihtmärk ei amplifitseeru, esitatakse kehtetu tulemus (Indeterminate (Määramatu), No Result (Tulemus puudub) või Unresolved (Lahendamata)) ja testi tuleb korrata.
12. Kui analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay tulemus on Positive (Positiivne), kuid kvantitatiivne väärtus on alla kvantitatiivset määramispiiri, annab seade NeuMoDx System väärtuse, kas tuvastatud HBV oli *allpool* kvantitatiivset alampiiri (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) või *ülalpool* kvantitatiivset ülempiiri (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
13. Kui tuvastatud HBV on *allpool* LLoQ-d, võib analüüsi korrata (soovi korral) proovi teise alikvoodiga.
14. Kui tuvastatud HBV on *ülalpool* ULoQ-d, võib analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay korrata algse proovi lahjendatud alikvoodiga. Soovituslik lahuse suhe on 1:1000 HBV negatiivse plasmaga või lahustiga Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Algse proovi kontsentratsiooni saab arvutada järgnevalt.
$$\text{algse proovi kontsentratsioon} = \log_{10}(\text{lahjendustegur}) + \text{lahjendatud proovi esitatud kontsentratsioon}$$
15. PCR-inhibiitorite juhuslik esinemine võib tekitada süsteemis vigu kvantitatiivsel määramisel. Sellisel juhul on soovitatav, et testi korratakse sama prooviga, mida on lahjendatud lahustiga Basematrix suhte juures 1:10 või 1:100.
16. Positiivne tulemus ei tähenda tingimata elujõuliste organismide esinemist. Positiivne tulemus aga viitab B-hepatiidi viiruse DNA esinemisele.
17. Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay sihtmärgistatud konserveerunud piirkondade kustumised või muteerumised võivad testriba NeuMoDx HBV Quant Test Strip kasutamisel mõjutada tuvastamist või tingida vigase tulemuse.
18. Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay tulemusi tuleks kasutada kliiniliste vaatluste ja muu arstile kättesaadava teabe täiendusena; analüüs ei ole ette nähtud infektsiooni diagnoosimiseks.
19. Saastumise vältimiseks on soovitatav hea laboritava, sealhulgas kinnaste vahetamine erinevate patsiendiproovide käitlemise vahel.

TULEMUSTE TÖÖTLEMINE

Kättesaadavaid tulemusi saab vaadata või printida seadme NeuMoDx System puutekraani akna Results (Tulemused) vahekaardilt „Results“ (Tulemused). Seadme NeuMoDx System tarkvara genereerib analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay tulemused automaatselt, kasutades otsustusalgoritmi ja tulemuste töötlemise parameetreid, mis on toodud NeuMoDx HBV Quant analüüsi definitsiooni failis (HBV ADF). Tulemus võib olla esitatud kui Negative (Negatiivne), Positive (Positiivne) koos HBV kontsentratsiooniga, Positive (Positiivne) *ülalpool* ULoQ-d, Positive (Positiivne) *allpool* LLoQ-d, Indeterminate (IND) (Määramatu) või Unresolved (UNR) (Lahendamata) või No Result (NR) (Tulemus puudub) vastavalt sihtmärgi ja proovi töötlemise kontrolli amplifikatsiooni seisule. Tulemused esitatakse ADF-i otsuse algoritmi põhjal, mis on kokku võetud *allpool tabelis 1*.

Tabel 1: Analüüsi HBV Quant Assay otsustusalgoritmi kokkuvõte

TULEMUS	HBV sihtmärk	Proovi töötlemise kontroll (Sample Process Control, SPC1)	Tulemuse tõlgendus
Positive (Positiivne) esitatud kontsentratsiooniga	Amplified (Amplifitseeritud) $0,9 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ IU/ml}$ (550 μl töövoog) $1,4 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ IU/ml}$ (200 μl töövoog)	Amplified (Amplifitseeritud) või Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Kvantitatiivses vahemikus tuvastatud HBV DNA
Positive (Positiivne) ülalpool ULoQ-d	Amplified (Amplifitseeritud) $[\text{HBV}] > 9,0 \log_{10} \text{ IU/ml}$	Amplified (Amplifitseeritud) või Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Ülalpool kvantitatiivset vahemikku tuvastatud HBV DNA
Positive (Positiivne) allpool LLoQ-d	Amplified (Amplifitseeritud) $[\text{HBV}] < 0,9 \log_{10} \text{ IU/ml}$ (550 μl töövoog) $[\text{HBV}] < 1,4 \log_{10} \text{ IU/ml}$ (200 μl töövoog)	Amplified (Amplifitseeritud) või Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Allpool kvantitatiivset vahemikku tuvastatud HBV DNA
Negative (Negatiivne)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Amplified (Amplifitseeritud)	HBV DNA-d ei tuvastatud
Indeterminate (Määramatu)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Mitteamplifitseeritud, Tuvastatud süsteemiviga, Proovi töötlemine lõpetatud)		Kõik sihtmärktulemused olid kehtetud; testige proovi uuesti [†]
No Result (Tulemus puudub)*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Mitteamplifitseeritud, Tuvastatud süsteemiviga, Proovi töötlemine katkestatud)		Proovi töötlemine katkestati; testige proovi uuesti [†]
Unresolved (Lahendamata)	Not Amplified, No System Error Detected (Mitteamplifitseeritud, Süsteemiviga pole tuvastatud)		Kõik sihtmärktulemused olid kehtetud; testige proovi uuesti [†]

*Hoiatusteatis No Result (tulemus puudub) esitatakse ainult seadme NeuMoDx System tarkvara versioonides 1.8 või uuem.

[†] NeuMoDx System on varustatud automaatse Rerun (Uuesti käitamine) / Repeat (Kordamine) võimekusega, mida lõppkasutaja saab valida, et tagada tulemuse IND/UNR/NR automaatne uuesti töötlemine, et minimeerida tulemuse esitamise viibimist.

Testi arvutamine

- Proovide korral, mis on analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay kvantitatiivses määramisvahemikus, arvutatakse proovide HBV DNA kontsentratsioon, kasutades salvestatud standardkõverat koos kalibreerimiskoeffitsiendi ja proovimahuga.
 - Kalibreerimiskoeffitsient arvutatakse töödeldud kalibraatorite NeuMoDx HBV Calibrators tulemuste põhjal, et määrata teatud seadme NeuMoDx System mingi hulga testribade NeuMoDx HBV Quant Test Strip standardkõvera kehtivust.
 - Kalibreerimiskoeffitsient hõlmatakse HBV DNA kontsentratsiooni lõpliku määratlusse.
 - NeuMoDx tarkvara määrab proovi sisendmahu järgi HBV DNA kontsentratsiooni proovi ml kohta.
- Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay tulemused esitatakse ühikutes $\log_{10} \text{ IU/ml}$.
- Saadav tundmatute proovide kvantitatiivse määramise tulemus on jälgitav WHO 4. HBV rahvusvahelise standardini.

Testi kalibreerimine

Proovide HBV DNA kvantifitseerimiseks on vaja standardkõvera põhjal teha nõuetekohane kalibreering. Kehtivate tulemuste saamiseks peab olema tehtud proovikalibreerimine, kasutades selleks ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. väliseid kalibraatoreid.

Kalibraatorid

- Iga uue testribade NeuMoDx HBV Quant Test Strips partii korral tuleb NeuMoDx HBV kalibraatorite komplekti töödelda, kui uus HBV Quant analüüsi definitsiooni fail laaditakse üles seadmesse NeuMoDx System, kui parajasti kasutusel oleva kalibraatorite komplekti kehtivusaeg saab läbi (hetkel seatud 90 päevale) või kui seadme NeuMoDx System tarkvara muudetakse.
- Seadme NeuMoDx System tarkvara teavitab kasutajat, kui kalibraatoreid tuleb töödelda. Testribade uut partiid ei saa testimiseks kasutada, kuni kalibraatoreid on edukalt töödeldud.
- Kalibraatorite kehtivus määratakse järgnevalt.
 - Kahe kalibraatori komplekt – üks (1) kõrge ja üks (1) madal – tuleb kehtivuse määramiseks töödelda.
 - Vähemalt kaks (2) kolmest (3) kordustestist peavad andma eelnevalt määratletud parameetrite vahemikus. Madala kalibraatori nominaalne sihtmärk on $3,7 \log_{10} \text{ IU/ml}$ ja kõrge kalibraatori nominaalne sihtmärk on $5,7 \log_{10} \text{ IU/ml}$.
 - Kalibreerimiskoeffitsient arvutatakse, et võtta arvesse testribade partiide vahelised eeldatavad erinevused. Seda kalibreerimiskoeffitsienti kasutatakse, et määrata lõplik HBV kontsentratsioon.

4. Kui ühe või mõlema kalibraatori kehtivuse kontroll ebaõnnestub, siis töödelge ebaõnnestunud kalibraatorit/kalibraatoreid uuesti, kasutades uut viaali. Juhul kui ühe kalibraatori kehtivuse kontroll ebaõnnestub, saab korrata ainult ebaõnnestunud kalibraatori kontrolli, kuna süsteem ei nõua kasutajalt mõlema kalibraatori uuesti kasutamist.
5. Kui kalibraator(ite) kehtivuse kontroll ebaõnnestub järjestikku, võtke ühendust ettevõttega NeuMoDx Molecular, Inc.

Kvaliteedikontroll

Kohalikud eeskirjad määravad tavaliselt, et labor vastutab kontrolliprotseduuride eest, millega jälgitakse kogu analüüsiprotsessi täpsust ja kordustäpsust, ning peab määrama kontrollmaterjalide testimise arvu, tüübi ja sageduse, kasutades kontrollitud toimivusspetsifikatsioone modifitseerimata, heakskiidetud testsüsteemi jaoks.

Välised kontrollid

1. Positiivseid ja negatiivseid väliseid kontrole tuleb töödelda iga 24 tunni tagant kogu analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay testimise vältel. Kui kehtivad välised kontrollitulemused puuduvad, nõuab seade NeuMoDx System tarkvara kasutajalt kontrollide töötlemist, et tulemusi saaks esitada.
2. Seade NeuMoDx System hindab väliste kontrollide kehtivust eeldatava tulemuse põhjal. Positiivne kontroll peab andma HBV tulemuse Positive (Positiivne) ja negatiivne kontroll peab andma HBV tulemuse Negative (Negatiivne).
3. Väliste kontrollide vastukäivaid tulemusi tuleks käsitleda järgnevalt.
 - a) Negatiivse kontrollproovi katsetulem Positive (Positiivne) näitab proovi saastumise probleemi.
 - b) Positiivse kontrollproovi katsetulem Negative (Negatiivne) võib osutada reaktiiviga või instrumendiga seotud probleemidele.
 - c) Kummalgi ülaltoodud juhul või määramatu (Indeterminate, IND) tulemuse või tulemuse puudumise (No Result, NR) korral korrake väliseid kontrole NeuMoDx HBV External Controls ebaõnnestunud kehtivuskontrolliga kontrolli(de) värskeste viaalidega.
 - d) Kui positiivne NeuMoDx HBV External Control annab uuesti tulemuse Negative (Negatiivne), võtke ühendust NeuMoDx-i tehnilise toega.
 - e) Kui negatiivne NeuMoDx HBV External Control annab jätkuvalt tulemuse Positive (Positiivne), proovige eemaldada kõik võimalikud saastumise allikad, sh asendades kõik reaktiivid, enne NeuMoDx tehnilise toega ühenduse võtmist.

Prooviprotsessi (sisemised) kontrollid

Eraldusplaati NeuMoDx Extraction Plate on kätkevad eksogeenne proovi töötlemise kontroll (Sample Process Control, SPC1) ning see läbib iga prooviga kogu nukleiinhappe ekstraheerimise ja reaalaaja PCR amplifikatsiooni protsessi. Iga testriba NeuMoDx HBV Quant Test Strip hulka kuuluvad ka SPC1-spetsiifilised primerid ja sond, mis võimaldavad mitmekordse PCR-i kaudu sihtmärgistatud HBV DNA (kui olemas) abil tuvastada SPC1-te. SPC1 amplifikatsiooni tuvastamine võimaldab seadme NeuMoDx System tarkvaral jälgida DNA ekstraheerimise ja PCR-i amplifikatsiooniprotsesside tõhusust.

Kehtetud tulemused

Kui seadmel NeuMoDx System läbi viidud analüüs NeuMoDx HBV Quant Assay ei anna kehtivat tulemust pärast proovi töötlemise lõppu, esitatakse see kas tulemusena Indeterminate (IND) (Määramatu), No Result (NR) (Tulemus puudub) või Unresolved (UNR) (Lahendamata) olenevalt tekkinud veatüübist.

Kui proovi töötlemisel tuvastatakse seadme NeuMoDx System tõrge, esitatakse tulemus IND. Kui esitatakse tulemus IND, on soovitatav teha kordusanalüüs.

Tulemus UNR esitatakse, kui ei tuvastata kehtivat HBV DNA või SPC1 amplifikatsiooni süsteemi vigade puudumisel, mis viitab võimalikule reaktiivi veale või inhibiitorite esinemisele. Kui esitatakse tulemus UNR, on esimese sammuna soovitatav teostada kordusanalüüs. Kui kordustest ebaõnnestub, võib proovi mistahes inhibiitorite mõjude leevendamiseks kasutada proovi lahendust.

Kui seadmel NeuMoDx System läbi viidud analüüs NeuMoDx HBV Quant Assay ei anna kehtivat tulemust ja proovi töötlemine katkestatakse enne lõppu, esitatakse tulemus No Result (NR) (Tulemus puudub). Kui esitatakse tulemus NR, on soovitatav teha kordusanalüüs.

TOIMIVUSNÄITAJAD

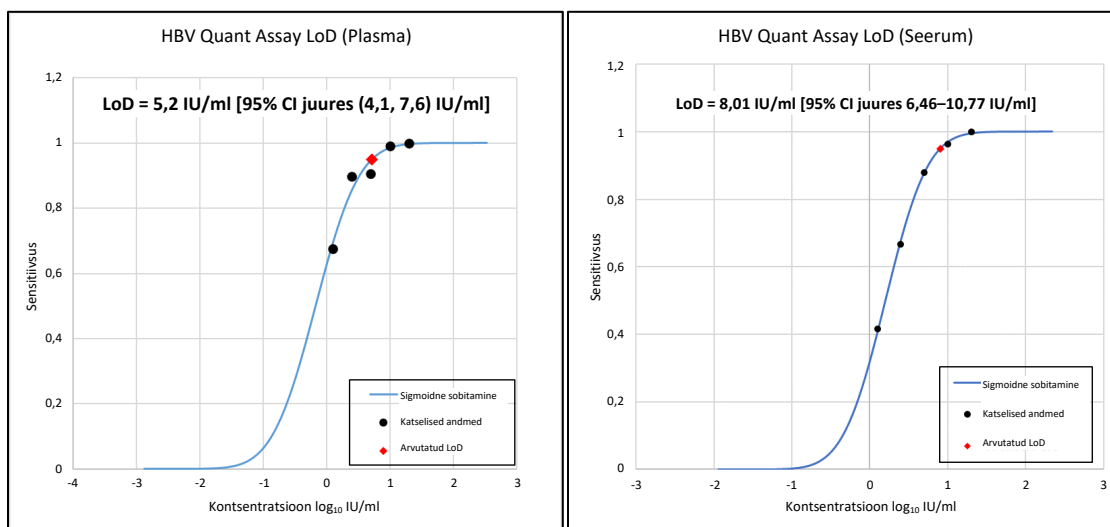
Analüütiline sensitiivsus – tuvastuspiir WHO standardi abil

Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay analüütiline sensitiivsus määrati testides WHO 4. rahvusvahelise standardi negatiivseid proove ja lahuseseeriat sõelatud negatiivses inimese plasmas ja seerumis, et määrata tuvastuspiir (Limit of Detection, LoD) seadmetes NeuMoDx Systems. LoD defineeriti kui madalaim sihttase, mis tuvastati probit-analüüsiga 95% juhtudel. Uuringud viidi läbi 3 päeva jooksul mitmel seadmel NeuMoDx System mitmete NeuMoDx reagentide partiidega. Kinnitamaks analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay LoD-d, viidi läbi täiendav uuring, kasutades 200 µl proovimahuga töövoogu. Mõlema uuringu tuvastusmäärad on näidatud tabelis 2.

Tabel 2. Positiivsed tuvastusmäärad analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay LoD-i määramisel

	Sihtkontsentratsioon [IU/ml]	Sihtkontsentratsioon [\log_{10} IU/ml]	PLASMA			SEERUM		
			Kehtivate testide arv	Positiivsete arv	Tuvastamismäär	Kehtivate testide arv	Positiivsete arv	Tuvastamismäär
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	Pole kohaldatav	108	0	0%	107	0	0%
200 μl	25	1,40	43	43	100%	44	44	100%

Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay LoD määrati plasmas HBV genotüübi A korral (4. WHO rahvusvaheline standard) tasemele 5,2 IU/ml (95% CI 4,1–7,6 IU/ml) [(0,72 \log_{10} IU/ml) (95% CI 0,61–0,88 \log_{10} IU/ml)], kasutades 550 μ l proovimahuga töövoogu (joonis 2). Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay LoD määrati seerumiproovide korral tasemele 8,0 IU/ml (95% CI 6,5–10,8 IU/ml) [(0,9 \log_{10} IU/ml) (95% CI 0,8–1,0 \log_{10} IU/ml)], kasutades 550 μ l proovimahuga töövoogu (joonis 2).



Joonis 2. Probit-analüüs, mida kasutati, et määrata analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay LoD; plasma (vasak) ja seerum (parem)

Analüütiline sensitiivsus – Kvantitatiivne määramispiir – Kvantitatiivne alampiir (LLOQ, Lower Limit of Quantitation), kasutades WHO standardit
 Kvantitatiivne alampiir (Lower Limit of Quantitation, LLOQ) on defineeritud alumise sihttasemena, mille juures saavutatakse tuvastus > 95% juhtudel JA analüütiline koguviga (Total Analytical Error, TAE) on $\leq 1,0$. LLOQ-i määramiseks arvutati LoD arvutuse osana analüütiline koguviga iga HBV sihttaseme kohta, mille korral oli tuvastus >95%. TAE on defineeritud järgnevalt.

$$TAE = \text{nihe} + 2 \cdot SD \quad [\text{Westgardi statistika}]$$

Nihe on keskmise arvatud kontsentratsiooni ja eeldatava kontsentratsiooni erinevuse absoluutväärtus. SD on proovi määratud kvantitatiivse väärtuse standardhälve.

WHO 4. rahvusvahelist standardit kasutatavas LLOQ-i uuringus kasutatud HBV proovide 5 taseme koondatud tulemused on näidatud tabelis 3. WHO 4. rahvusvahelise standardi abil analüüsiga NeuMoDx HBV Quant Assay (kasutades 550 μ l proovimahuga töövoogu) määratud LLOQ määrati plasma korral tasemele 5,5 IU/ml (0,74 \log_{10} IU/ml). Viidi läbi eraldi uuring, et kinnitada LLOQ, kui kasutada 200 μ l proovimahuga töövoogu, ja selle tulemused näitasid LLOQ väärtuseks 25 IU/ml, mis on esitatud ka tabelis 3.

Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay seerumiproovide LLOQ määrati tasemele 6,0 IU/ml, kui kasutada 550 μ l proovimahuga töövoogu, ning tasemele 25 IU/ml, kui kasutada väikese (200 μ l) proovimahuga töövoogu, nagu näidatud tabelis 3.

Tabel 3. NeuMoDx HBV Quant Assay LLOQ, koos nihkega ja TAE

	Sihtkont. [IU/ml]	Sihtkont. [\log_{10} IU/ml]	Plasma					Seerum				
			Keskmine kont. [\log_{10} IU/ml]	Tuvastus (%)	SD	Nihe	TAE	Keskmine kont. [\log_{10} IU/ml]	Tuvastus (%)	SD	Nihe	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

Analüütiline sensitiivsus – LoD ja LLoQ HBV genotüüpide lõikes

Esmalt määrati LoD genotüübile A (4. WHO rahvusvaheline standard), pärast mida viidi läbi täiendavad analüüsid määratud LoD lähedal, kasutades kõiki ülejäänud 7 genotüüpi. Kasutades plasmat 550 µl proovimahuga töövoos analüüsiti analüüsiga NeuMoDx HBV Quant Assay kolmkümmend kuus (36) kordust tasemetel, mis vastasid 2-kordselt, 1-kordselt ja 0,5-kordselt LoD 95% CI ülempiirile (~7 IU/ml). Iga analüüsitud taseme iga genotüübi positiivne protsendimäär esitati tabeli kujul ja LoD arvutati selle alusel, kasutades probit-analüüsi.

Samuti arvutati välja nende analüüsitud tasemete analüütiline koguviga. Genotüübi LLoQ-ks loeti taas madalaim tase, mille positiivne tuvastusmäär oli 95% ja arvutatud TAE ≤ 1,0. Genotüüpide lõikes näidati, et analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay tuvastuspiir plasmaproovide ja 550 µl proovimahuga töövoos korral on 6,2 IU/ml (0,79 log₁₀ IU/ml) ja LLoQ 7,6 IU/ml (0,88 log₁₀ IU/ml), nagu näidatud *tabelis 4*.

Tabel 4. Plasmas analüüsitud HBV genotüübid, kasutades 550 µl proovimahuga töövoogu

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

Nende uuringute tulemuste põhjal lubab NeuMoDx analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay **LoD ja LLoQ väärtuseks 25 IU/ml (1,4 log₁₀ IU/ml) plasmas ja seerumis**, kasutades **200 µl proovi mahu töövoogu**.

NeuMoDx lubab analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay **LoD ja LLoQ väärtuseks 8,0 IU/ml (0,9 log₁₀ IU/ml) plasmas ja seerumis**, kasutades **550 µl proovi mahu töövoogu**.

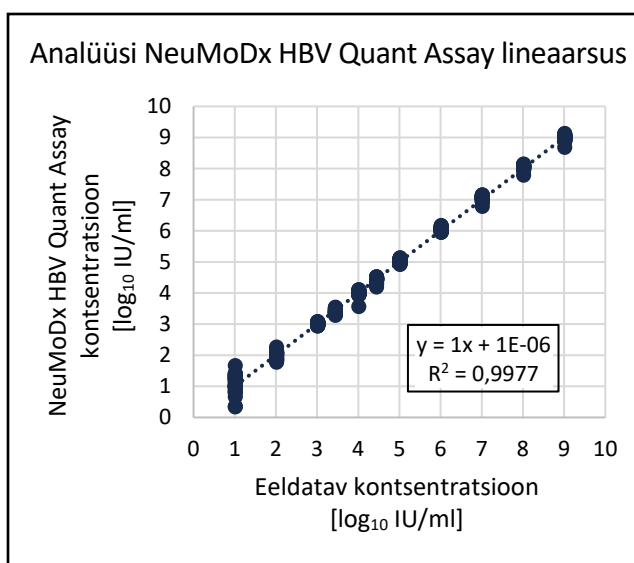
Analüütiline sensitiivsus – kvantitatiivse ülempiiri (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) lineaarsus ja määratlemine

Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay lineaarsus ja kvantitatiivne ülempiir (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) määrati plasmas, valmistades tugevasti positiivse HBV kliinilise proovi (Access Biologicals, Vista, CA) abil lahuseeriad, mis on jälgitavad WHO 4. rahvusvahelise standardini. HBV negatiivses plasma kogumis valmistati 11-liikmeline paneel, et luua testimispaneel kontsentratsioonivahemikus 9,02-1,02 log₁₀ IU/ml. Testimispaneeli töödeldi 6 kordusega 2 seadme NeuMoDx System igal tasemel ja kriitiliste reaktiivide 3 partiiga. Analüüs NeuMoDx HBV Quant Assay näitas võimekust kvantifitseerida HBV-d 8 log₁₀ lineaarses vahemiku lõikes (sh olulised meditsiinilised otsustuspunktid) kui hälve oli ±0,22 log₁₀ IU/ml. Olulist kasu ei saadud, kasutades 2. ja 3. järgu regressiooni. Selle uuringu andmete põhjal määrati ULoQ tasemele 9,02 log₁₀ IU/ml [*tabel 5 ja joonis 3*].

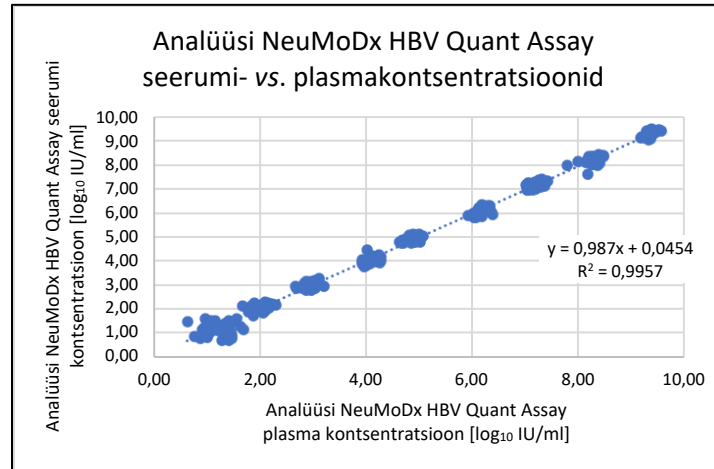
Tabel 5. Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay lineaarsus (hinnatud genotüübiga A)

Sihtkont. (IU/ml)	Sihtkont. (log ₁₀ IU/ml)	Kesk. kont. (log ₁₀ IU/ml)	Standardhälve	Nihe	Oodatud lineaarne sobivus	Hälve mittelineaarsest sobivusest
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

*Meditsiinilise otsustuspunkti lähedal

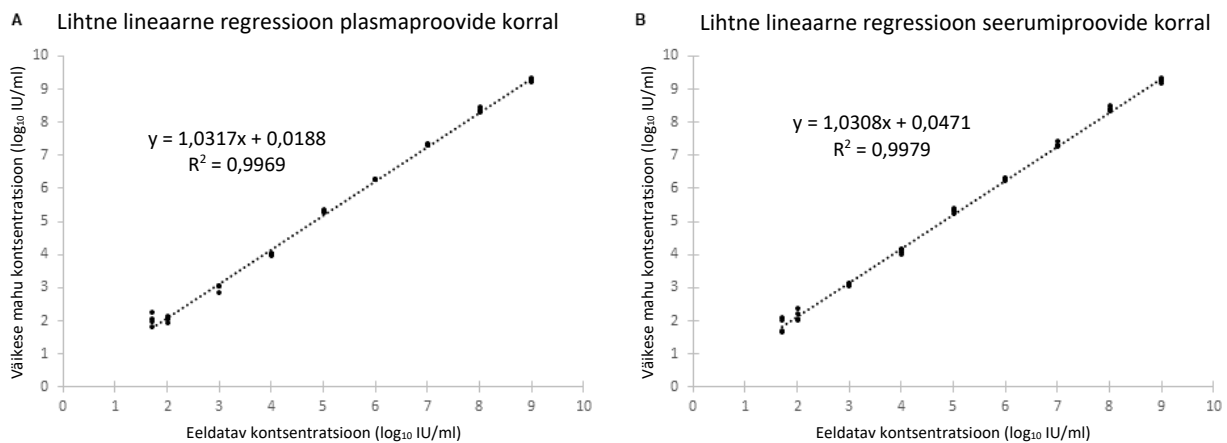

Joonis 3. Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay lineaarne vahemik plasmas

Teostati täiendav uuring, et näidata maatriksi ekvivalentsust, ning analüüsi võrreldi NeuMoDx HBV kvantitatiivseid plasmas ja seerumis ettevalmistatud proovide tulemusi, kasutades kahte erinevat regressioonimudelit, sh MS Exceli regressioonitööriist ja Passing-Bablok. Tulemused näitasid tugevat korrelatsiooni, mida näitab tõus ja löikepunkti väärtused, mis on vastavalt kas 1,00 või 0,00 lähedal, ning R² väärtus 0,99 (MS Excel regressioonitööriist) või p-väärtus 0,270 (Passing-Bablok). Seadme NeuMoDx System poolt plasma maatriksi kohta esitatud HBV Quant analüüsi kontsentratsioonid võrdluses vastavate seerumiproovidega on esitatud in *joonisel 4*.



Joonis 4. Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay lineaarne vahemiku maatriksite võrdluses

Seejärel kinnitati lineaarsust ja ULoQ-i 200 µl proovimahuga töövoo korral vahemikus 9,31–1,71 log₁₀ IU/ml. Ekvivalentsuse võrdlusi teostati kontsentratsioonide vahel, mille NeuMoDx tarkvara esitas 200 µl ja 550 µl töövoogude kohta. Demingi ja Passing-Babloki regressioonanalüüs näitas lineaarse vahemiku lõikes esitatud kontsentratsioonide korral suurepärase korrelatsiooni, 1-le lähedast tõusu ja minimaalselt lõikepunkte (nihe) nii plasma- kui ka seerumiproovide kohta. 200 µl proovimahuga töövoo korral esitatud kontsentratsiooni Blandi ja Altmani võrdlus 200 µl ja 550 µl proovimahuga töövoo korral esitatud keskmise kontsentratsiooniga näitas minimaalset nihet, omistades täpsuse 200 µl töövoo põhjal tulemused genereerinud algoritmile. Lisaks oli lihtsal lineaarsel regressioonil, mis võrdles 200 µl töövoo eeldatavat kontsentratsiooni esitatud kontsentratsiooniga, 1-le lähedane tõus, mis näitab suurepärase korrelatsiooni [joonis 5]. Koos vaadatuna näitavad need võrdlused HBV täpset kvantifitseerimist analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay 200 µl proovimahuga töövoo lineaarse vahemiku ulatuses.



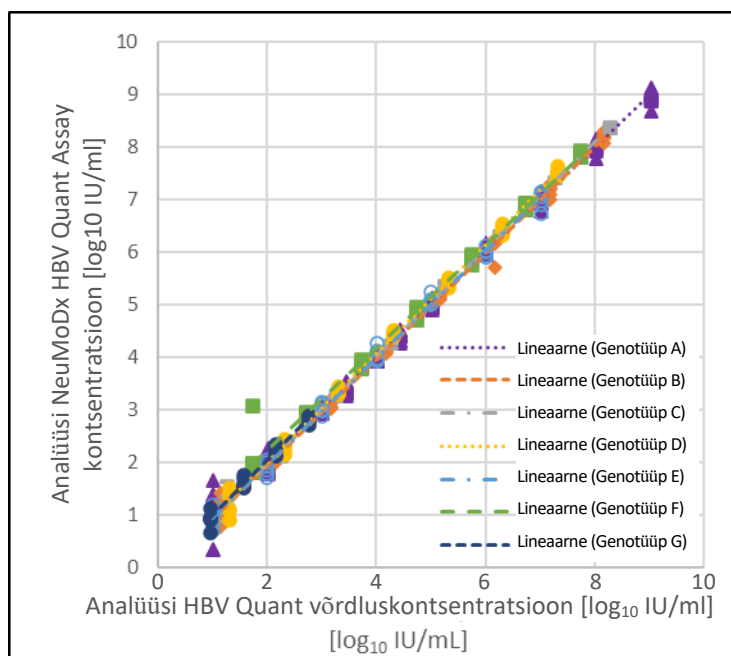
Joonis 5. Lineaarne suhe NeuMoDx-i 200 µl töövoo korral eeldatava ja esitatud kontsentratsioonide vahel a) plasma ja b) seerumi korral

Lineaarsus genotüüpide lõikes

Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay lineaarsus määrati plasmaproovis HBV genotüüpidele, analüüsid esitas iga HBV-negatiivses plasmakogumis ettevalmistatud HBV genotüübi vähemalt nelja (4) erinevat kontsentratsiooni. Selles uuringus kasutatud HBV sihtmärgi testitud tasemed sõltusid alproovi kontsentratsioonist ja seega genotüüpide lõikes. Uuring viidi läbi iga genotüübiga, kasutades iga taseme 6 kordust. Lineaarsus HBV genotüüpide lõikes on toodud tabelis 6 ja joonisel 6.

Tabel 6. Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay lineaarsus genotüüpide lõikes

Genotüüp	Lineaarsuse võrrand y = NeuMoDx HBV Quant Assay kvantifitseerimise väärtus x = Eeldatav kvantitatiivne väärtus	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



Joonis6. Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay lineaarsus genotüüpide lõikes

Analüütiline spetsiifilisus ja ristreaktiivsus

Analüütilist spetsiifilisust näidati, sõeludes 32 organismi, mida levinult leiab vere-/plasmaproovidest, ja liigi suhtes, mis on fülogeneetiliselt sarnased HBV ristreaktiivsusele. Organismid valmistati ette 4–6 organismi kogumites ja neid testiti kõrge kontsentratsiooni juures. Testitud organismid on näidatud tabelis 7. Ühegi testitud organismi korral ei nähtud ristreaktiivsust, mis oleks kinnitanud analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay 100% analüütilist spetsiifilisust.

Tabel 7. Patogeenid, mida kasutatakse analüütilise spetsiifilisuse tõendamiseks – ristreaktiivsus

Adenoviirus 2	Dengue V1	A-hepatiit	HPV 16	Ilheus (ILHV)	Kollapalavik
Adenoviirus 5	Dengue V2	C-hepatiit	HPV 18	A-gripp	Zika viirus
Banzi viirus	Dengue V3	Inimese herpesviirus 6a	HSV1	Parvi B19	
BK-viirus	Dengue V4	Inimese herpesviirus 8	HSV 2	Rubella	
Tsütomegaloviirus	Epstein-Barri viirus	HIV 1	HTLV 1	St. Louise entsefaliit	
VZV	Vaktsiinia viirus	HIV 2	HTLV 2	Lääne-Niiluse viirus	

Segava mõjuga ained – kommensaalsed organismid

Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay korral hinnati interferentsi kokkupuutel mittesihtorganismidega, kasutades sama organismide kogumit nagu analüütilise spetsiifilisuse testimise korral. Organisme testiti kas eraldi või kogumina 4-6 kaupa sõelutud HBV negatiivses plasmas ja rikastati HBV kontrolli kontsentratsiooniga $3,7 \log_{10}$ IU/ml. Olulist interferentsi ei täheldatud nende kommensaalsete organismidega kokkupuutel, nagu näitas määratud kvantitatiivse väärtuse hälve kontrollproovidest, mis ei sisaldanud interferentsi tekitajat [tabel 8].

Tabel 8. Interferentsi testimine – kommensaalsed organismid

Mittesihtorganismid	Keskmine kont. (\log_{10} IU/ml)	Nihe (\log_{10} IU/ml)
Rühm 1 [BK-viirus, tsütomegaloviirus, Epstein-Barri viirus, inimese herpesviirus 6a, inimese herpesviirus 8]	3,51	0,10
Rühm 2 [Adenovirus 2, adenoviirus 5, Dengue V2, Dengue V3, Dengue V4]	3,38	0,22
Rühm 3 [Parvo B19, HTLV 1, HTLV 2, Ilheus (ILHV), kollapalavik, Zika viirus]	3,62	0,06
Rühm 4 [HPV 16, HPV 18, HSV 1, HSV 2, Dengue V1]	3,57	0,04
Rühm 5 [St. Louise entsef., VZV, vaktsiinia viirus, Lääne-Niiluse viirus]	3,57	0,03
HAV	3,58	0,05
Banzi viirus	3,41	0,19
HIV-1	3,47	0,15
HIV-2	3,56	0,05
Rubella	3,16	0,44
A-gripp	3,60	0,03
HCV	3,58	0,04

Interferentsi tekitavad ained – endogeensed ja eksogeensed ained

Testriba NeuMoDx HBV Quant Test Strip toimivust hinnati HBV kliinilistes plasmaproovides levinud eksogeensete ja endogeensete interferentsi tekitavate ainetega kokkupuutel. Nende hulka kuulusid nii verekomponentide liiga kõrged tasemed kui ka levinud viirusevastased ravimid, mis klassifitseeriti tabelis 9. Igat allpool tabelis 10 loetletud endogeenset ja eksogeenset ainet lisati sõelutud HBV negatiivsesse inimese plasmasse, mida oli rikastatud 3,7 log₁₀ IU/ml HBV-ga ja andmeid vaadeldi interferentsi suhtes. Lisaks testiti võimaliku interferentsi suhtes tavapärasest haigusseisundis plasmat, mida seostatakse B-hepatiidi infektsiooniga.

Tabel 9. Interferentsi testimine – eksogeensed ained (ravimiklass)

Kogum	Ravim	Klassifikatsioon
1	Zidovudiin (ZDV)	Pöördtranskriptaasi inhibiitor
	Sakvinaaviir	HIV proteaasiinhibiitor
	Ritonaaviir	HIV proteaasiinhibiitor
	Klaritromütsiin	Antibiootikum
	Interferoon alfa-2a	Immunomodulaator
	Interferoon alfa-2b	Immunomodulaator
2	Abakaviirsulfaat	Pöördtranskriptaasi inhibiitor
	Amprenaviir	Proteaasiinhibiitor
	Ribaviriin	Immunomodulaator
	Entekaviir	HBV viirusevastane
	Fluoksetiin	SSRI antidepressant
	Valatsükloviirvesinikkloriid	Viirusevastane
3	Tenofoviirdisoproksil	HBV/HIV viirusevastane
	Lamivudiin	HBV/HIV viirusevastane
	Gantsükloviir	CMV viirusevastane
	Valgantsükloviir	CMV viirusevastane
	Nevirapiin	Pöördtranskriptaasi inhibiitor
4	Efavirens	Pöördtranskriptaasi inhibiitor
	Lopinaviir	Proteaasiinhibiitor
	Enfuvirtiid	HIV fusiooni inhibiitor
	Tsiprofloksatsiin	Antibiootikum
	Paroksetiin	SSRI antidepressant
5	Adefoviir (dipivoksil)	Viirusevastane
	Asitromütsiin	Antibiootikum
	Indinaviirsulfaat	HIV proteaasiinhibiitor
	Sertraliin	SSRI antidepressant

Tabel 10. Interferentsi testimine – eksogeensed ja endogeensed ained

Endogeenne	Keskmine kont. (log ₁₀ IU/ml)	Nihe (log ₁₀ IU/ml)
Hemoglobiin	3,50	0,20
Triglütseriidid	3,51	0,09
Bilirubiin	3,56	0,13
Albumiin	3,51	0,17
Eksogeenne (ravimid)	Keskmine kont. (log ₁₀ IU/ml)	Nihe (log ₁₀ IU/ml)
Kogum 1: Zidovudiin (ZDV), sakvinaaviir, ritonaviir, klaritromütsiin, interferoon alfa-2a, interferoon alfa-2b	3,58	0,08
Kogum 2: Abakaviirsulfaat, amprenaviir, ribaviriin, entekaviir, fluoksetiin, valatsükloviirvesinikloriid	3,56	0,04
Kogum 3: Tenofoviirdisoproksil, lamivudiin, gantsükloviir, valgantsükloviir, nevirapiin	3,59	0,06
Kogum 4: Efavirens, lopinaviir, enfuvirtiid, tsiprofloksatsiin, paroksetiin	3,60	0,07
Kogum 5: Adefoviir (dipivoksil), asitromütsiin, indinaviirsulfaat, sertaliin	3,56	0,19
Haigusseisund	Keskmine kont. (log ₁₀ IU/ml)	Nihe (log ₁₀ IU/ml)
Tuumavastane antikeha (Antinuclear Antibody, ANA)	3,61	0,10
Süsteemne erütematoosne luupus (Systemic Lupus Erythematosus, SLE)	3,63	0,10
Reumatoidartriit (Rheumatoid Arthritis, RA)	3,57	0,09
HCV antikehad	3,58	0,07
HBV antikehad	3,64	0,11
Alkohoolne tsirroos	3,68	0,15
Reumatoidfaktor (RF)	3,63	0,10
Mittealkohoolne steatoos (Non-Alcoholic Steatohepatitis, NASH)	3,49	0,06

Laborisene täpsus

Testriba NeuMoDx HBV Quant Test Strip täpsus määrati, testides HBV proovide 8-liikmelist paneeli genotüübist A genotüübini C, kasutades kolme seadet NeuMoDx System 12 päeva jooksul. Määrati sarjasisene, päevasisene ja süsteemisisene täpsus ja üldiseks standardseks hälbeks määrati $\leq 0,22 \log_{10}$ IU/ml. Kasutajate vahel ei määratud täpsust, kuna kasutaja ei ole proovide töötlemisel süsteemiga NeuMoDx System määrava tähtsusega. Laborisese täpsuse tulemused on esitatud *tabelis 11*.

Tabel 11. Laborisese täpsuse uuringu tulemused

PANEELI LIIGE	SIHTKONT. [log ₁₀ IU/ml]	KESK. KONT. [log ₁₀ IU/ml]	N	Nihe	Sarjasisene SD	Päevasisene SD	Süsteemisisene SD	Üldine SD
Genotüüp 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
Genotüüp 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

Partiidevaheline reprodutseeritavus

Testriba NeuMoDx HBV Quant Test Strip partiidevaheline reprodutseeritavus määrati, kasutades põhireaktiivide (NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plate ja NeuMoDx HBV Quant Test Strip) kolme erinevat partiid. Toimivuse hindamiseks kasutati 8-liikmelist paneeli HBV genotüüpidest A ja C Testimine teostati, kasutades kolmel seadmel NeuMoDx System 6 päeva jooksul kolme reaktiivide partiid. Analüüsi partiiseseid ja partiidevahelisi erinevusi. Maksimaalne üldine nihe oli 0,12 log₁₀ IU/ml ja maksimaalne üldine SD oli 0,24 log₁₀ IU/ml. Partiide lõikes ei olnud toimivuses olulist erinevust, kuna kõikide paneeli liikmete kvantifitseerimise väärtused olid tolerantsi määra piires. Partiidevahelise reprodutseeritavuse tulemused on esitatud all tabelis 12.

Tabel 12. Partiidevahelise reprodutseeritavuse uuringu tulemused

PANEELI LIIGE	SIHTKONT. [log ₁₀ IU/ml]	KESK. KONT. [log ₁₀ IU/ml]	N	Nihe	Partiisene SD	Partiidevaheline SD	Üldine SD
Genotüüp 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
Genotüüp 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

Kontrolli tõhusus

Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay kaasatud SPC1 tõhusust tuvastada mistahes töötlustappide tõrkeid või inhibiitoreid, mis mõjutavad analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay toimivust, hinnati kaht levinud HBV genotüüpi (A ja C) kasutades. Testitud tingimused esindavad kriitilisi töötlustappide tõrkeid, mis võivad potentsiaalselt tekkida proovide töötlemise ajal ja mida seadme NeuMoDx System toimivust jälgivad süsteemianurid ei pruugi tuvastada. SPC1 tõhusust hinnati selliseid tõrketingimusi simuleerides. SPC1 sihtmärk kajastas töötlustappide tõrkeid, millel oli HBV tuvastamise/kvantifitseerimisele kahjulik mõju (inhibiitori olemasolu ja pesuetapi puudumine). Tingimuste korral, mille juures SPC1 amplifikatsioon ei olnud mõjutatud, näidati ka, et HBV sihtmärk amplifitseerus kontrolliproovidele esitatud kvantitatiivse väärtuse 0,2 log₁₀ IU/ml ulatuses.

Tabel 13. Proovi töötlemise kontrolli tõhusus

Testitud töötlemisetapi tõrge	Proovi töötlemise kontrolli amplifikatsioonistaatus	HBV sihtmärgi amplifikatsioonistaatus	Analüüsi tulemus
Presence of Inhibitor (Inhibiitori sisaldus)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Unresolved (Lahendamata)
No Wash Delivered (Pesemisreaktiivi ei ole)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Not Amplified (Mitteamplifitseeritud)	Unresolved (Lahendamata)
No Wash Blowout (Pesemisreaktiivi väljauhtumist ei toimu)	Amplified (Amplifitseeritud)	Amplified (Amplifitseeritud)	Positive (Positiivne) kvantifitseerimine kontrolli 0,2 log ₁₀ IU/ml ulatuses

Ristsaastumine

Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay ristsaastumise määr määrati HBV proovi kolme partii analüüsi testimisega, mille hulgas olid kõrged positiivsed ja negatiivsed proovid. Kokku hõlmas see normaalse HBV negatiivse inimese EDTA-plasma proovi 144 korduse ja kõrge tiitriga HBV proovi 144 korduse testimist 8,0 log₁₀ IU/ml juures. Kõik 144 negatiivse proovi kordust olid negatiivsed, mis näitab, et kõikide analüüside töötlemisel ei esinenud süsteemis NeuMoDx System ristsaastumist.

Proovimaatriksi ekvivalentsus

Viidi läbi testid, et näidata nii etüleendiamiintetraäädikhappe (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) kui ka happelise tsitraatdektroosi (acid citrate dextrose, ACD) kogumiskatsutitesse kogutud plasmaproovide ekvivalentseid tulemusi. Lisaks viidi läbi testid, et näidata ekvivalentsust värskete ja külmutatud proovide vahel. Nii EDTA kui ka ACD kogumiskatsutitesse koguti nelikümmend doonoriproovi, mis saadi BioIVT-lt. Neid värsked proove rikastati HBV genotüübi A või C nelja tasemega ja testiti ekvivalentsuse suhtes. Seejärel proove külmutati minimaalselt 24 tundi, sulatati üles ja testiti uuesti. Värskete ja külmutatud ning EDTA ja ACD proovide vahel näidati suurepäraselt ekvivalentsust regressioonanalüüsiga.

Tabel 14. Proovide ekvivalantsuse tulemuste regressioonanalüüs

Parameeter [Vastuvõtukriteerium]	Värske vs. külmutatud	ACD vs. K2EDTA
Tõus [0,9–1,1]	1,002	0,996
Lõikepunkt [$<0,5$]	-0,031	0,018
Determinatsioonikordaja [$R^2 > 0,95$]	0,995	0,993

Teostati täiendav test, et näidata analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay toimivuse ekvivalentsust esmaste ja sekundaarsete kogumiskatsutite vahel. HBV negatiivsete doonoriproovide paneele, mida oli rikastatud HBV sihtmärgiga (AccuPlex™ HBV Control), töödeldi esmalt esimeses proovikatsutis. Igast proovist järelejäänud plasma alikvooditi sekundaarsesse proovikatsutisse ja töödeldi uuesti. Esitatud tulemustes ei leitud esmase ja sekundaarse proovikatsuti töötlemise vahel olulisi erinevusi.

Samuti hinnati analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay toimivust värske ja külmutatud seerumiproovide võrdluses, kasutades eraldiseisvaid värskeid seerumi doonorproove, mida oli rikastatud HBV-ga analüüsi lineaarsesse vahemikku jäävate kontsentratsioonidega. Pärast värske proovide töötlemist külmutati seerumiproove vähemalt 24 tundi temperatuuril $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Külmutatud proovid sulatati seejärel üles ja testiti uuesti. Identsete värske ja külmutatud proovide vahel hinnati lineaarset ekvivalentsust, kasutades nii Passing-Babloki kui ka Demingi regressioonanalüüsi. Passing-Babloki regressiooni p-väärtus 0,329 (suurem kui 0,05) ja Demingi regressiooni korrelatsioonikordaja 0,989 näitavad värske ja varasemalt külmutatud proovide vahel suurepärasest ekvivalentsust. Värske ja külmutatud oleku vaheline nihe määrati Bland-Altmani meetodiga äärmiselt kaduvväikse väärtuse $-0,002\text{ log}_{10}\text{ IU/ml}$ juurde ja see näitab enamgi veel ekvivalentsust värske ja külmutatud proovide töötlemise võrdluses. Viimaseks määrati nii värske kui ka külmutatud proovide korral korrelatsioon süsteemi esitatud HBV kontsentratsioonide ja eeldatavate kontsentratsioonide vahel lihtsa lineaarse regressiooniga ja R^2 väärtused olid vastavalt 0,991 ja 0,985.

Proovi stabiilsus

HBV negatiivseid EDTA-s plasma- ja seerumiproove rikastati HBV-ga tasemel $3,7\text{ log}_{10}\text{ IU/ml}$ ja testiti erinevatel ajapunktidel, samal ajal kui neid hoiti seadmes NeuMoDx System - kohe (aeg 0), pärast 4 tundi, pärast 8 tundi ja pärast 24 tundi. Ajapunktide lõikes ei täheldatud olulist erinevust toimivuses, mis näitab, et proovi saab laadida seadmesse NeuMoDx System kuni 24 tunniks, ilma et see mõjutaks analüüsi toimivust.

Sarnane test teostati plasma- ja seerumiproovidega, mida hoiti enne testimist labori külmikus (vahemikus $2\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$) kuni 7 päeva ning toimivuses ei märgatud olulist erinevust.

Viimasena testiti proove, mida hoiti enne testimist temperatuuril $\leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ kuni 6 kuud (plasma) ja kuni 4 kuud (seerum), ja ei täheldatud värske proovidega võrreldes olulist erinevust. Külmutamist ja sulatamist korrati uuesti ja ka see ei näidanud muutust toimivuses pärast 2 külmutamist ja sulatamist (plasma) või 4 külmutamist ja sulatamist (seerum).

Meetodi korrelatsioon

Plasmaproovid

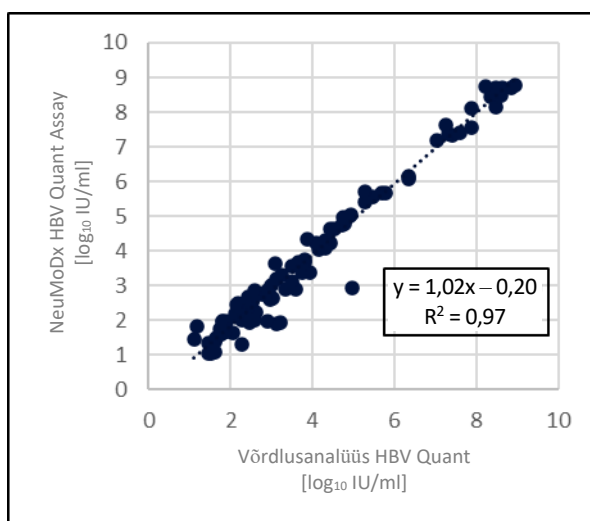
Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay kvalitatiivset ja kvantitatiivset toimivust hinnati FDA/CE-heakskiidetud võrdlusanalüüsides suhtes, testides HBV infektsiooniga patsientide lahjendamata plasma kliinilisi proove. Testimine viidi läbi NeuMoDx-i siseselt ühepoolset pimedas uuringus, kasutades kolmelt sõltumatult võrdluslaborilt saadud kliinilisi proove. Sellesse kvalitatiivsesse uuringusse koondati kokku 308 HBV positiivse ja negatiivse proovi tulemused, et arvutada välja analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay kliiniline sensitiivsus ja spetsiifilisus. Kvalitatiivne analüüs viidi läbi alla LLoQ-i jäävad positiivsed proovid nii välja arvates kui ka kaasates, kuna selliste madalate proovide klassifitseerimine võib testiti erineda. Kokku kasutati 97 HBV positiivset kliinilist proovi, mis jäid mõlema testi ühisesse lineaarsesse vahemikku, et luua lineaarne regressioon kvantitatiivse toimivuse määramiseks. Lisaks suurepärasele sensitiivsusele ja spetsiifilisusele näitas testriba NeuMoDx HBV Quant Test Strip suurepärasest kvantitatiivset korrelatsiooni võrdlusanalüüsiga. Nende tulemuste põhjal hinnati analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay sensitiivsus tasemele 100% (CI 96,4–100%) ja spetsiifilisus tasemele 95,6% (CI 91,9–97,7%). 95% usaldusvahemikud arvatati, kasutades 95% skoori usaldusväärse intervallmeetodiga EP12-A2 alusel. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, Approved Guideline, Vol 28, No 3.⁶

Tabel 15. Seadmel NeuMoDx 288 Molecular System teostatud analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay kliinilise sensitiivsuse ja spetsiifilisuse näitajad plasmaproovide korral

	Võrdlusanalüüs (POS)	Võrdlusanalüüs (NEG)	KOKKU
Analüüs NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	103	9	112
Analüüs NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
KOKKU	103	205	308
SENSITIIVSUS = 100% 95% CI (96,4–100%) SPETSIIFILISUS = 95,6% 95% CI (91,9–97,7%)			

Tabel 16. Seadmel NeuMoDx 288 Molecular System teostatud analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay kliinilise sensitiivsuse ja spetsiifilisuse näitajad, kui plasmaproovid <LLOQ on välja arvatud

	Võrdlusanalüüs (POS)	Võrdlusanalüüs (NEG)	KOKKU
Analüüs NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	99	5	104
Analüüs NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
KOKKU	99	201	300
SENSITIIVSUS = 100% 95% CI (96,3–100%) SPETSIIFILISUS = 97,5% 95% CI (94,3–98,9%)			



Joonis7. Kvantitatiivse meetodi korrelatsiooni uuring, kasutades analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay

Seadmel NeuMoDx 96 Molecular System teostati täiendav test, kasutades 159 kliinilist plasma jääkproovi. Nagu ka seadmelt NeuMoDx 288 saadud tulemuste korral, võrreldi seadmelt NeuMoDx 96 saadud tulemusi nendega, mille annavad FDA-heakskiidetud ja/või CE-märgisega analüüsid, mida kasutavad laborid ravistandardi testimiseks. Tulemused, sh kliinilise sensitiivsusega ja spetsiifilisusega tõeväärtustabel on toodud 95% usaldusvahemikuga tabelis 17.

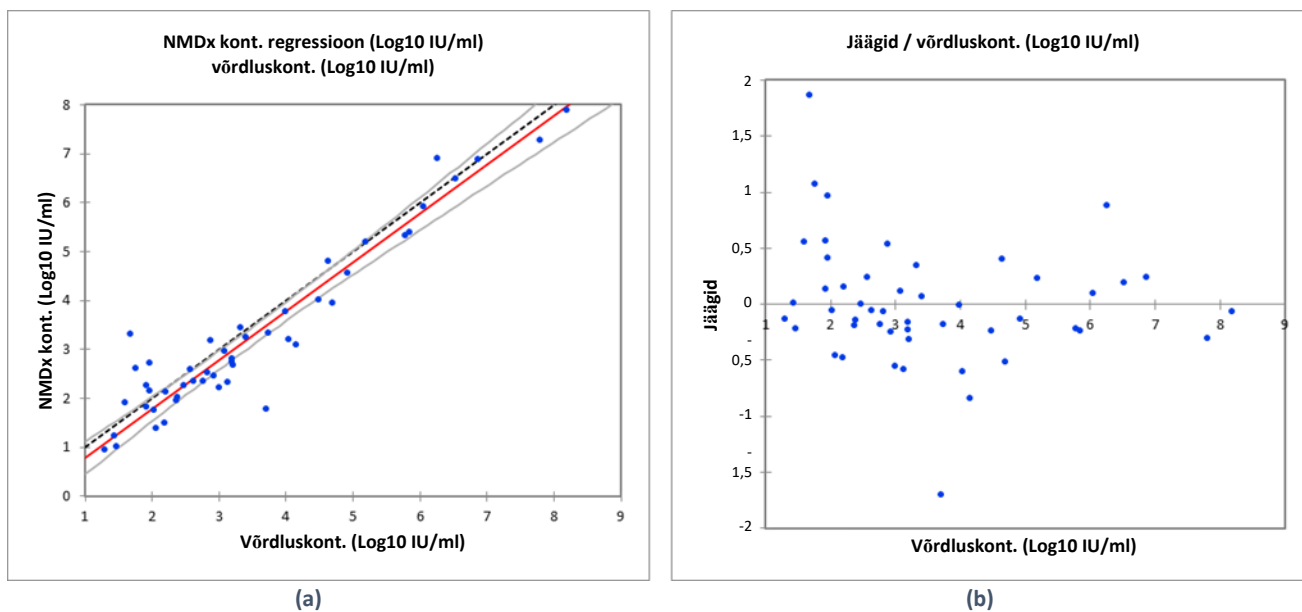
Tabel 17. Kliinilise toimivuse kokkuvõte – analüüs NeuMoDx HBV Quant Assay seadmel NeuMoDx 96 Molecular System

	Võrdlusanalüüs (POS)	Võrdlusanalüüs (NEG)	KOKKU
Analüüs NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	60	2	62
Analüüs NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	1	95	96
KOKKU	61	97	158
SENSITIIVSUS = 98% 95% CI (90–100%) SPETSIIFILISUS = 98% 95% CI (92–100%)			

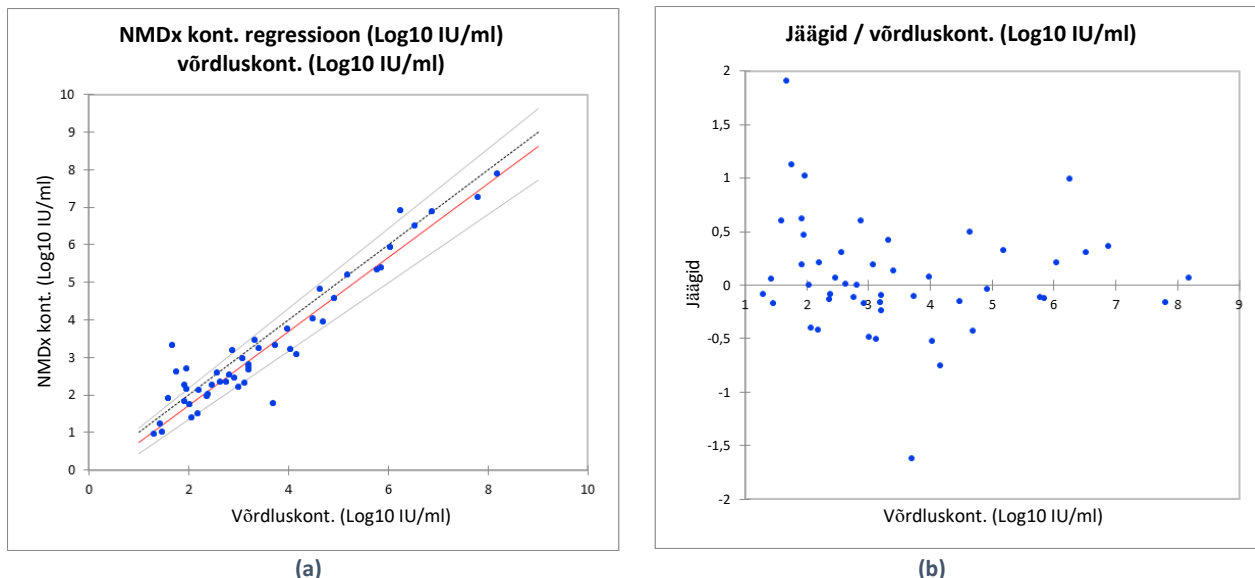
Seerumiproovid

Analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay kvantitatiivset toimivust hinnati FDA/CE-heakskiidetud võrdlusanalüüside suhtes, testides HBV infektsiooniga patsientide deidentifitseeritud plasma kliinilisi HBV positiivse seerumi jääkproove. Kokku testiti NeuMoDx-is kahelt sõltumatult võrdluslaborilt saadud 66 HBV positiivset kliinilist seerumiproovi, kasutades analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay. Testitud teadolevalt positiivsetest seerumiproovidest tuvastati 58-l positiivne tulemus, millest üheksa (9) olid vastavalt all- või ülalpool analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay ja/või võrdlustesti LLoQ-i või ULoQ-i. Kokku kasutati 49 HBV positiivset kliinilist proovi, mis jäid mõlema testi ühisesse lineaarsesse vahemikku, et luua regressioonanalüüsid kvantitatiivse toimivuse määramiseks.

Geneeriti ekvivalentsuse ja jäägi diagrammid, et esitada kõigi testitud proovide korral analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay kontsentratsioonide ja võrdlustesti kontsentratsiooniväärtuste vaheline korrelatsioon, kasutades Demingi ja Passing-Babloki regressioonanalüüsi, nagu on näidatud joonisel 8 ja 9. Demingi regressiooni sobivust näitab tõusu koefitsient 0,99 usaldusvahemikuga 95% (0,93, 1,07) ja lõikepunkt (nihe) –0,22 usaldusvahemikuga 95% (–0,56, 0,12), mis näitab, et analüüsiga NeuMoDx HBV Quant Assay ja võrdlustestidega saadud kontsentratsiooniväärtused on tugevas korrelatsioonis ja sobiva nihkega. Passing-Babloki lineaarset sobivust näitab tõusu koefitsient 0,99 usaldusvahemikuga 95% (0,91, 1,06) ja lõikepunkt (nihe) –0,25 usaldusvahemikuga 95% (–0,48, 0,06), mis näitab, et analüüsiga NeuMoDx HBV Quant Assay ja võrdlustestidega saadud kontsentratsiooniväärtused on tugevas korrelatsioonis ja sobiva nihkega, nagu on näidatud tabelis 18.



Joonis 8. Ekvivalentsuse (a) ja jääkide (b) diagrammid – analüüsi NeuMoDx HBV Test vs. võrdlustestide kumulatiivne analüüs – Demingi analüüs.



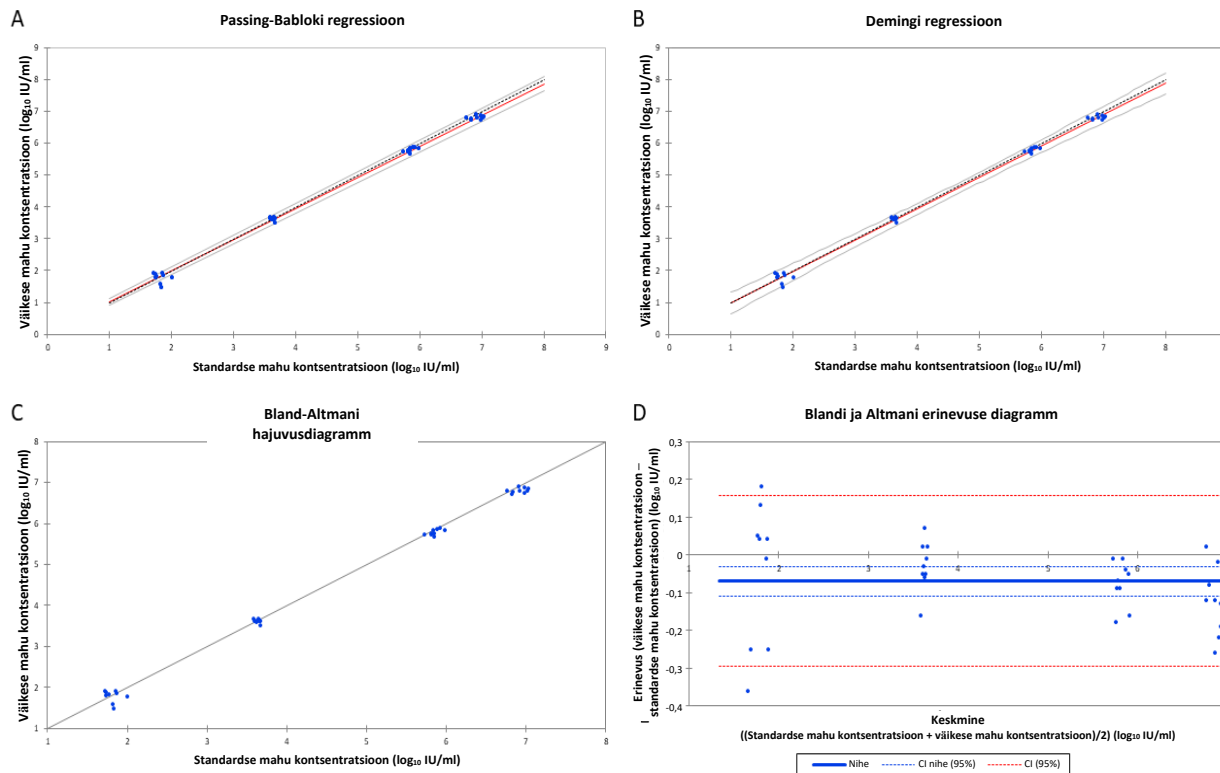
Joonis 9. Ekvivalentsuse (a) ja jääkide (b) diagrammid – analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay testi vs. võrdlustestide kumulatiivne analüüs – Passing-Babloki analüüs.

Tabel 18. Seerumiproovide Demingi ja Passing-Babloki lineaarse regressioonanalüüsi kokkuvõte

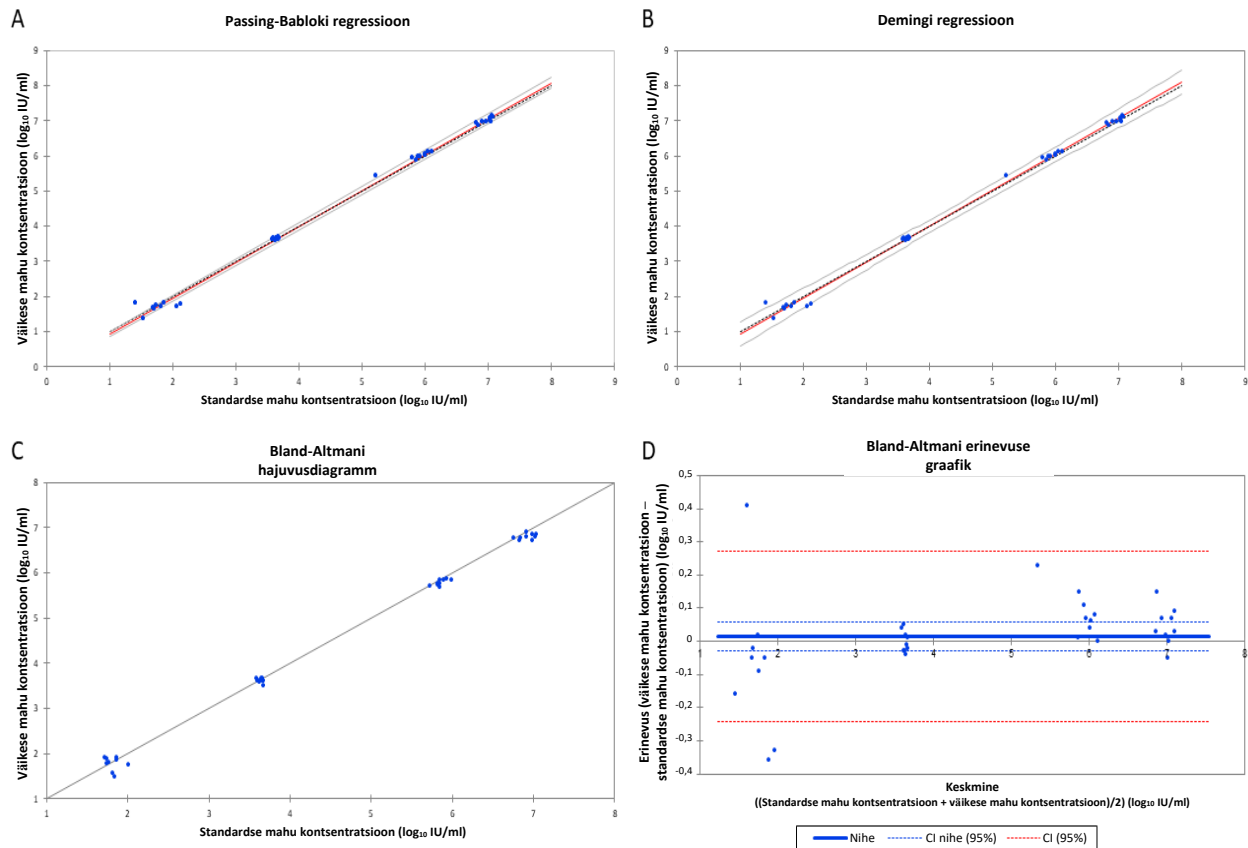
Demingi analüüs			Passing-Babloki analüüs		
Lõikepunkt	Tõusu koefitsient	R2	Lõikepunkt	Tõusu koefitsient	p-väärtus
-0,22 95% CI (-0,56; 0,12)	0,99 95% CI (0,93; 1,07)	0,95	-0,25 95% CI (-0,48; 0,06)	0,99 95% CI (0,91; 1,06)	0,89

Kunstlike proovide testimine –200 µl proovimahuga töövoog

Kvantitatiivne korrelatsioon 200 µl ja 550 µl proovimahuga töövoogude vahel kinnitati, kasutades paneeli, mis koosnes eraldiseivatest HBV negatiivsetest plasma- ja seerumiproovidest, mida oli rikastatud nelja teadaoleva tasemega HBV kontrollmaterjaliga, mis on jälgitav WHO 4. HBV DNA nukleiinhapetestide rahvusvahelise standardinini. Need eraldiseivaid plasma- ja seerumiproove töödeldi, kasutades nii 550 µl ja 200 µl proovimahuga töövoogusid kokku 288 teostatud testil. NeuMoDx tarkvara poolt 200 µl ja 550 µl proovimahu töövoogude korral kunstliku paneeli kohta esitatud kontsentratsioonide ekvivalentsuse võrdlused teostati eraldiseivate proovide põhjal. Demingi ja Passing-Babloki regressioonanalüüsi tõusud olid plasmas vastavalt 0,985 ja 0,998 lõikepunktidega -0,001 ja 0,053 ja seerumis vastavalt 1,024 ja 1,018 lõikepunktidega 0,095 ja 0,070, mis näitab kahe töötlemismahu vahel HBV kvantifitseerimise suurepärasest ühilduvust. Blandi ja Altmani võrdlus näitas kahe töövoog vahel minimaalset nihet. Lisaks oli 200 µl töövoog eeldatava kontsentratsiooni ja esitatud kontsentratsiooni lihtsa lineaarse regressioonanalüüsi tõus 1,047 ja korrelatsioonikordaja 0,998 (plasma) ning vastavalt 1,113 ja 0,992 (seerum), mis näitab veelgi analüüsi NeuMoDx HBV Quant Assay 200 µl proovimahu töövoog suurepärasest toimivust. Nende uuringute tulemused on kokku võetud allpool *joonisel 10* ja *joonisel 11*.



Joonis 10. Väikese mahu esitatud kontsentratsioonide ja standardse proovimahu esitatud kontsentratsioonide ekvivalentsdiagrammide võrdlused. A) Passing-Babloki regressioon. B) Demingi regressioon C) Bland-Altman hajuvusdiagramm D) Bland-Altman erinevuse diagramm – plasmaproovid



Joonis 11. Väikse mahu esitatud kontsentratsioonide ja standardse proovimahu esitatud kontsentratsioonide ekvivalentsusdiagramme võrdlused. A) Passing-Babloki regressioon. B) Demingi regressioon C) Bland-Altman hajuvusdiagramm D) Bland-Altman erinevuse diagramm – seerumiproovid

VIITED

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.

KAUBAMÄRGID

NeuMoDx™ on ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. kaubamärk.
 NeuDry™ on ettevõtte NeuMoDx Molecular, Inc. kaubamärk.
 TaqMan® on ettevõtte Roche Molecular Systems, Inc. registreeritud kaubamärk.

Kõik muud tootenimed, kaubamärgid ja registreeritud kaubamärgid, mis võivad esineda selles dokumendis, on nende vastavate omanike omandid.

SÜMBOLITE SELETUSED

R only Ainult retsepti alusel



Tootja



In vitro diagnostiline meditsiiniseade



Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses



Katalooginumber



Partii kood



Kasutamise lõppkuupäev



Temperatuuri piir



Mitte korduskasutada



Sisaldab piisavalt <n> testi jaoks



Vaadake kasutusjuhendit



Ettevaatust



Bioloogilised ohud



CE-märgis



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

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



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

CE 2797

Tehniline tugi / järelevalve analüüs: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents