

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

**R only**

ATENȚIE: Doar pentru export din S.U.A.

**IVD** A se utiliza pentru diagnosticarea *in vitro* cu NeuMoDx 288 și NeuMoDx 96 Molecular System

 Pentru actualizări ale prospectului, accesați: [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 288 Molecular System; Nr.P. 40600108

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 96 Molecular System; Nr.P. 40600317

### DOMENIUL DE UTILIZARE

NeuMoDx HBV Quant Assay este o testare automată, *in vitro* de amplificare a acidului nucleic, pentru cuantificarea ADN-ului virusului hepatitei B (HBV) în eșantioanele de plasmă și ser umane pentru genotipurile de la A la H de HBV la indivizii infectați cu HBV. NeuMoDx HBV Quant Assay aplicat pe NeuMoDx 288 Molecular System și NeuMoDx 96 Molecular System (sistemele NeuMoDx System) încorporează extracția automatizată a ADN-ului pentru a izola acidul nucleic țintă de eșantion și reacția de polimerizare în lanț în timp real (qPCR) pentru a viza secvențele puternic conservate în genomul viral al hepatitei B.

NeuMoDx HBV Quant Assay este destinat utilizării ca ajutor în gestionarea pacienților cu infecții cu HBV. Rezultatele obținute de la NeuMoDx HBV Quant Assay trebuie interpretate în contextul tuturor concluziilor clinice și de laborator relevante. NeuMoDx HBV Quant Assay nu este destinat utilizării ca testare de screening pentru sânge sau produse pe bază de sânge, sau ca instrument de diagnosticare pentru diagnosticarea stării clinice a infecției cu HBV.

### REZUMAT ȘI EXPLICAȚII

Sângele integral uman recoltat în eprubete sterile de recoltare a sângelui, care conțin acid etilendiaminetetraacetic (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) sau acid-citrat-dextroză (Acid Citrate-Dextrose, ACD) ca agenți de anticoagulare sau în eprubete pentru pregătirea plasmei (Plasma Preparation Tubes, PPT) poate fi folosit pentru pregătirea plasmei, în timp ce serul trebuie recoltat în eprubete de recoltare a serului în eprubete pentru separarea serului (Serum Separation Tubes, SST). Pentru pregătirea pentru testare, plasma sau serul dintr-o eprubetă secundară pentru eșantioane sau sângele fracționat într-o eprubetă primară pentru eșantioane compatibilă cu NeuMoDx System este încărcat(ă) pe NeuMoDx System utilizând un suport dedicat de eprubete pentru eșantioane. Pentru fiecare eșantion, o parte alicotă de probă plasmatică sau serică este amestecată cu NeuMoDx Lysis Buffer 1, iar NeuMoDx System parcurge automat toate etapele necesare pentru extracția acidului nucleic țintă, pregătește ADN-ul izolat pentru amplificare PCR în timp real și, dacă aceștia sunt prezenți, amplifică și detectează produșii de amplificare (secțiuni ale țintei genomice HBV în regiunea puternic conservată, care codifică *proteina X* și *pre proteina C*). NeuMoDx HBV Quant Assay include o substanță de control pentru procesarea probei de ADN (SPC1), care să ajute la monitorizarea prezenței unor substanțe potențial inhibitoare, precum și a erorilor NeuMoDx System sau de reactiv, care pot fi întâlnite în timpul proceselor de extracție și amplificare.

Virusul hepatitei B (Hepatitis B virus, HBV) este agentul cauzator al infecției hepatitei B la ficat, fiind o problemă mondială de sănătate. Hepatita B poate provoca hepatita acută sau poate evolua într-o afecțiune cronică, ducând la ciroză sau cancer hepatic. Riscul dezvoltării unei afecțiuni cronice depinde în primul rând de vârstă; dacă virusul este transmis la naștere, există o șansă > 90% de dezvoltare a unei afecțiuni cronice, în timp ce un adult care se infectează are o șansă de 2-6% de a dezvolta o afecțiune cronică.<sup>1</sup> HBV este transmis fie prin contactul sânge-sânge cu o persoană infectată, prin act sexual, folosirea în comun a acelor cu o persoană infectată în consumul de droguri intravenos sau transmiterea verticală, de la mamă la copil în timpul nașterii. În Statele Unite, aproximativ 850.000 de persoane trăiesc cu infecție cu HBV, majoritatea noilor infecții rezultând din transmiterea prin act sexual sau consumul de droguri injectabile.<sup>2</sup> În Africa și Pacificul de Vest, este cunoscut faptul că aproximativ 5% din populație este infectată. La nivel mondial, în 2015, infecția cu HBV a provocat 885.000 de decese, în principal din cauza cirozei sau a carcinomului hepatocelular.<sup>3</sup> Există un vaccin care este eficient în proporție de 95% în prevenirea infecției cu HBV, ceea ce duce la mai puține cazuri diagnosticate în fiecare an.<sup>4</sup>

Standardul actual de îngrijire pentru tratarea infecției cu HBV este terapia antivirală, care necesită o monitorizare constantă pentru a se asigura că tratamentul evoluează așa cum se dorește. Monitorizarea terapiei cu ajutorul NeuMoDx HBV Quant Assay le poate oferi medicilor informații necesare pentru a ajuta la gestionarea pacienților cu infecții cu HBV.

### PRINCIPIILE PROCEDURII

Testul NeuMoDx HBV Quant Assay combină extracția automatizată a ADN-ului, amplificarea și detecția prin PCR în timp real. Eșantioanele de sânge integral sunt recoltate în eprubete cu EDTA, ACD sau PPT pentru pregătirea plasmei și/sau în eprubete SST pentru pregătirea serului. Eșantionul primar de sânge (fracționat) sau o parte alicotă de plasmă/ser într-o eprubetă secundară pentru eșantioane compatibilă este codificat(ă) cu cod de bare și amplasat(ă) pe NeuMoDx System. NeuMoDx System aspiră automat o parte alicotă din plasmă/ser pentru a o amesteca cu NeuMoDx Lysis Buffer 1 și cu agenții incluși în NeuMoDx Extraction Plate, pentru începerea procesării. NeuMoDx System automatizează și integrează extracția și concentrarea ADN-ului, pregătirea reactivilor, precum și amplificarea/detecția acidului nucleic aferente secvențelor țintă, utilizând PCR în timp real. Substanța de control pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC1) inclusă ajută la monitorizarea prezenței substanțelor inhibitoare, precum și a erorilor de sistem, de proces sau de reactiv. După încărcarea eșantionului pe NeuMoDx System nu mai este necesară intervenția operatorului.

NeuMoDx System utilizează o combinație de căldură, enzimă litică și reactivi de extracție pentru a efectua automat liza, extracția ADN-ului și eliminarea inhibitorilor. Acizii nucleici degajați sunt captați de particule paramagnetice. Particulele, împreună cu acidul nucleic legat, sunt încărcate în NeuMoDx Cartridge, unde elementele nelegate sunt spălate cu NeuMoDx Wash Reagent. ADN-ul legat este apoi eluat folosind NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx System utilizează ADN-ul eluat pentru rehidratarea reactivilor brevetați de amplificare NeuDry™, care conțin toate elementele necesare pentru amplificarea țintelor HBV și SPC1. Acest proces permite amplificarea și detecția simultane ale secvenței ADN a țintei și ale secvenței ADN a substanței de control. La reconstituirea reactivilor PCR deshidratați, NeuMoDx System distribuie amestecul pregătit compatibil PCR într-o cameră PCR (pe eșantion) a NeuMoDx Cartridge. Amplificarea și detecția secvențelor ADN ale substanței de control și ale țintei (dacă există) au loc în camera PCR. NeuMoDx Cartridge este conceput pentru a îngloba ampliconul după PCR, eliminând practic riscul contaminării post-amplificare.

Țintele amplificate sunt detectate în timp real, utilizând chimia sondei de hidroliză (denumită în mod popular drept chimie TaqMan®) cu molecule depistate cu sonda de testare fluorogenică specifică oligonucleotidelor, specifică ampliconilor țintelor respective. Sondele TaqMan constau în fluorofor legat covalent de capătul 5' al tulpinii sondei specifice oligonucleotidelor și într-o substanță extincătoare de fosforescență la capătul 3'. Deși sonda este intactă, fluoroforul și substanța extincătoare de fosforescență sunt în apropiere, ceea ce face ca molecula de substanță extincătoare de fosforescență să suprimă fluorescența emisă de fluorofor prin transfer de energie de rezonanță Förster Transfer de energie de rezonanță Förster, (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Sondele TaqMan sunt destinate temperaturii într-o regiune ADN amplificată printr-un set specific de soluții de amorsare. Pe măsură ce Taq ADN-polimeraza extinde soluția de amorsare și sintetizează noua tulpină, activitatea exonucleazică 5'-3' a Taq ADN-polimerazei degradează sonda care a fost temperată la șablon. Degradarea sondei degajă fluorofor și își întrerupe proximitatea față de substanța extincătoare de fosforescență, astfel prevenind efectul de temperare cauzat de FRET și permițând detecția fluoroforului. Semnalul fluorescent rezultat, detectat în ciclul termic pentru PCR cantitativ NeuMoDx System este direct proporțional cu fluoroforul degajat și poate fi corelat cu cantitatea prezentă de țintă.

O sondă TaqMan etichetată cu un fluorofor (Excitație: 490 nm și Emisie: 521 nm) la capătul 5' și o substanță extincătoare de fosforescență de culoare închisă la capătul 3', este utilizată pentru detecția ADN-ului HBV. Pentru detecția SPC1, sonda TaqMan este etichetată cu o vopsea fluorescentă alternativă (Excitație: 535 nm și Emisie: 556 nm) la capătul 5', și o substanță extincătoare de fosforescență de culoare închisă la capătul 3'. Software-ul sistemului NeuMoDx System monitorizează semnalul fluorescent emis de sondele TaqMan la sfârșitul fiecărui ciclu de amplificare. Când amplificarea este completă, software-ul NeuMoDx System analizează datele și raportează un rezultat final (POSITIVE (POZITIV)/NEGATIVE (NEGATIV)/INDETERMINATE (NECONCLUDENT)/UNRESOLVED (NEREZOLVAT)/NO RESULT (NICIUN REZULTAT)). Dacă un rezultat este pozitiv și concentrația calculată este în limitele de cuantificare, software-ul NeuMoDx System oferă, de asemenea, o valoare cantitativă asociată cu proba.

### REACTIVI/CONSUMABILE

#### Materiale furnizate

REF	Conținut	Unități per pachet	Testări pe unitate	Teste per pachet
201300	<b>NeuMoDx HBV Quant Test Strip</b> Reactivi PCR deshidratați care conțin sonda și soluțiile de amorsare TaqMan specifice HBV și SPC1	6	16	96

#### Materiale necesare, dar nefurnizate (disponibile separat de la NeuMoDx)

REF	Conținut
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> Particule paramagnetice deshidratate, enzimă litică și substanțe de control pentru procesarea probei
800100 sau 800102	<b>NeuMoDx HBV Calibrators</b> Seturi de unică folosință de calibratoare puternice și slabe pentru HBV, pentru a stabili validitatea curbei de calibrare
900101 sau 900102	<b>NeuMoDx HBV External Controls</b> Seturi de unică folosință de substanțe de control pozitive și negative
400400	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 1</b>
400100	<b>NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Hamilton® CO-RE/CO-RE II Tips (300 µL) with Filters</b>
235905	<b>Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (1000 µL) with Filters</b>

#### Instrumentar necesar

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

### **AVERTISMENTE ȘI PRECAUȚII**

- NeuMoDx HBV Quant Test Strip este destinat exclusiv diagnosticării *in vitro* cu sistemele NeuMoDx System.
- Nu utilizați reactivii sau consumabilele după data de expirare menționată.
- Nu utilizați reactivii în cazul în care sigiliul de siguranță este rupt sau dacă ambalajul este deteriorat la sosire.
- Nu utilizați consumabilele sau reactivii dacă punga de protecție este deschisă sau ruptă la sosire.
- Înainte ca rezultatele testării să poată fi generate pentru probele clinice trebuie să fie disponibilă o calibrare validă a testării (generată prin procesarea calibratoarelor puternice și slabe din calibratoarele NeuMoDx HBV Calibrator).
- NeuMoDx HBV External Controls trebuie procesate la fiecare 24 de ore pe parcursul testării cu NeuMoDx HBV Quant Assay.
- Volumul minim al eșantionului depinde de dimensiunea eprubetei, de suportul de eșantioane și de procesarea volumului eșantionului, conform definiției de mai jos. Volumul sub minimul specificat poate duce la o eroare „Quantity Not Sufficient” (Cantitate insuficientă).
- Utilizarea eșantioanelor depozitate la temperaturi improprie sau în afara timpilor de depozitare specificați poate produce rezultate nevalide sau eronate.
- Evitați în permanență contaminarea microbiană și deoxiribonucleazică (DNază) a tuturor reactivilor și consumabilelor. Se recomandă folosirea pipetelor de transfer sterile de unică folosință, fără DNază, dacă utilizați eprubetele secundare. Utilizați câte o pipetă nouă pentru fiecare eșantion.
- Pentru a evita contaminarea nu manipulați și nu desfaceți niciun cartuș NeuMoDx Cartridge după amplificare. În niciun caz nu recuperați cartușele NeuMoDx Cartridge din recipientul pentru deșeurii biopericuloase (NeuMoDx 288 Molecular System) sau din coșul de gunoi pentru deșeurii biopericuloase (NeuMoDx 96 Molecular System). NeuMoDx Cartridge este conceput pentru a preveni contaminarea.
- În cazurile în care testările PCR cu eprubete deschise sunt realizate în laborator, aveți grijă să vă asigurați că NeuMoDx HBV Quant Test Strip, consumabilele și reactivii suplimentari necesari pentru testare, echipamentul individual de protecție, precum mănuși și halate de laborator, și the NeuMoDx System nu sunt contaminate.
- În timpul manipulării reactivilor și a consumabilelor NeuMoDx trebuie purtate mănuși curate din nitril, fără pulbere. Aveți grijă să nu atingeți suprafața superioară a NeuMoDx Cartridge, suprafața de atașare cu folie a NeuMoDx HBV Quant Test Strip și NeuMoDx Extraction Plate, ori suprafața superioară a NeuMoDx Lysis Buffer 1; manipularea consumabilelor și a reactivilor trebuie făcută doar prin atingerea suprafețelor laterale.
- Fișele cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS) sunt puse la dispoziție pentru fiecare reactiv (după caz), la [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu).
- Spălați-vă bine pe mâini după efectuarea testării.
- Nu pipetați prin intermediul cavității bucale. Nu fumați, nu consumați băuturi sau alimente în zonele în care se manipulează eșantioane sau reactivi.
- Manipulați întotdeauna eșantioanele ca și cum ar fi infecțioase și în conformitate cu procedurile sigure de laborator, cum ar fi cele descrise în *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>5</sup> și în Documentul CLSI M29-A4.<sup>6</sup>
- Eliminați reactivii nefolosiți și deșeurile în conformitate cu reglementările naționale, federale, regionale, statale și locale.
- A nu se reutiliza.

### **DEPOZITAREA, MANIPULAREA ȘI STABILITATEA PRODUSULUI**

- Bandelele NeuMoDx HBV Quant Test Strip sunt stabile în ambalajul primar până la data de expirare menționată pe eticheta aplicată direct pe produs, dacă sunt depozitate la o temperatură cuprinsă între 4 și 28 °C.
- Nu utilizați consumabilele și reactivii după data de expirare menționată.
- Nu utilizați niciun produs de testare dacă ambalajul primar sau cel secundar a fost compromis vizual.
- Nu reîncărcați niciun produs de testare care a fost încărcat anterior pe un alt NeuMoDx System.
- Odată încărcată, NeuMoDx HBV Quant Test Strip poate rămâne pe NeuMoDx System timp de 62 zile. Termenul de valabilitate rămas al bandelelor de testare încărcate este urmărit de software și raportat utilizatorului în timp real. Eliminarea unei bandelete de testare care a fost utilizată după perioada admisibilă va fi solicitată de sistem.

### **RECOLTAREA, TRANSPORTUL ȘI DEPOZITAREA EȘANTIOANELOR**

1. Manipulați toate eșantioanele, calibratoarele și substanțele de control ca și cum ar fi capabile să transmită agenți infecțioși.
2. Nu congelați eșantioanele de sânge integral sau alte eșantioane depozitate în eprubete primare.
3. Pentru pregătirea eșantioanelor de plasmă, sângele integral trebuie recoltat în eprubete sterile, utilizând EDTA sau ACD drept anticoagulanți. Urmăriți instrucțiunile producătorului eprubetelor de recoltare a eșantioanelor pentru pregătire și depozitare.

4. Pentru pregătirea eșantioanelor de ser, sângele integrat trebuie recoltat în eprubete SST. Urmați instrucțiunile producătorului eprubetelor de recoltare a eșantioanelor pentru pregătire și depozitare.
5. Eșantioanele pot fi testate în eprubete de recoltare primare sau în eprubete pentru eșantioane secundare. Recomandate pentru testarea în eprubete primare:
  - a. Eșantioane de plasmă: BD Vacutainer® Plus Plastic K<sub>2</sub>EDTA Tube (BD #368589) sau BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
  - b. Eșantioane de ser: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD #367820) sau BD Vacutainer SST™ Tube (BD #367988).
6. Eșantioanele pregătite pot fi depozitate pe NeuMoDx System timp de până la 8 ore pentru plasmă și 24 de ore pentru ser înainte de procesare. Dacă este necesar un timp suplimentar de depozitare, se recomandă ca eșantioanele să fie refrigerate sau congelate ca părți alicote secundare.
7. Eșantioanele pregătite trebuie depozitate între 2-8 °C timp de maxim 7 zile înainte de testare, și maxim 8 ore pentru plasmă și 24 de ore pentru ser la temperatura camerei.
8. Eșantioanele pregătite pot fi depozitate la ≤ -20 °C timp de până la 4 săptămâni (ser) sau 6 luni (plasmă) înainte de procesare; înainte de utilizare, eșantioanele congelate nu trebuie să fie supuse la mai mult de 2 cicluri de congelare/decongelare pentru plasmă și 4 cicluri de congelare/decongelare pentru ser.
  - a. Dacă probele sunt congelate, lăsați-le să se decongeleze complet la temperatura camerei (15-30 °C); vortexați pentru a genera o probă cu distribuție uniformă.
  - b. După decongelarea probelor congelate, testarea trebuie să aibă loc în decurs de 24 ore.
  - c. Nu se recomandă congelarea plasmelor/serului în eprubete de recoltare primare.
9. Dacă eșantioanele sunt expediate, acestea trebuie să fie ambalate și etichetate în conformitate cu reglementările naționale ale țării respective și/sau cu reglementările internaționale.
10. Etichetați clar eșantioanele și indicați faptul că acestea sunt dedicate testării HBV.
11. Accesați secțiunea *Pregătirea testării*.

Procesul global de punere în aplicare a analizei NeuMoDx HBV Quant Assay este sintetizat mai jos, în *Figura 1*.

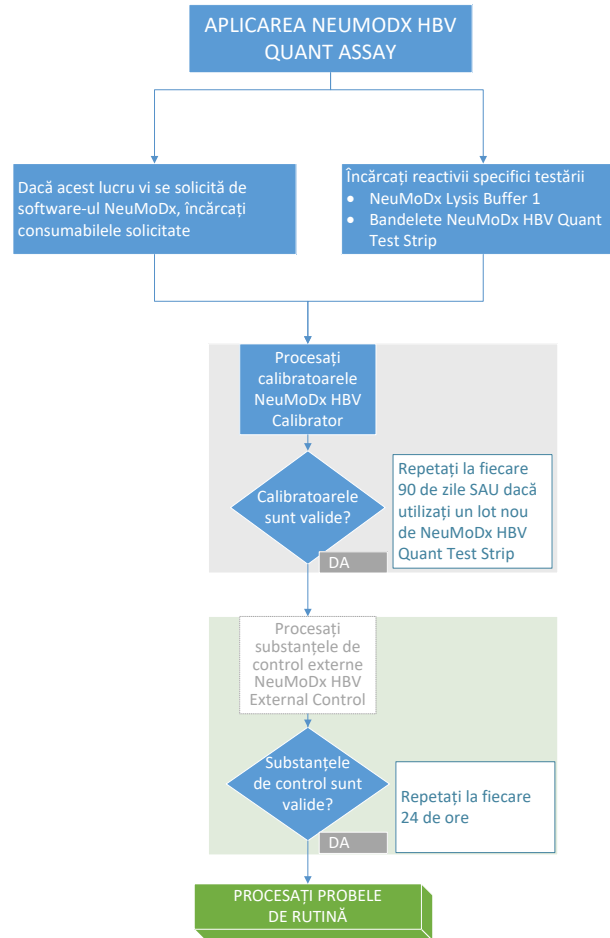


Figura 1: Flux de lucru pentru aplicarea NeuMoDx HBV Quant Assay

## INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

### Pregătirea testării

NeuMoDx HBV Quant Assay poate fi rulat direct din eprubetele primare de recoltare a sângelui sau din părți alicote ale eșantionului, în eprubete secundare. Procesarea poate fi rulată utilizând unul din două fluxuri de lucru pentru procesarea volumelor de eșantion – fluxul de lucru pentru un volum al eșantionului de 550  $\mu$ l sau fluxul de lucru pentru procesarea eșantioanelor de 200  $\mu$ l. Aplicați eticheta cu cod de bare a eșantionului pe o eprubetă pentru eșantioane compatibile cu NeuMoDx System.

1. Aplicați eticheta cu cod de bare a eșantionului pe o eprubetă pentru eșantioane compatibile cu NeuMoDx System. Eprubeta primară de recoltare a sângelui poate fi etichetată și introdusă direct într-un suport de eprubete pentru eșantioane cu 32 de eprubete, după centrifugare, conform instrucțiunilor producătorului. Alternativ, o parte alicotă de plasmă/ser poate fi transferată într-o eprubetă secundară pentru procesare pe NeuMoDx System.
2. Dacă efectuați testarea eșantionului în eprubeta principală de recoltare, amplasați eprubeta cu cod de bare într-un suport de eprubete pentru eșantioane și asigurați-vă că ați scos capacul înainte de încărcarea pe NeuMoDx System. Volumele minime **de deasupra** stratului de gel/leuco-trombocitar sunt definite mai jos și vor fi atinse dacă eșantioanele sunt recoltate și procesate în conformitate cu instrucțiunile producătorului de eprubete. Nu este garantată performanța pentru eșantioanele recoltate în mod necorespunzător.

Tip de eprubetă	Volum minim necesar eșantion	
	Flux de lucru 550 μL	Flux de lucru 200 μL
SST – 3,5 ml	1550 μL	1200 μL
PPT/SST – 5,0 ml	1800 μL	1450 μL
PPT/SST – 8,5 ml	2500 μL	2200 μL
K <sub>2</sub> EDTA/ser – 4,0 ml	1050 μL	700 μL
K <sub>2</sub> EDTA/ser – 6,0 ml	1250 μL	900 μL
K <sub>2</sub> EDTA/ser – 10,0 ml	1600 μL	1250 μL

3. Dacă utilizați o eprubetă secundară, transferați o parte alicotă de plasmă/ser în eprubeta pentru eșantioane marcată cu cod de bare compatibilă cu NeuMoDx System, în funcție de volumele definite mai jos:

Suport de eprubete pentru eșantioane	Dimensiune eprubetă	Volum minim necesar eșantion	
		Flux de lucru 550 μL	Flux de lucru 200 μL
<b>32-Tube Specimen Tube Carrier</b> (Suport de eprubete pentru eșantioane pentru 32 de eprubete)	Diametru 11-14 mm cu înălțimea 60-120 mm	700 μL	400 μL
<b>24-Tube Specimen Tube Carrier</b> (Suport de eprubete pentru eșantioane pentru 24 de eprubete)	Diametru 14,5-18 mm cu înălțimea 60-120 mm	1100 μL	800 μL
<b>Low Volume Specimen Tube Carrier</b> (Suport de eprubete cu volum redus pentru eșantioane)	Eprubetă de 1,5 ml cu fundul conic, pentru microcentrifugă	650 μL	300 μL

### Utilizarea sistemelor NeuMoDx System

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx 288 și 96 Molecular System (Nr.P. 40600108 și 40600317)

- Încărcați comanda de testare pe NeuMoDx System în conformitate cu fluxul de lucru dorit pentru procesarea volumului de eșantion și cu tipul eprubetei pentru eșantioane dorit.
  - Volumul eșantionului de 550 μl este testat prin definirea tipului de eșantion ca „**Plasma**” (Plasmă) sau „**Serum**” (Ser)
  - Volumul eșantionului de 200 μl este testat prin definirea tipului de eșantion ca „**Plasma2**” (Plasmă 2) sau „**Serum2**” (Ser 2)
  - Dacă nu este definit în comanda de testare, tipul de eșantion **Plasma** (Plasmă) într-o **Secondary Tube** (Eprubetă secundară) va fi folosit implicit
- Populați unul sau mai multe suporturi pentru bandelele de testare NeuMoDx System cu bandelele NeuMoDx HBV Quant Test Strip și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suporturilor pentru bandelele de testare în NeuMoDx System.
- Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx System, adăugați consumabilele necesare în suporturile de consumabile NeuMoDx System și folosiți ecranul tactil pentru încărcarea suporturilor în NeuMoDx System.
- Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx System, înlocuiți NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, goliți deșeurile de amorsare, recipientul pentru deșeuri biopericuloase (doar la NeuMoDx 288 Molecular System), coșul de gunoi pentru aruncarea vârfurilor (doar la NeuMoDx 96 Molecular System) sau coșul de gunoi pentru deșeuri biopericuloase (doar la NeuMoDx 96 Molecular System), după caz.
- Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx System, procesați calibratoarele NeuMoDx HBV Calibrator și/sau substanțele de control externe NeuMoDx HBV External Control. Informații suplimentare privind calibratoarele și substanțele de control pot fi găsite în secțiunea *Procesarea rezultatelor*.
- Încărcați eprubetele pentru eșantioane/calibratoare/substanțe de control într-un suport de eprubete pentru eșantioane și asigurați-vă că ați scos capacele din toate eprubetele.
- Amplasați suportul (suporturile) de eprubete pentru eșantioane pe raftul încărcătorului automat și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suportului (suporturilor) în NeuMoDx System. Această acțiune va iniția procesarea eșantioanelor încărcate pentru testările identificate, cu condiția ca în sistem să existe o comandă de testare validă.

### LIMITĂRI

1. NeuMoDx HBV Quant Test Strip poate fi utilizată doar pe sistemele NeuMoDx System.
2. Performanța NeuMoDx HBV Quant Test Strip a fost stabilită pentru eșantioanele de plasmă pregătite cu EDTA/ACD pe post de anticoagulante sau eșantioane de ser pregătite în eprubete pentru separatoare de ser. Nu a fost evaluată utilizarea NeuMoDx HBV Quant Test Strip împreună cu alte surse, iar caracteristicile de performanță sunt necunoscute pentru alte tipuri de eșantioane.
3. Performanța NeuMoDx HBV Quant Test Strip a fost stabilită pentru testarea în eprubete primare, utilizând eprubetele BD Vacutainer Plus Plastic K<sub>2</sub>EDTA Tube, BD Vacutainer PPT Plasma Preparation Tube, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube și BD Vacutainer SST Tube.
4. A fost observată o creștere mică a limitei de detecție și a limitei inferioare de cuantificare ale NeuMoDx HBV Quant Assay la utilizarea fluxului de lucru pentru volumul de eșantion de 200 μl.
5. NeuMoDx HBV Quant Assay este utilizat doar în scopul monitorizării cantitative. Acesta nu este destinat utilizării pentru detecție calitativă.
6. Testul NeuMoDx HBV Quant Assay nu trebuie utilizat cu probe de la oameni heparinizați.
7. Deoarece detecția HBV depinde de numărul de particule de ADN țintă prezente în probă, rezultatele de încredere depind de recoltarea, manipularea și depozitarea adecvate ale eșantioanelor.
8. Calibratoarele NeuMoDx HBV Calibrator și substanțele de control externe NeuMoDx HBV External Control trebuie să fie procesate conform recomandărilor din prospecte, atunci când vi se solicită de către software-ul NeuMoDx System înainte de procesarea probelor clinice de rutină.
9. Rezultatele eronate pot apărea din recoltarea, manipularea și depozitarea inadecvate ale eșantioanelor, din erori tehnice sau din confundarea eprubetelor pentru eșantioane. În plus, pot apărea rezultate fals negative din cauză că numărul de particule virale din probă este sub limita de detecție a NeuMoDx HBV Quant Assay.
10. Utilizarea sistemului NeuMoDx System se limitează la utilizarea de către personalul instruit în utilizarea NeuMoDx System.
11. Dacă ținta HBV și ținta SPC1 nu se amplifică, va fi raportat un rezultat nevalid (Indeterminate (Neconcludent), No Result (Niciun rezultat) sau Unresolved (Nerezolvat)), iar testarea trebuie repetată.
12. Dacă rezultatul NeuMoDx HBV Quant Assay este Positive (Pozitiv), dar valoarea de cuantificare depășește limitele de cuantificare, NeuMoDx System va raporta dacă HBV detectat a fost *mai mic decât* limita inferioară de cuantificare (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) sau *mai mare decât* limita superioară de cuantificare (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
13. În eventualitatea în care HBV detectat a fost *mai mic decât* LLoQ, analiza poate fi repetată (dacă se dorește) cu o altă parte alicotă a eșantionului.
14. În eventualitatea în care HBV detectat este mai mare decât ULoQ, NeuMoDx HBV Quant Assay poate fi repetat cu o parte alicotă diluată a eșantionului original. Se recomandă o diluare 1:1000 în plasmă negativă la HBV sau în Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Concentrația eșantionului original poate fi calculată după cum urmează:  

$$\text{concentrația eșantionului original} = \log_{10}(\text{factor de diluție}) + \text{concentrația raportată a probei diluate}$$
15. Prezența ocazională a inhibitorilor PCR în plasmă poate duce la o eroare de cuantificare a sistemului. Dacă se întâmplă acest lucru, se recomandă ca testarea să fie repetată cu același eșantion diluat în Basematrix la 1:10 sau 1:100.
16. Un rezultat pozitiv nu indică neapărat prezența organismelor viabile. Cu toate acestea, un rezultat pozitiv presupune prezența ADN-ului virusului hepatitei B.
17. Delețiile sau mutațiile din regiunile conservate vizate de NeuMoDx HBV Quant Assay pot afecta detecția sau pot genera un rezultat eronat folosind NeuMoDx HBV Quant Test Strip.
18. Rezultatele obținute din NeuMoDx HBV Quant Assay trebuie utilizate ca anexe la observațiile clinice și la alte informații disponibile medicului; analiza nu este destinată diagnosticării infecției.
19. Bunele practici de laborator, inclusiv schimbarea mănușilor între manipulările eșantioanelor pacienților, se recomandă pentru evitarea contaminării.

### PROCESAREA REZULTATELOR

Rezultatele disponibile pot fi vizualizate sau tipărite din fila „Results” („Rezultate”) în fereastra Results (Rezultate) pe ecranul tactil al NeuMoDx System. Rezultatele NeuMoDx HBV Quant Assay sunt generate automat de software-ul sistemului NeuMoDx System utilizând algoritmul de decizie și parametrii de procesare a rezultatelor specificați în fișierul de definiție al NeuMoDx HBV Quant Assay (HBV ADF). Un rezultat poate fi raportat ca Negative (Negativ), Positive (Pozitiv) cu o concentrație HBV raportată, Positive (Pozitiv) mai mare decât ULoQ, Positive (Pozitiv) mai mic decât LLoQ, Indeterminate (Neconcludent) (IND) sau Unresolved (Nerezolvat) (UNR) sau No Result (Niciun rezultat) (NR), în funcție de stadiul de amplificare al țintei și al substanței de control pentru procesarea probei. Rezultatele sunt raportate pe baza algoritmului de decizie ADF, sintetizate mai jos în Tabelul 1.

**Tabelul 1:** Sumarul algoritmului de decizie HBV Quant Assay

REZULTAT	Țintă HBV	Substanță de control pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC1)	Interpretarea rezultatelor
<b>Positive (Pozitiv) cu concentrație raportată</b>	Amplified (Amplificat) $0,9 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ UI/ml}$ (flux de lucru 550 $\mu\text{l}$ ) $1,4 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ UI/ml}$ (flux de lucru 200 $\mu\text{l}$ )	Amplified (Amplificat) sau Not Amplified (Neamplificat)	ADN HBV detectat în intervalul cantitativ
<b>Positive (Pozitiv), mai mare decât ULoQ</b>	Amplified (Amplificat) $[\text{HBV}] > 9,0 \log_{10} \text{ UI/ml}$	Amplified (Amplificat) sau Not Amplified (Neamplificat)	ADN HBV detectat peste intervalul cantitativ
<b>Positive (Pozitiv), mai mic decât LLoQ</b>	Amplified (Amplificat) $[\text{HBV}] < 0,9 \log_{10} \text{ UI/ml}$ (flux de lucru 550 $\mu\text{l}$ ) $[\text{HBV}] < 1,4 \log_{10} \text{ UI/ml}$ (flux de lucru 200 $\mu\text{l}$ )	Amplified (Amplificat) sau Not Amplified (Neamplificat)	ADN HBV detectat sub intervalul cantitativ
<b>Negative (Negativ)</b>	Not Amplified (Neamplificat)	Amplified (Amplificat)	ADN HBV nedetectat
<b>Indeterminate (Neconcludent)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Neamplificat, Eroare de sistem detectată, Procesarea probelor finalizată)		Toate rezultatele țintei au fost nevalide; retestați proba*
<b>No Result (Niciun rezultat)*</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Neamplificat, Eroare de sistem detectată, Procesarea probelor abandonată)		Procesarea probei a fost abandonată; retestați proba*
<b>Unresolved (Nerezolvat)</b>	Not Amplified, No System Error Detected (Neamplificat, Nu s-au observat erori de sistem)		Toate rezultatele țintei au fost nevalide; retestați proba*

\*Semnalizarea No Result (Niciun rezultat) este raportată doar în software-ul NeuMoDx System versiunile 1.8 și mai recente

\*NeuMoDx System este echipat cu funcția automată Rerun/Repeat (Repetarea execuției/Repetare) pe care utilizatorul final poate alege să o folosească pentru a se asigura că un rezultat IND/UNR/NR (NECONCLUDENT/NEREZOLVAT/NICIUN REZULTAT) este reprocesat automat pentru a reduce la minimum întârzierile în raportarea rezultatelor.

### Calculul pentru testare

- Pentru probele aflate în intervalul de cuantificare al NeuMoDx HBV Quant Assay, concentrația de ADN HBV din probe este calculată utilizând curba standard stocată împreună cu coeficientul de calibrare și cu volumul eșantionului.
  - Un coeficient de calibrare se calculează pe baza rezultatelor calibratoarelor NeuMoDx HBV Calibrator procesate, pentru a stabili validitatea curbei standard, pentru un anumit lot de NeuMoDx HBV Quant Test Strip, pe un anumit sistem NeuMoDx System.
  - Coeficientul de calibrare este încorporat în determinarea finală a concentrației de ADN HBV.
  - Software-ul NeuMoDx ia în calcul volumul de intrare al eșantionului la determinarea concentrației de ADN HBV pe ml de eșantion.
- Rezultatele NeuMoDx HBV Quant Assay sunt raportate în  $\log_{10} \text{ UI/ml}$ .
- Cuantificarea rezultată a probelor necunoscute poate fi urmărită în conformitate cu AI 4<sup>lea</sup> standard internațional al OMS pentru HBV.

### Calibrarea testării

Este necesară o calibrare validă, pe baza curbei standard, pentru a cuantifica ADN-ul HBV în eșantioane. Pentru generarea unor rezultate valide, trebuie efectuată o calibrare a testării, utilizând calibratoarele externe furnizate de NeuMoDx Molecular, Inc.

### Calibratoare

- Cu fiecare lot nou de bandelete NeuMoDx HBV Quant Test Strip trebuie procesat câte un set de calibratoare NeuMoDx HBV Calibrator, dacă un fișier de definiție a testului HBV Quant nou este încărcat în NeuMoDx System, dacă setul curent de calibratoare a depășit perioada de validitate (setată în prezent la 90 de zile) sau dacă software-ul sistemului NeuMoDx System este modificat.
- Software-ul NeuMoDx System va anunța utilizatorul când trebuie procesate calibratoarele. Un lot nou de bandelete de testare nu poate fi folosit pentru testare dacă procesarea calibratoarelor nu a reușit.
- Validitatea pentru calibrare se stabilește după cum urmează:
  - Un set de două calibratoare – unul (1) puternic și unul (1) slab – trebuie procesat pentru stabilirea validității.
  - Cel puțin două (2) din cele trei (3) replicare trebuie să ofere rezultate în parametrii predefiniți. Ținta nominală cu calibrator slab este  $3,7 \log_{10} \text{ UI/ml}$ , iar ținta nominală cu calibrator puternic este  $5,7 \log_{10} \text{ UI/ml}$ .
  - Un coeficient de calibrare este calculat pentru a ține cont de variația preconizată între loturile de bandelete de testare. Acest coeficient de calibrare este utilizat pentru determinarea concentrației finale de HBV.



4. Dacă unul sau ambele calibratoare eșuează în verificarea validității, repetați procesarea calibratorului eșuat (calibratoarelor eșuate) utilizând un flacon nou. În eventualitatea în care un calibrator eșuează în verificarea validității, este posibilă doar repetarea calibratorului eșuat, deoarece sistemul nu impune ca utilizatorul să execute din nou ambele calibratoare.
5. În cazul în care calibratorul (calibratoarele) eșuează consecutiv în verificarea validității, contactați NeuMoDx Molecular, Inc.

### Controlul calității

Reglementările locale specifică de obicei faptul că laboratorul este responsabil pentru procedurile de control care monitorizează acuratețea și precizia procesului analitic complet, și trebuie să stabilească numărul, tipul și frecvența testării materialelor de control utilizând specificații de performanță verificate pentru un sistem de testare aprobat și nemodificat.

### Substanțe de control externe

1. Substanțele de control externe pozitive și negative trebuie procesate la fiecare 24 de ore pe parcursul testării cu NeuMoDx HBV Quant Assay. Dacă nu există un set de rezultate valide ale substanțelor de control externe, software-ul NeuMoDx System îi va solicita utilizatorului procesarea acestor substanțe de control înainte să poată fi raportate rezultatele probelor.
2. Validitatea substanțelor de control externe va fi evaluată de NeuMoDx System în funcție de rezultatul preconizat. Substanța de control pozitivă trebuie să genereze un rezultat Positive (Pozitiv) la HBV, iar substanța de control negativă trebuie să genereze un rezultat Negative (Negativ) la HBV.
3. Manipularea rezultatelor contradictorii pentru substanțele de control externe trebuie făcută astfel:
  - a) Un rezultat Positive (Pozitiv) al testării raportat pentru o probă cu substanță de control negativă indică o problemă de contaminare a eșantionului.
  - b) Un rezultat Negative (Negativ) al testării raportat pentru o probă cu substanță de control pozitivă poate indica faptul că există o problemă legată de reactiv sau de instrument.
  - c) În oricare dintre situațiile de mai sus sau în cazul unui rezultat Indeterminate (Neconcludent) (IND) sau No Result (Niciun rezultat) (NR), repetați procesul pentru substanțele de control externe NeuMoDx HBV External Control cu flacoane proaspete pentru substanțele de control care au eșuat în testarea validității.
  - d) Dacă substanța de control externă NeuMoDx HBV External Control pozitivă continuă să raporteze un rezultat Negative (Negativ), contactați Serviciile tehnice NeuMoDx.
  - e) Dacă substanța de control externă NeuMoDx HBV External Control negativă continuă să raporteze un rezultat Positive (Pozitiv), încercați să eliminați toate sursele de posibilă contaminare, inclusiv înlocuirea tuturor reactivilor, înainte de a contacta Serviciile tehnice NeuMoDx.

### Substanțe de control (interne) pentru procesarea probei

O substanță de control exogenă pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC1) este încorporată în NeuMoDx Extraction Plate și suferă întregul proces de extracție a acidului nucleic și amplificarea PCR în timp real cu fiecare probă. Soluțiile de amorsare și sonda specifice SPC1 sunt, de asemenea, incluse în fiecare NeuMoDx HBV Quant Test Strip, permițând detecția SPC1 împreună cu ADN-ul HBV țintă (dacă există) prin PCR multiplex. Detecția amplificării SPC1 îi permite software-ului sistemului NeuMoDx System să monitorizeze eficacitatea proceselor de extracție ADN și amplificare PCR.

### Rezultate nevalide

Dacă o analiză NeuMoDx HBV Quant Assay efectuată pe NeuMoDx System nu produce un rezultat valid în urma finalizării procesării probei, acesta va fi raportat ca Indeterminate (Neconcludent) (IND), No Result (Niciun rezultat) (NR) sau Unresolved (Nerezolvat) (UNR), în funcție de tipul erorii survenite.

Un rezultat IND (Neconcludent) va fi raportat dacă este detectată o eroare NeuMoDx System în timpul procesării probelor. În cazul în care este raportat un rezultat IND (Neconcludent), se recomandă repetarea testării.

Un rezultat UNR (Nerezolvat) va fi raportat dacă nu este detectată nicio amplificare validă a ADN-ului HBV sau a SPC1 în absența erorilor de sistem, ceea ce indică posibilul eșec al reactivului sau prezența inhibitorilor. Dacă este raportat un rezultat UNR (Nerezolvat), se recomandă repetarea testării, ca prim pas. Dacă repetarea testării eșuează, poate fi folosită o diluție a eșantionului pentru a atenua efectele oricărei inhibări a probei.

Dacă o analiză NeuMoDx HBV Quant Assay efectuată pe NeuMoDx System nu produce un rezultat valid și procesarea probei este abandonată înainte de finalizare, acesta va fi raportat ca No Result (Niciun rezultat) (NR). În cazul în care este raportat un rezultat NR (Niciun rezultat), se recomandă repetarea testării.

### CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ

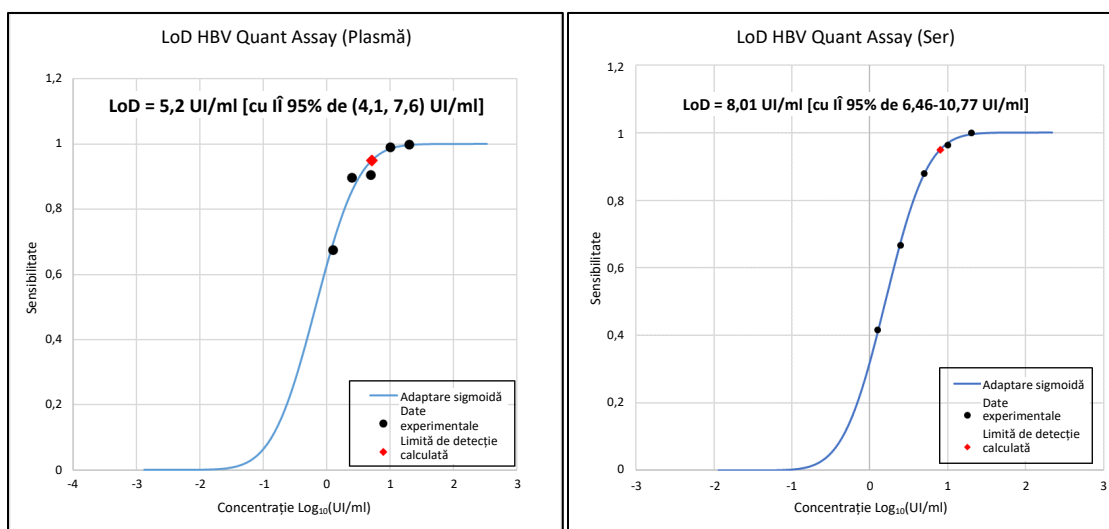
#### Sensibilitate analitică – Limita de detecție utilizând standardul OMS

Sensibilitatea analitică a NeuMoDx HBV Quant Assay a fost caracterizată prin testarea eșantioanelor negative și a unei serii de diluție conforme cu AI 4<sup>lea</sup> standard internațional al OMS în plasma și serul umane negative testate prin screening, pentru a determina limita de detecție (Limit of Detection, LoD) pe sistemele NeuMoDx System. Limita de detecție a fost definită drept cel mai scăzut nivel țintă detectat la o rată de 95%, determinată prin analiza de tip Probit. Studiile au fost efectuate timp de peste 3 zile pe mai multe sisteme NeuMoDx System cu loturi multiple de reactivi NeuMoDx. A fost executat un studiu suplimentar pentru a confirma LoD a NeuMoDx HBV Quant Assay la utilizarea fluxului de lucru pentru volumul eșantionului de 200 μl. Ratele de detecție din ambele studii sunt prezentate în *Tabelul 2*.

**Tabelul 2:** Rate de detecție pozitive pentru determinarea LoD a NeuMoDx HBV Quant Assay

	Concentrația țintei [UI/ml]	Concentrația țintei [ $\log_{10}$ UI/ml]	PLASMĂ			SER		
			Număr de testări valide	Număr de rezultate pozitive	Rată de detecție	Număr de testări valide	Număr de rezultate pozitive	Rată de detecție
<b>550 μl</b>	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	Nu se aplică	108	0	0%	107	0	0%
<b>200 μl</b>	25	1,40	43	43	100%	44	44	100%

S-a determinat că LoD a NeuMoDx HBV Quant Assay pentru HBV genotipul A (AI 4<sup>lea</sup> standard internațional al OMS) în plasmă este 5,2 UI/ml (îl 95% 4,1-7,6 UI/ml) [(0,72  $\log_{10}$  UI/ml) (îl 95% 0,61-0,88  $\log_{10}$  UI/ml)], utilizând fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 550 μl (*Figura 2*). S-a determinat că LoD a NeuMoDx HBV Quant Assay pentru eșantioanele de ser este 8,0 UI/ml (îl 95% 6,5-10,8 UI/ml) [(0,9  $\log_{10}$  UI/ml) (îl 95% 0,8-1,0  $\log_{10}$  UI/ml)] utilizând fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 550 μl (*Figura 2*).



**Figura 2:** Analiză de tip Probit utilizată pentru determinarea LoD a NeuMoDx HBV Quant Assay, Plasmă (stânga) și Ser (dreapta)

#### Sensibilitate analitică – Limită de cuantificare – Limită inferioară de cuantificare (Lower Limit of Quantitation, LLoQ), utilizând Standardul OMS

Limita inferioară de cuantificare (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) este definită ca cel mai mic nivel al țintei la care se obține o detecție > 95% și TAE ≤ 1,0. Pentru a determina LLoQ, eroarea analitică totală (Total Analytical Error, TAE) a fost calculată pentru fiecare dintre nivelurile țintei HBV pentru care s-a demonstrat că raportează o detecție > 95% ca parte a calculului LoD. TAE este definită după cum urmează:

$$\text{TAE} = \text{abatere} + 2 \cdot \text{SD} \quad \text{[Statistică Westgard]}$$

Abaterea este valoarea absolută a diferenței dintre media concentrației calculate și a concentrației preconizate. SD se referă la abaterea standard a valorii cuantificate a probei.

Rezultatele compilate pentru cele 5 niveluri ale eșantioanelor HBV folosite în studiul LLoQ folosind AI 4<sup>lea</sup> standard internațional al OMS sunt prezentate în *Tabelul 3*. S-a determinat că LLoQ pentru AI 4<sup>lea</sup> standard internațional al OMS în plasmă, utilizând NeuMoDx HBV Quant Assay (fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 550 μl) este 5,5 UI/ml (0,74 log<sub>10</sub> UI/ml). A fost efectuat un studiu separat pentru a confirma LLoQ la utilizarea fluxului de lucru pentru volumul eșantionului de 200 μl, iar aceste rezultate au demonstrat o LLoQ de 25 UI/ml, prezentată, de asemenea, în *Tabelul 3*.

S-a determinat că LLoQ a NeuMoDx HBV Quant Assay pentru eșantioanele de ser este 6,0 UI/ml, utilizând fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 550 μl și 25 UI/ml pentru fluxul de lucru pentru volumul eșantionului cu volum redus (200 μl), după cum se arată în *Tabelul 3*.

**Tabelul 3:** LLoQ NeuMoDx HBV Quant Assay, cu abaterea și TAE

	Conc. țintă [UI/ml]	Conc. țintă [log <sub>10</sub> UI/ml]	Plasmă					Ser				
			Conc. medie [log <sub>10</sub> UI/ml]	Detectie (%)	SD	Abatere	TAE	Conc. medie [log <sub>10</sub> UI/ml]	Detectie (%)	SD	Abatere	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

#### Sensibilitate analitică – LoD și LLoQ la nivelul genotipurilor de HBV

Inițial, LoD a fost stabilită pentru genotipul A (AI 4<sup>lea</sup> standard internațional al OMS), apoi s-au efectuat testări suplimentare în jurul LoD stabilite, utilizând fiecare dintre celelalte 7 genotipuri. Treizeci și șase (36) de replicare la niveluri corespunzătoare unor valori de 2X, 1X și 0,5X din limită superioară ÎI 95% pentru LoD (~7 UI/ml) au fost testate utilizând NeuMoDx HBV Quant Assay, utilizând plasmă cu fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 550 μl. Ratele procentuale pozitive pentru fiecare genotip la fiecare dintre aceste niveluri testate au fost incluse într-un tabel și utilizate pentru a calcula LoD, utilizând o analiză de tip Probit.

De asemenea, a fost calculată eroarea analitică totală la aceste niveluri testate. Cel mai mic nivel cu detecție pozitivă de 95% și TAE calculată ≤ 1,0 a fost din nou considerat a fi LLoQ pentru genotip. La nivelul genotipurilor, limita de detecție a NeuMoDx HBV Quant Assay pentru eșantioanele de plasmă utilizând fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 550 μl s-a demonstrat a fi 6,2 UI/ml (0,79 log<sub>10</sub> UI/ml), iar LLoQ s-a demonstrat a fi 7,6 UI/ml (0,88 log<sub>10</sub> UI/ml), după cum se arată în *Tabelul 4*.

**Tabelul 4.** Genotipurile de HBV testate în plasmă utilizând fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 550 μl

GENOTIP	LoD [UI/ml]	LLoQ [UI/ml]
Genotip A	5,2	5,2
Genotip B	6,2	6,2
Genotip C	3,5	6,2
Genotip D	5,2	5,7
Genotip E	3,5	3,5
Genotip F	5,1	6,2
Genotip G	3,5	3,5
Genotip H	5,2	7,6

Pe baza rezultatelor acestor studii, NeuMoDx revendică o **LoD și o LLoQ de 25 UI/ml (1,4 log<sub>10</sub> UI/ml)** pentru NeuMoDx HBV Quant Assay în **plasmă și ser**, utilizând fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 200 μl.

NeuMoDx revendică o **LoD și o LLoQ de 8,0 UI/ml (0,9 log<sub>10</sub> UI/ml)** pentru NeuMoDx HBV Quant Assay în **plasmă și ser**, utilizând fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 550 μl.

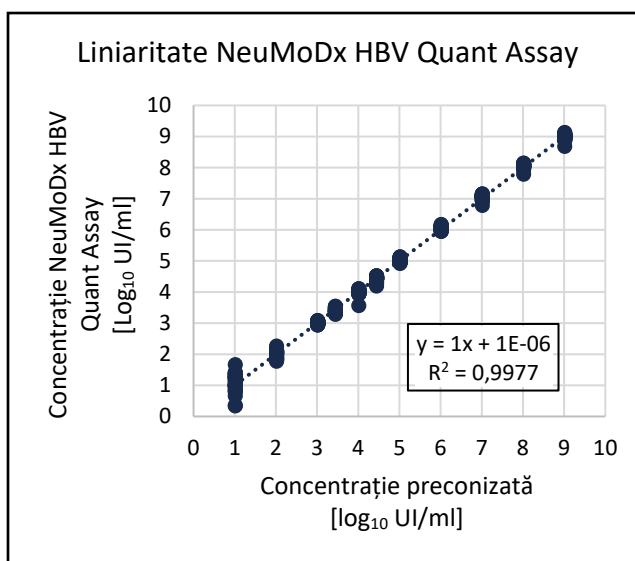
#### Sensibilitate analitică – Liniaritatea și determinarea limitei superioare de cuantificare (ULOQ)

Liniaritatea și limita superioară de cuantificare (Upper Limit of Quantitation, ULOQ) ale NeuMoDx HBV Quant Assay au fost stabilite în plasmă prin pregătirea unei serii de diluție utilizând proba clinică HBV puternic pozitivă (Access Biologicals, Vista, CA) cu o trasabilitate stabilită în conformitate cu AI 4<sup>lea</sup> standard internațional al OMS. Un grup cu 11 elemente a fost pregătit în plasma comasată negativă la HBV pentru a crea un grup de testare care să se întindă pe un interval de concentrații de 9,02-1,02 log<sub>10</sub> UI/ml. Grupul de testare a fost procesat cu câte 6 replicare la fiecare nivel pe 2 sisteme NeuMoDx System și 3 loturi de reactivi critici. NeuMoDx HBV Quant Assay a demonstrat capacitatea de a cuantifica HBV în intervalul liniar 8 log<sub>10</sub> (inclusiv punctele critice de decizie medicală) cu o abatere de ±0,22 log<sub>10</sub> UI/ml. Nu s-au obținut avantaje semnificative prin utilizarea adaptării prin regresie de ordinul 2 și 3. ULOQ a fost determinată, utilizând datele din acest studiu, ca fiind 9,02 log<sub>10</sub> UI/ml [*Tabelul 5 și Figura 3*].

**Tabelul 5:** Liniaritatea NeuMoDx HBV Quant Assay (evaluată cu Genotipul A)

Conc. țintă (UI/ml)	Conc. țintă (log <sub>10</sub> UI/ml)	Conc. medie (log <sub>10</sub> UI/ml)	Abatere standard	Abatere	Adaptare liniară preconizată	Abatere față de adaptarea neliniară
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

\*Puncte aproape critice de decizie medicală


**Figura 3:** Intervalul liniar al NeuMoDx HBV Quant Assay în plasmă

A fost efectuat un studiu ulterior pentru a demonstra echivalența matricei, iar analiza a comparat rezultatele cantitative ale NeuMoDx HBV pentru probe pregătite în plasmă și ser, utilizând două modele diferite de adaptare prin regresie, inclusiv instrumentul de regresie MS Excel și Passing-Bablok. Rezultatele au demonstrat o corelare puternică reprezentată de valorile pantei și ale intersecției, foarte apropiate de 1,00 și, respectiv, 0,00, și o valoare R<sup>2</sup> egală cu 0,99 (instrumentul de regresie MS Excel) sau o valoare p de 0,270 (Passing-Bablok). Concentrațiile analizei HBV Quant raportate de NeuMoDx System pentru matricea de plasmă, comparativ cu probele serice corespondente, sunt prezentate în *Figura 4*.

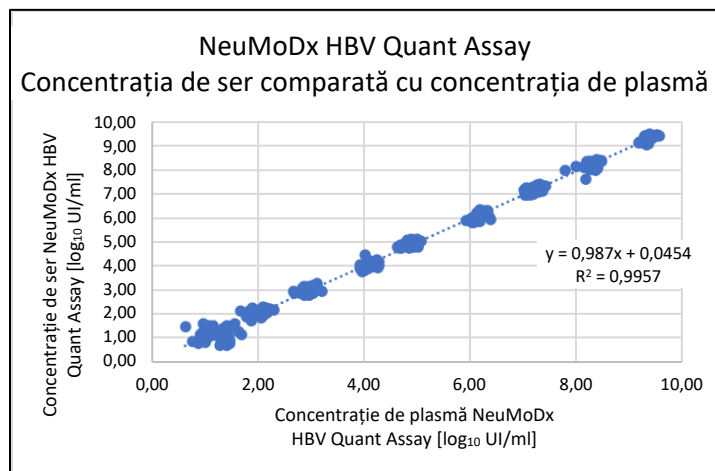


Figura 4: Intervalul liniar al NeuMoDx HBV Quant Assay între matrice

Apoi, liniaritatea și ULoQ au fost confirmate pentru fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 200  $\mu$ l pe un interval cuprins între 9,31-1,71  $\log_{10}$  UI/ml. Comparățiile pentru echivalență au fost realizate între concentrațiile raportate de software-ul NeuMoDx pentru fluxurile de lucru de 200 și de 550  $\mu$ l. Analizele de regresie Deming și Passing-Bablok au demonstrat o corelare excelentă și o pantă apropiată de 1, precum și intersecții (abateri) minime ale concentrațiilor probelor plasmatice și serice pe întregul interval liniar. O comparație Bland and Altman a concentrației raportate pentru fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 200  $\mu$ l cu concentrația raportată medie pentru fluxurile de lucru pentru volume ale eșantionului de 200 și de 550  $\mu$ l a prezentat o abatere minimă, atribuind precizia algoritmului utilizat pentru generarea rezultatelor din fluxul de lucru de 200  $\mu$ l. În plus, o regresie liniară simplă care a comparat concentrația preconizată cu concentrația raportată pentru fluxul de lucru de 200  $\mu$ l a avut o pantă apropiată de 1, demonstrând o corelare excelentă [Figura 5]. Luate împreună, aceste comparații demonstrează cuantificarea exactă a HBV pe intervalul liniar al NeuMoDx HBV Quant Assay utilizând fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 200  $\mu$ l.

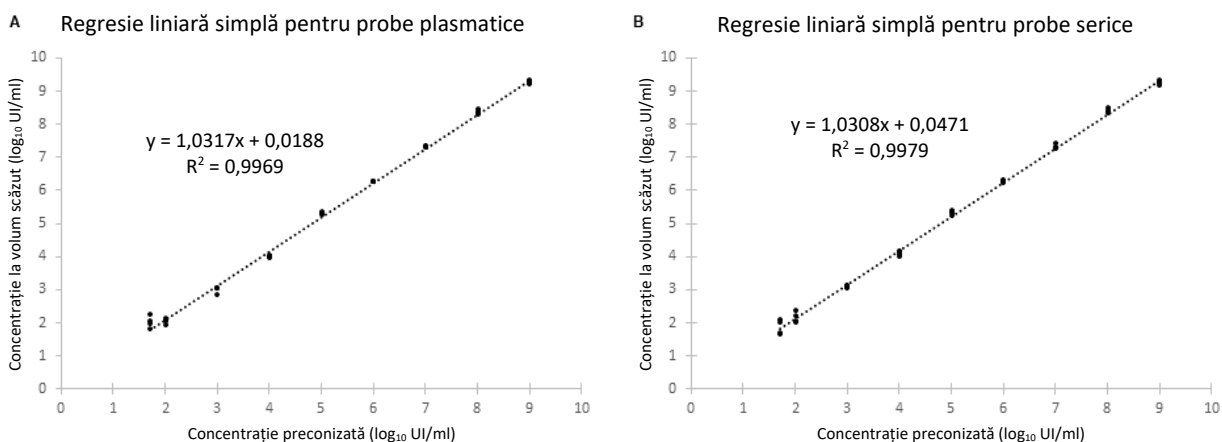


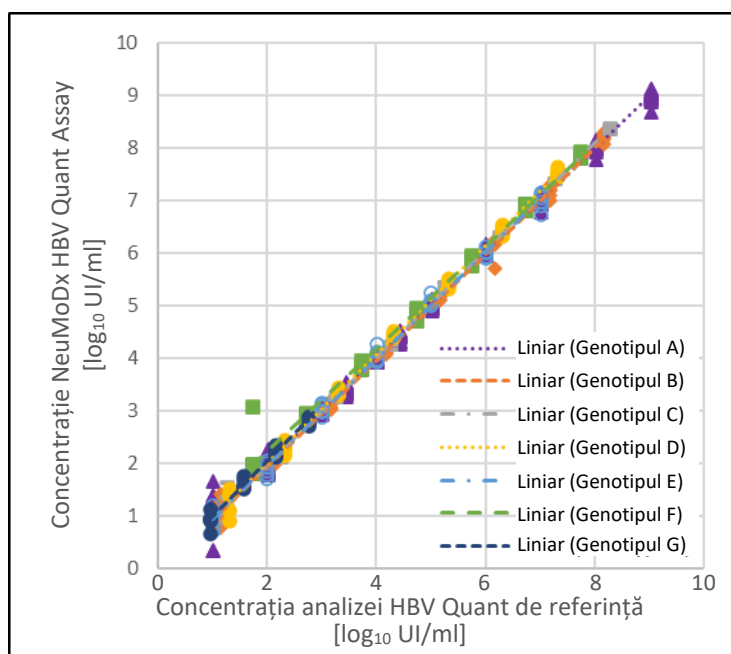
Figura 5: Relația liniară dintre concentrația preconizată și concentrația raportată NeuMoDx pentru fluxul de lucru de 200  $\mu$ l în a) plasmă și b) ser

### Liniaritatea între genotipuri

Liniaritatea NeuMoDx HBV Quant Assay în eșantionul plasmatic pentru genotipurile HBV a fost caracterizată prin testarea a cel puțin patru (4) concentrații diferite din fiecare genotip de HBV, preparate în plasmă comasată negativă la HBV. Nivelurile testate ale țintei HBV folosite în cadrul acestui studiu au depins de concentrația eșantionului sursă și, astfel, au fost diferite între genotipuri. Studiul a fost efectuat cu fiecare genotip utilizând câte 6 replicare la fiecare nivel. Liniaritatea la nivelul genotipurilor de HBV este prezentată în Tabelul 6 și Figura 6.

**Tabelul 6:** Liniaritatea NeuMoDx HBV Quant Assay între genotipuri

Genotip	Ecuția liniarității y = cuantificare NeuMoDx HBV Quant Assay x = cuantificare preconizată	R <sup>2</sup>
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


**Figura 6:** Liniaritatea NeuMoDx HBV Quant Assay între genotipuri

### Specificitate analitică și reactivitate încrucișată

Specificitatea analitică a fost demonstrată prin screeningul a 32 de organisme frecvent întâlnite în eșantioane de sânge/plasmă, precum și a unor specii asemănătoare filogenetic cu HBV pentru reactivitate încrucișată. Organismele au fost pregătite în surse de câte 4 până la 6 organisme și testate la o concentrație ridicată. Organismele testate sunt prezentate în *Tabelul 7*. Nu s-a observat reactivitate încrucișată la niciunul dintre organismele testate, confirmând o specificitate analitică 100% pentru NeuMoDx HBV Quant Assay.

**Tabelul 7:** Agenți patogeni utilizați pentru a demonstra specificitatea analitică – reactivitate încrucișată

Adenovirus 2	Dengue V1	Hepatită A	HPV 16	Ilheus (ILHV)	Febră galbenă
Adenovirus 5	Dengue V2	Hepatită C	HPV 18	Gripă de tip A	Virusul Zika
Virusul Banzi	Dengue V3	Virus herpetic uman 6a	HSV1	Parvo B19	
Virusul BK	Dengue V4	Virus herpetic uman 8	HSV 2	Rubeolă	
Citomegalovirus	Virusul Epstein-Barr	HIV 1	HTLV 1	Encefalită St. Louis	
VZV	Vaccinia Virus	HIV 2	HTLV 2	Virusul West Nile	

**Substanțe de interferență – Organisme comensale**

NeuMoDx HBV Quant Assay a fost evaluat pentru interferență în prezența organismelor non-țintă, utilizând aceleași surse de organisme ca și cele preparate pentru testarea specificității analitice. Organismele au fost testate individual sau comasate în grupuri de 4-6 organisme în plasmă testată prin screening negativă la HBV și îmbogățită cu substanțe de control HBV la o concentrație de 3,7 log<sub>10</sub> UI/ml. Nu s-a observat nici o interferență semnificativă în prezența acestor organisme comensale, așa cum este indicat de abaterea minimă de cuantificare față de eșantioanele de substanță de control care nu au conținut niciun agent de interferență [Tabelul 8].

**Tabelul 8:** Testarea interferenței – Organisme comensale

Organisme non-țintă	Conc. medie (log <sub>10</sub> UI/ml)	Abatere (log <sub>10</sub> UI/ml)
Grupa 1 [Virusul BK, Citomegalovirus, Virusul Epstein Barr, Virusul herpetic uman 6a, Virusul herpetic uman 8]	3,51	0,10
Grupa 2 [Adenovirus 2, Adenovirus 5, Dengue V2, Dengue V3, Dengue V4]	3,38	0,22
Grupa 3 [Parvo B19, HTLV 1, HTLV 2, Ilheus (ILHV), Febră galbenă, Virusul Zika]	3,62	0,06
Grupa 4 [HPV 16, HPV 18, HSV 1, HSV 2, Dengue V1]	3,57	0,04
Grupa 5 [Encefalită St. Louis, VZV, Vaccinia Virus, Virusul West Nile]	3,57	0,03
HAV	3,58	0,05
Virusul Banzi	3,41	0,19
HIV-1	3,47	0,15
HIV-2	3,56	0,05
Rubeolă	3,16	0,44
Gripă de tip A	3,60	0,03
HCV	3,58	0,04

**Substanțe de interferență – Substanțe endogene și exogene**

Performanța NeuMoDx HBV Quant Test Strip a fost evaluată în prezența substanțelor de interferență exogene și endogene tipice întâlnite la eșantioanele clinice de plasmă HBV. Acestea au inclus niveluri anormal de ridicate ale componentelor sanguini, precum și medicamente antivirale comune, care au fost clasificate în *Tabelul 9*. Fiecare dintre substanțele endogene și exogene enumerate mai jos, în *Tabelul 10*, a fost adăugată în plasma umană testată prin screening negativă la HBV, îmbogățită cu  $3,7 \log_{10}$  UI/ml HBV, iar datele au fost observate pentru interferență. În plus, a fost testată plasma comună stadiului bolii, asociată cu infecția cu Hepatită B, pentru o posibilă interferență.

**Tabelul 9:** Testarea interferenței – Agenți exogeni (clasificări pentru medicamente)

Sursă	Medicament	Clasificare
1	Zidovudină (ZDV)	Inhibitor de revers-transcriptază
	Saquinavir	Inhibitor de protează HIV
	Ritonavir	Inhibitor de protează HIV
	Claritromicină	Antibiotic
	Interferon alfa-2a	Imunomodulator
	Interferon alfa-2b	Imunomodulator
2	Abacavir sulfat	Inhibitor de revers-transcriptază
	Amprenavir	Inhibitor de protează
	Ribavirină	Imunomodulator
	Entecavir	Antiviral HBV
	Fluoxetină	Antidepresiv SSRI
	Valaciclovir clorhidrat	Antiviral
3	Tenofovir disoproxil	Antiviral HBV/HIV
	Lamivudină	Antiviral HBV/HIV
	Ganciclovir	Antiviral CMV
	Valganciclovir	Antiviral CMV
	Nevirapină	Inhibitor de revers-transcriptază
4	Efavirenz	Inhibitor de revers-transcriptază
	Lopinavir	Inhibitor de protează
	Enfuvirtid	Inhibitor de fuziune HIV
	Ciprofloxacină	Antibiotic
	Paroxetină	Antidepresiv SSRI
5	Adefovir (dipivoxil)	Antiviral
	Azitromicină	Antibiotic
	Indinavir sulfat	Inhibitor de protează HIV
	Sertralină	Antidepresiv SSRI



**Tabelul 10:** Testarea interferenței - Agenți exogeni și endogeni

Endogenă	Conc. medie (log <sub>10</sub> UI/ml)	Abatere (log <sub>10</sub> UI/ml)
Hemoglobină	3,50	0,20
Trigliceride	3,51	0,09
Bilirubină	3,56	0,13
Albumină	3,51	0,17
Exogeni (medicamente)	Conc. medie (log <sub>10</sub> UI/ml)	Abatere (log <sub>10</sub> UI/ml)
Sursa 1: Zidovudină (ZDV), Saquinavir, Ritonavir, Claritromicină, Interferon alfa-2a, Interferon alfa-2b	3,58	0,08
Sursa 2: Abacavir sulfat, Amprenavir, Ribavirină, Entecavir, Fluoxetină, Valaciclovir clorhidrat	3,56	0,04
Sursa 3: Tenofovir disoproxil, Lamivudină, Ganciclovir, Valganciclovir, Nevirapină	3,59	0,06
Sursa 4: Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtid, Ciprofloxacina, Paroxetină,	3,60	0,07
Sursa 5: Adefovir (dipivoxil), Azitromicină, Indinavir sulfat, Sertralină	3,56	0,19
Stadiul bolii	Conc. medie (log <sub>10</sub> UI/ml)	Abatere (log <sub>10</sub> UI/ml)
Anticorp anti-nuclear (Antinuclear Antibody, ANA)	3,61	0,10
Lupus eritematos sistemic (Systemic Lupus Erythematosus, SLE)	3,63	0,10
Artrită reumatoidă (Rheumatoid Arthritis, RA)	3,57	0,09
Anticorpi pentru HCV	3,58	0,07
Anticorpi pentru HBV	3,64	0,11
Ciroză alcoolică	3,68	0,15
Factor reumatoid (Rheumatoid Factor, RF)	3,63	0,10
Steatohepatită non-alcoolică (Non-Alcoholic Steatohepatitis, NASH)	3,49	0,06

**Precizia în laborator**

Precizia NeuMoDx HBV Quant Test Strip a fost determinată prin testarea unui grup de 8 membri de eșantioane HBV cuprinzând genotipurile A și C, utilizând trei sisteme NeuMoDx System timp de 12 zile. Au fost caracterizate precizia în cadrul rulării, precizia din timpul zilei și precizia în sistem, și abaterea standard globală s-a determinat a fi  $\leq 0,22 \log_{10}$  UI/ml. Precizia la nivelul operatorilor nu a fost caracterizată, deoarece operatorul nu joacă un rol semnificativ în procesarea probelor utilizând NeuMoDx System. Rezultatele preciziei în laborator sunt prezentate în *Tabelul 11*.

**Tabelul 11:** Rezultatele studiului preciziei în laborator

MEMBRU PANEL	CONC. ȚINTĂ [Log <sub>10</sub> UI/ml]	CONC. MEDIE [Log <sub>10</sub> UI/ml]	N	Abatere	SD în execuție	SD în timpul zilei	SD în sistem	Abatere standard globală
Genotip 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
Genotip 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

### Reproductibilitatea de la un lot la altul

Reproductibilitatea de la un lot la altul a NeuMoDx HBV Quant Test Strip a fost determinată utilizând trei loturi diferite de reactivi cheie – NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plate și NeuMoDx HBV Quant Test Strip. Un grup de 8 elemente al genotipurilor A și C de HBV a fost utilizat pentru a evalua performanța. Testarea a fost efectuată utilizând cele trei loturi de reactivi pe trei sisteme NeuMoDx System timp de 6 zile. A fost analizată variația în cadrul lotului și între loturi. Abaterea globală maximă a fost 0,12 log<sub>10</sub> UI/ml și SD globală maximă a fost 0,24 log<sub>10</sub> UI/ml. Nu s-a constatat nicio diferență semnificativă de performanță între loturi, deoarece cuantificarea tuturor elementelor panelului s-a încadrat în specificațiile de toleranță. Rezultatele reproductibilității de la un lot la altul sunt prezentate mai jos, în *Tabelul 12*.

**Tabelul 12:** Rezultatele studiului privind reproductibilitatea de la un lot la altul

MEMBRU PANEL	CONC. ȚINTĂ [log <sub>10</sub> UI/ml]	CONC. MEDIE [log <sub>10</sub> UI/ml]	N	Abatere	în LOT SD	între LOTURI SD	Global SD
Genotip 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
Genotip 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

### Eficacitatea substanței de control

Eficacitatea SPC1 inclusă în NeuMoDx HBV Quant Assay pentru a raporta orice erori în timpul etapelor de procesare sau inhibare care afectează performanța NeuMoDx HBV Quant Assay a fost evaluată utilizând două genotipuri comune de HBV (A și C). Condițiile testate sunt reprezentative pentru erorile critice din timpul etapelor de procesare, care puteau apărea în timpul procesării probelor și care *era posibil să nu fie detectate* de senzorii de monitorizare a performanței NeuMoDx System. Eficacitatea SPC1 a fost evaluată prin simularea acestor condiții de eroare. Ineficiențele în procesare, care au afectat negativ detecția/cuantificarea HBV, au fost reflectate de performanța țintei SPC1 (Prezența of Inhibitor (Prezența inhibitorului) și Lack of Wash Step (Lipsa etapei de spălare)). Pentru condițiile în care amplificarea SPC1 nu a fost afectată, ținta HBV s-a demonstrat, de asemenea, a fi amplificată în cadrul unei cuantificări raportate de 0,2 log<sub>10</sub> UI/ml din probele de substanță de control.

**Tabelul 13:** Eficacitatea substanței de control pentru procesarea probei

Eroare în timpul etapelor de procesare testată	Starea de amplificare a substanței de control pentru procesarea probei	Starea de amplificare a țintei HBV	Rezultatul analizei
Presence of Inhibitor (Prezența inhibitorului)	Not Amplified (Neamplificat)	Not Amplified (Neamplificat)	Unresolved (Nerezolvat)
No Wash Delivered (Niciun reactiv de spălare furnizat)	Not Amplified (Neamplificat)	Not Amplified (Neamplificat)	Unresolved (Nerezolvat)
No Wash Blowout (Lipsă suflare spălare)	Amplified (Amplificat)	Amplified (Amplificat)	Positive (Pozitiv) with Quantitation within 0.2 Log <sub>10</sub> IU/mL of Control (Pozitiv cu cuantificarea în 0,2 Log <sub>10</sub> UI/ml din substanța de control)

### Contaminare încrucișată

Rata de contaminare încrucișată pentru NeuMoDx HBV Quant Assay a fost determinată prin testarea a trei seturi de eșantioane de HBV, formate din eșantioane alternante puternic pozitive și negative. În total, aceasta a implicat testarea a 144 de replicate de eșantioane plasmatiche umane cu EDTA normale negative la HBV și 144 de replicate ale unui eșantion HBV cu titru mare la 8,0 log<sub>10</sub> UI/ml. Toate cele 144 de replicate ale eșantionului negativ au fost negative, ceea ce demonstrează că nu s-a produs nicio contaminare încrucișată în timpul procesării probelor pe NeuMoDx System.

### Echivalența matricelor eșantioanelor

Testarea a fost efectuată pentru a demonstra rezultate echivalente cu eșantioane de plasmă recoltate în eprubete de recoltare cu acid etilendiaminetetraacetic (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) și acid-citrat-dextroză (acid citrate dextrose, ACD). În plus, a fost efectuată testarea pentru a demonstra echivalența dintre eșantioanele proaspete și cele congelate. Patruzeci de eșantioane de la donatori individuali, obținute de la BioIVT, au fost recoltate în eprubete de recoltare cu EDTA și ACD. Aceste probe proaspete au fost îmbogățite cu patru niveluri de HBV genotipul A sau C și testate pentru echivalență. Probele au fost congelate timp de minimum 24 de ore, decongelate și retestate. S-a demonstrat o echivalență excelentă între eșantioanele proaspete și congelate și eșantioanele cu EDTA și ACD, prin analiză de regresie.

**Tabelul 14:** Analiza de regresie a rezultatelor echivalenței eşantioanelor

Parametru [Criterii de acceptare]	Proaspăt comparat cu Congelat	ACD comparat cu K2EDTA
Pantă [0,9-1,1]	1,002	0,996
Intersecție [<0,5]	-0,031	0,018
Coefficient de determinare [ $R^2 > 0,95$ ]	0,995	0,993

S-a efectuat o testare suplimentară pentru a demonstra echivalența performanței NeuMoDx HBV Quant Assay utilizând eşantioane în eprubete de recoltare primare, față de eşantioanele în eprubete de recoltare secundare. Grupurile de eşantioane ale donatorilor negative la HBV, îmbogățite cu țintă HBV (AccuPlex™ HBV Control) au fost mai întâi procesate din eprubetele primare pentru eşantioane. Plasma rămasă din fiecare eşantion a fost împărțită în părți alicote într-o eprubetă secundară pentru eşantioane și reprocesată. Nu s-a constatat nicio diferență semnificativă în rezultatele raportate între procesarea eprubetelor primare și a celor secundare pentru eşantioane.

De asemenea, a fost evaluată echivalența performanței NeuMoDx HBV Quant Assay pe eşantioane de ser proaspete comparativ cu eşantioane de ser congelate utilizând un grup de eşantioane de ser proaspete de la donatori individuali, îmbogățite cu HBV la concentrații pe întregul interval liniar al analizei. După procesarea eşantioanelor proaspete, probele serice au fost congelate timp de minimum 24 de ore la -20 °C. După aceea, probele congelate au fost decongelate și retestate. Echivalența liniară între probe proaspete și congelate identice a fost evaluată utilizând atât analiza de regresie Passing-Bablok, cât și analiza de regresie Deming. Valoarea p egală cu 0,329 (mai mare decât 0,05) din regresia Passing-Bablok și coeficientul de corelare egal de 0,989 din regresia Deming au demonstrat o echivalență excelentă între probele procesate proaspete și congelate anterior. Prin Bland-Altman s-a stabilită că abaterea dintre stadiul proaspăt și cel congelat are o valoare perfect neglijabilă, de -0,002 log<sub>10</sub> UI/ml și demonstrează încă o dată echivalența procesării eşantioanelor proaspete cu cea a eşantioanelor congelate. În cele din urmă, corelarea dintre concentrațiile de HBV raportate de sistem și concentrațiile preconizate pentru probele proaspete și cele congelate a fost determinată prin regresie liniară simplă, cu valori R<sup>2</sup> raportate de 0,991 și, respectiv, 0,985.

#### Stabilitatea eşantioanelor

Eşantioanele de plasmă și ser în EDTA negative la HBV au fost îmbogățite cu HBV la 3,7 log<sub>10</sub> UI/ml și testate la momente diferite, în timp ce erau depozitate pe sistemul NeuMoDx System – imediat (momentul 0), după 4 ore, după 8 ore și după 24 de ore. Nu s-a observat nicio diferență semnificativă în performanțele din fiecare moment, ceea ce indică faptul că un eşantion poate fi încărcat pe NeuMoDx System timp de până la 24 de ore, fără impact asupra performanței analizei.

O testare similară a fost realizată, de asemenea, cu eşantioane de plasmă și de ser depozitate într-un frigider de laborator (între 2 și 8 °C) timp de până la 7 zile înainte de testare, și nu s-a observat nicio diferență semnificativă în performanță.

În cele din urmă, eşantioanele depozitate la ≤ -20 °C timp de până la 6 luni (plasmă) și până la 4 luni (ser) înainte de procesare au fost testate și nu au prezentat diferențe semnificative în raport cu eşantioanele proaspete. A fost repetat ciclul de congelare/decongelare și, din nou, nu a fost demonstrată nicio modificare a performanței după 2 cicluri de congelare/decongelare (plasmă) sau 4 cicluri de congelare/decongelare (ser).

#### Corelarea metodelor

##### Eşantioane de plasmă

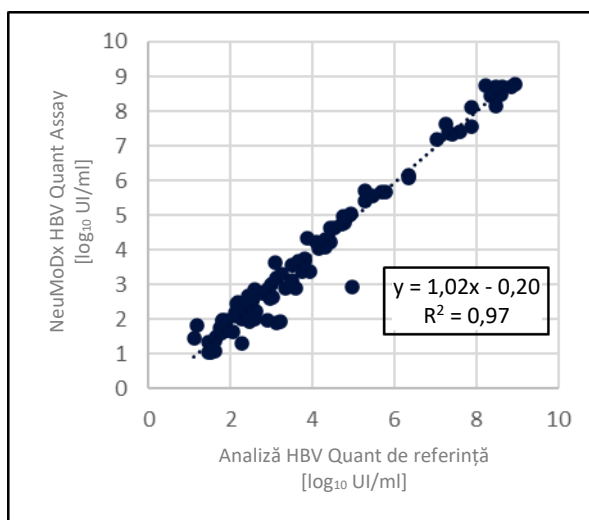
Performanța calitativă și cantitativă a NeuMoDx HBV Quant Assay au fost evaluate în raport cu analizele comparative cu aprobare FDA/CE, prin testarea eşantioanelor clinice nediluate de plasmă de la pacienți infectați cu HBV. Testarea a fost efectuată intern, la NeuMoDx, prin intermediul unui studiu simplu orb utilizând eşantioanele clinice obținute de la trei laboratoare independente de referință. Rezultatele unui număr total de 308 probe pozitive și negative la HBV au fost compilate în analiza calitativă pentru a calcula sensibilitatea și specificitatea clinică ale NeuMoDx HBV Quant Assay. Analiza calitativă a fost finalizată incluzând și excluzând probele pozitive sub LLoQ deoarece clasificarea unor astfel de probe slabe poate varia de la o testare la alta. Un total de 97 de eşantioane clinice pozitive la HBV din intervalul liniar comun ambelor testări a fost utilizat pentru a genera regresia liniară pentru a defini performanța cantitativă. Pe lângă faptul că oferă o sensibilitate și o specificitate excelente, NeuMoDx HBV Quant Test Strip a demonstrat o corelare cantitativă excelentă cu analiza comparativă. Pe baza acestor rezultate, sensibilitatea NeuMoDx HBV Quant Assay a fost estimată la 100% (ÎI 96,4%-100%), iar specificitatea a fost estimată la 95,6% (ÎI 91,9%-97,7%). Aceste intervale de încredere 95% au fost calculate utilizând metoda intervalului de încredere cu scorul 95% în conformitate cu EP12-A2, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, Approved Guideline, Vol 28, No 3.<sup>6</sup>

**Tabelul 15:** Parametrii sensibilității și specificității clinice ale NeuMoDx HBV Quant Assay pentru eșantioane de plasmă pe NeuMoDx 288 Molecular System

	Analiză de referință (POZ)	Analiză de referință (NEG)	TOTAL
NeuMoDx HBV Quant Assay (POZ)	103	9	112
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
<b>TOTAL</b>	103	205	308
<b>SENSIBILITATE = 100% Î 95% (96,4%-100%)</b> <b>SPECIFICITATE = 95,6% Î 95% (91,9%-97,7%)</b>			

**Tabelul 16:** Parametrii sensibilității și specificității clinice ale NeuMoDx HBV Quant Assay pe NeuMoDx 288 Molecular System cu probele plasmatice < LLoQ excluse

	Analiză de referință (POZ)	Analiză de referință (NEG)	TOTAL
NeuMoDx HBV Quant Assay (POZ)	99	5	104
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
<b>TOTAL</b>	99	201	300
<b>SENSIBILITATE = 100% Î 95% (96,3%-100%)</b> <b>SPECIFICITATE = 97,5% Î 95% (94,3%-98,9%)</b>			



**Figura 7:** Studiu de corelare a metodelor cantitative utilizând NeuMoDx HBV Quant Assay

A fost efectuată o testare suplimentară pe NeuMoDx 96 Molecular System utilizând 159 de eșantioane de plasmă clinice reziduale. Ca și în cazul testării anterioare efectuate pe NeuMoDx 288, rezultatele obținute de la NeuMoDx 96 au fost comparate cu rezultatele raportate de analizele aprobate de FDA și/sau cu marcaj CE utilizate de laboratoarele sursă pentru testarea standardului de îngrijire. Rezultatele, inclusiv tabelul de control cu sensibilitatea și specificitatea clinice, sunt prezentate cu Î 95% în *Tabelul 17*.

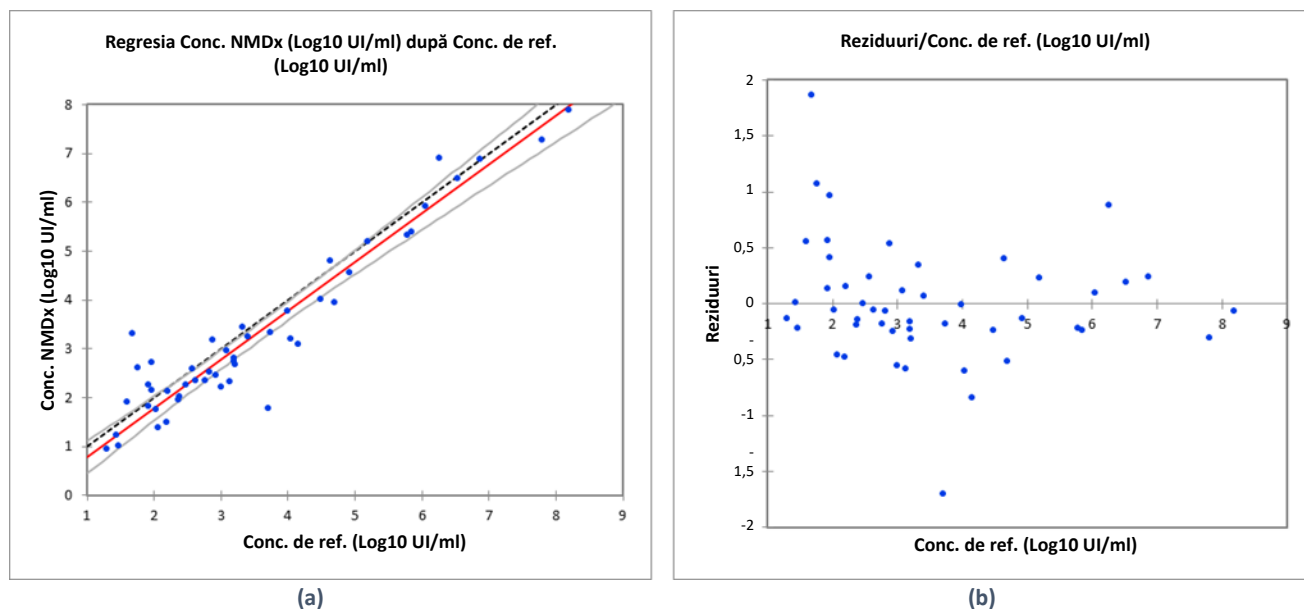
**Tabelul 17:** Sumarul performanței clinice – NeuMoDx HBV Quant Assay pe NeuMoDx 96 Molecular System

	Analiză de referință (POZ)	Analiză de referință (NEG)	TOTAL
<b>NeuMoDx HBV Quant Assay (POZ)</b>	60	2	62
<b>NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)</b>	1	95	96
<b>TOTAL</b>	61	97	158
<b>SENSIBILITATE = 98% Î 95% (90%-100%)</b> <b>SPECIFICITATE = 98% Î 95% (92%-100%)</b>			

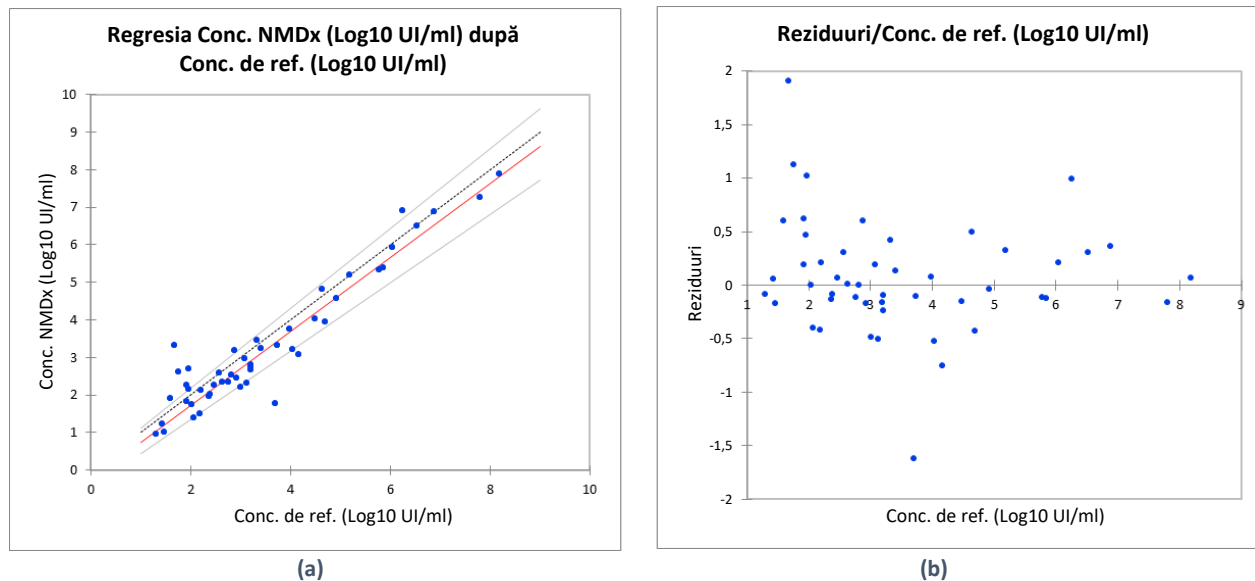
### Eșantioane de ser

Performanța cantitativă a NeuMoDx HBV Quant Assay a fost evaluată în raport cu analizele comparative cu aprobare FDA/CE, prin testarea eșantioanelor de ser reziduale pozitive la HBV, cu elementele de identificare anulate, de la pacienți infectați cu HBV. În unitatea NeuMoDx a fost testat un total de 66 de eșantioane de ser clinice, cunoscute a fi pozitive la HBV, obținute de la două laboratoare de referință independente, folosind NeuMoDx HBV Quant Assay. Dintre eșantioanele de ser cunoscute a fi pozitive, 58 au fost identificate ca rezultate pozitive, dintre care nouă (9) rezultate au fost sub LLoQ și peste ULoQ pentru NeuMoDx HBV Quant Assay și/sau testarea de referință. Un total de 49 de eșantioane clinice pozitive la HBV din intervalul liniar comun ambelor testări a fost utilizat pentru a genera analizele de regresie pentru a defini performanța cantitativă.

Au fost generate reprezentări grafice ale echivalenței și reziduale pentru a reprezenta corelarea dintre concentrațiile NeuMoDx HBV Quant Assay și valorile concentrațiilor din testările de referință, pentru toate probele testate, utilizând analiza de regresie Deming și Passing-Bablok, acestea fiind prezentate în Figura 8 și 9. Calitatea adaptării prin regresie Deming este ilustrată de un coeficient al pantei egal cu 0,99, cu un Î 95% (0,93, 1,07), și o intersecție (abatere) de -0,22 cu un Î 95% (-0,56, 0,12), demonstrând faptul că rezultatele concentrațiilor obținute între NeuMoDx HBV Quant Assay și testările de referință sunt extrem de bine corelate și prezintă o abatere acceptabilă. Calitatea adaptării liniare Passing-Bablok este ilustrată de un coeficient al pantei egal cu 0,99, cu un Î 95% (0,91, 1,06), și o intersecție (abatere) de -0,25 cu un Î 95% (-0,48, 0,06), demonstrând faptul că rezultatele concentrațiilor obținute între NeuMoDx HBV Quant Assay și testările de referință sunt extrem de bine corelate și prezintă o abatere acceptabilă, după cum se arată în Tabelul 18.



**Figura 8:** Reprezentări grafice ale echivalenței (a) și reprezentări grafice reziduale (b) – Analiză cumulativă a rezultatelor testării pentru HBV NeuMoDx față de testările de referință – Analiza Deming.



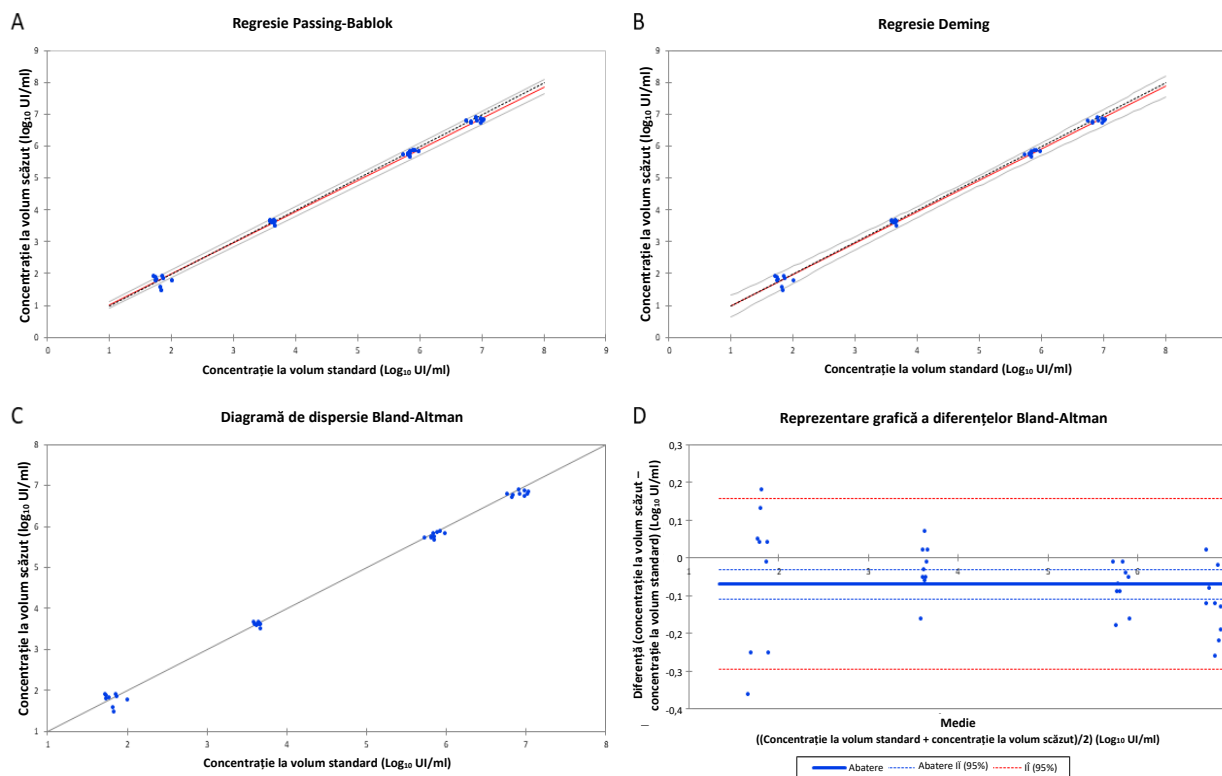
**Figura 9: Reprezentări grafice ale echivalenței (a) și reprezentări grafice reziduale (b) – Analiză cumulativă a rezultatelor NeuMoDx HBV Quant Assay față de testările de referință – Analiza Passing-Bablok.**

**Tabelul 18. Sumarul analizei de regresie liniară Deming și Passing-Bablok pentru eșantioanele de ser**

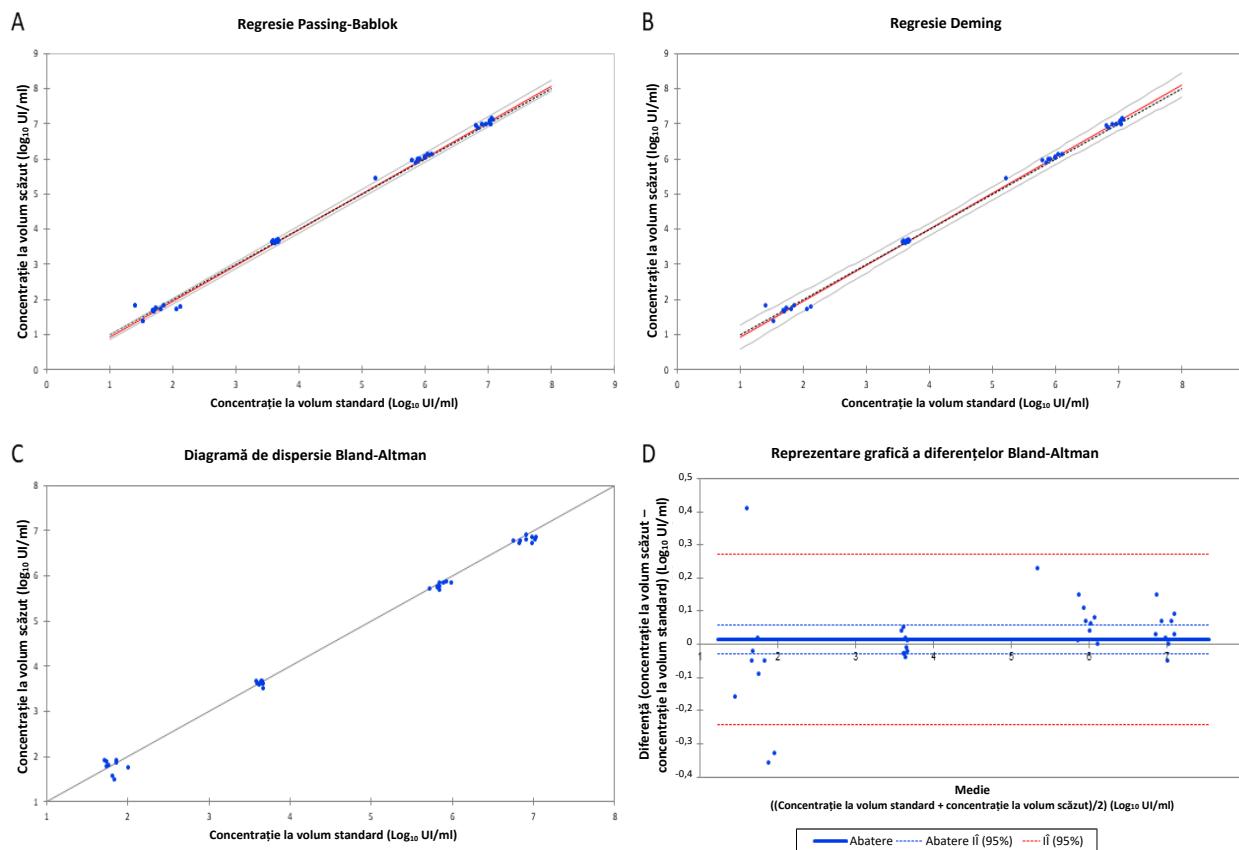
Analiză Deming			Analiză Passing-Bablok		
Intersecție	Coefficientul pantei	R2	Intersecție	Coefficientul pantei	Valoare p
-0,22 ÎI 95% (-0,56, 0,12)	0,99 ÎI 95% (0,93, 1,07)	0,95	-0,25 ÎI 95% (-0,48, 0,06)	0,99 ÎI 95% (0,91, 1,06)	0,89

### Testarea eșantioanelor recoltate – fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 200 μl

Corelarea cantitativă dintre fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 200 μl și cel de 550 μl a fost confirmată utilizând un grup format din probe plasmatice și probe serice individuale, negative la HBV, îmbogățite cu patru niveluri cunoscute de material de control HBV, trasabile în conformitate cu Al 4<sup>lea</sup> standard internațional al OMS pentru ADN HBV pentru testări ale acidului nucleic. Aceste eșantioane individuale de plasmă și ser au fost procesate utilizând atât fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 550 μl, cât și fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 200 μl pentru un total de 288 de testări efectuate. Comparațiile pentru echivalență între concentrația raportată de software-ul NeuMoDx Software pentru fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 200 μl și pentru fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 550 μl cu grupul recoltat au fost realizate pe probe individuale. Analiza de regresie Deming și Passing-Bablok a avut o pantă de 0,985 și 0,998, cu intersecții de -0,001 și, respectiv, 0,053 pentru plasmă și o pantă de 1,024 și 1,018 cu intersecții de 0,095 și, respectiv, 0,070 pentru ser, demonstrând o concordanță excelentă a cuantificărilor HBV între cele două volume de procesare. O comparație Bland and Altman a demonstrat o abatere minimă între cele două fluxuri de lucru. În plus, analizele de regresie liniară simplă cu concentrația preconizată și cu concentrația raportată pentru fluxul de lucru de 200 μl au avut o pantă de 1,047 și un coeficient de corelare de 0,998 (plasmă) și o pantă de 1,113 cu coeficientul de corelare 0,992 (ser), susținând performanța excelentă utilizând fluxul de lucru pentru volumul eșantionului de 200 μl pentru NeuMoDx HBV Quant Assay. Rezultatele acestor studii sunt sintetizate mai jos, în *Figura 10* și *Figura 11*.



**Figura 10:** Comparații grafice de echivalență între concentrațiile raportate la volum scăzut și concentrațiile raportate la volum standard al eșantionului. A) Regresie Passing-Bablok. B) Regresie Deming. C) Diagramă de dispersie Bland-Altman D) Reprezentare grafică a diferențelor Bland-Altman – eșantioane de plasmă



**Figura 11:** Comparații grafice de echivalență între concentrațiile raportate la volum scăzut și concentrațiile raportate la volum standard al eșantionului. A) Regresie Passing-Bablok. B) Regresie Deming. C) Diagramă de dispersie Bland-Altman D) Reprezentare grafică a diferențelor Bland-Altman – eșantioane de ser

### REFERINȚE

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, 5<sup>th</sup> edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009
5. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5<sup>th</sup> 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.










### MĂRCI COMERCIALE

NeuMoDx™ este marcă comercială a NeuMoDx Molecular, Inc.  
 NeuDry™ este marcă comercială a NeuMoDx Molecular, Inc.  
 TaqMan® este marcă comercială înregistrată a Roche Molecular Systems, Inc.

Toate celelalte nume de produse, mărci comerciale și mărci comerciale înregistrate care pot apărea în acest document sunt deținute de proprietarii respectivi.



### LEGENDĂ

<b>R only</b>	Doar pe bază de rețetă		Limită de temperatură
	Producător		A nu se reutiliza
<b>IVD</b>	Dispozitiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i>		Conține suficient pentru <n> (de) testări
	Reprezentanță autorizată în Comunitatea Europeană		Consultați instrucțiunile de utilizare
<b>REF</b>	Număr de catalog		Atenție
<b>LOT</b>	Cod lot		Riscuri biologice
	Termen de valabilitate	<b>CE</b>	Marcaj CE



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

Asistență tehnică/Raportarea vigilenței: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

Brevet: [www.neumodx.com/patents](http://www.neumodx.com/patents)