

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

**R** only

IAKTTAG FÖRSIKTIGHET! Endast för export till USA

**IVD** För *in vitro*-diagnostisk användning med NeuMoDx 288 och NeuMoDx 96 Molecular System

 Uppdaterade bipacksedlar finns på: [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)

Se operatörshandboken till NeuMoDx 288 Molecular System för utförliga anvisningar, art.nr 40600108

Se operatörshandboken till NeuMoDx 96 Molecular System för utförliga anvisningar, art.nr 40600317

### AVSEDD ANVÄNDNING

NeuMoDx HBV Quant Assay är ett automatiserat *in vitro*-nukleinsyreamplifieringstest för kvantifiering av hepatit B-virus (HBV) DNA i humanplasma- och humanserumprover för HBV-genotyper A till H hos HBV-infekterade individer. NeuMoDx HBV Quant Assay utförd på NeuMoDx 288 Molecular System och NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System) använder automatisk DNA-extraktion för att isolera målnukleinsyran från prov och använder en realtidspolymeraskedjereaktion för att söka upp de i hög grad bevarade sekvenserna i Hepatit B-virusgenomet.

NeuMoDx HBV Quant Assay är avsedd att användas som hjälp vid hantering av patienter med HBV-infektioner. Resultaten från NeuMoDx HBV Quant Assay måste tolkas mot bakgrund av relevanta kliniska resultat och laboratorieresultat. NeuMoDx HBV Quant Assay är inte avsedd att användas som screeningstest för blod eller blodprodukter eller som diagnosverktyg för att diagnostisera HBV-infektionens kliniska status.

### SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Humant helblod som samlats i sterila blodprovtagingsrör som innehåller antingen etylendiamintetraättisyra (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) eller sur citratdextros (Acid Citrate-Dextrose, ACD) som antikoagulationsmedel eller i plasmaberedningsrör (Plasma Preparation Tubes, PPT) får användas för beredning av plasma, medan serum ska samlas i serumuppsamlingsrör eller serumseparationsrör (Serum Separation Tubes, SST). För att förbereda för testning laddas plasma i ett sekundärt provrör eller fraktionerat blod i ett primärt provrör som är kompatibelt med NeuMoDx System i NeuMoDx System med hjälp av en dedikerad provrörshållare för att påbörja bearbetningen. För varje prov blandas en aliquot av serumprovet med NeuMoDx Lysis Buffer 1 och NeuMoDx System utför automatiskt alla steg som krävs för extraktion av målnukleinsyran, preparering av den isolerade DNA:n för realtids-PCR-amplifiering och i förekommande fall, detektion av produkter för amplifiering (sektioner av HBV-genomområdet i den starkt koncentrerade regionen som avkodar *X-protein* och *preC-protein*). NeuMoDx HBV Quant Assay innehåller en DNA-provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC1) för att underlätta övervakning beträffande närvaro av potentiella hämmande substanser samt NeuMoDx System- eller reagensfel som kan uppstå under extraktions- och amplifieringsprocesserna.

Hepatit B-virus (HBV) är orsaken till hepatit-B-leverinfektioner och är ett globalt hälsoproblem. Hepatit B kan orsaka både akut hepatit eller utvecklas till ett kroniskt tillstånd som leder till cirros eller levercancer. Risken för att ett kroniskt tillstånd utvecklas är främst åldersrelaterad. Om viruset överförs vid födseln finns det en > 90 % risk för att ett kroniskt tillstånd utvecklas medan en vuxen som blir infekterad har en 2–6 % chans att utveckla ett kroniskt tillstånd.<sup>1</sup> HBV överförs antingen genom blodkontakt med en infekterad person, genom sexuell överföring, delning av intravenösa kanyler med en infekterad person eller vertikal överföring från mor till spädbarn under förlossning. I USA lever omkring 850 000 människor med en HBV-infektion, varav de flesta nya infektioner beror på sexuell överföring eller injektionsdroger.<sup>2</sup> I Afrika och västra Stilla havsområdet är det känt att så många som 5 procent av befolkningen är smittade. Över hela världen under 2015 orsakade HBV-infektioner 885 000 dödsfall, främst på grund av cirros eller hepatocellulär cancer.<sup>3</sup> Det finns ett vaccin som kan förhindra HBV-infektion med 95 % säkerhet, vilket resulterar i färre diagnostiserade fall varje år.<sup>4</sup>

Den nuvarande vårdstandarden för behandling av HBV-infektion är antiviral behandling, vilket kräver konstant övervakning för att säkerställa att behandlingen fortskrider som önskat. Övervakning av behandlingen med NeuMoDx HBV Quant Assay ger läkare rätt information för att behandla patienter med HBV-infektioner.

### PRINCIPER FÖR RUTINEN

NeuMoDx HBV Quant Assay kombinerar automatisk DNA-extraktion, amplifiering och detektering med realtids-PCR. Helblodsprover samlas in i EDTA-, ACD- eller PPT-provrör för preparering av plasma och/eller i SST-provrör för preparering av serum. Det primära (fraktionerade) blodprovet eller en plasma-/serumaliquot i ett kompatibelt sekundärt provrör markeras med streckkod och placeras i NeuMoDx System. NeuMoDx System aspirerar automatiskt en aliquot av plasman/serumet som blandas med NeuMoDx Lysis Buffer 1 och extraktionsreagenser som hämtas från NeuMoDx Extraction Plate för att påbörja bearbetningen. NeuMoDx System automatiserar och integrerar DNA-extraktionen och -koncentrationen, reagensberedningen, samt nukleinsyreamplifiering/identifiering av målsekvensen med realtids PCR. Medföljande provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC1) bidrar till att kontrollera förekomsten av hämmande ämnen samt fel på systemet, processen eller reagenser. Operatören behöver inte ingripa när provet väl har laddats i NeuMoDx System.

NeuMoDx System använder en kombination av värme, lytiskt enzym och extraktionsreagenser för automatisk lysing, DNA-extraktion och avlägsnande av hämmare. De frigjorda nukleinsyrorna fångas upp av paramagnetiska partiklar. Partiklarna, med bundna nukleinsyror, laddas i NeuMoDx Cartridge där de frigjorda delarna sköljs bort med NeuMoDx Wash Reagent. Det bundna DNA:t elueras därefter med NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx System använder sedan det eluerade DNA:t för att rehydrera patenterade NeuDry™ amplifieringsreagenser som innehåller alla komponenter som behövs för amplifiering av HBV- och SPC1-målen. Detta möjliggör samtidig amplifiering och identifiering av både mål- och kontroll-DNA-sekvenserna. Efter rekonstituering av de torkade PCR-reagenserna dispenserar NeuMoDx System den beredda PCR-klara blandningen i en PCR-kammare (per prov) i en NeuMoDx Cartridge. Amplifiering och identifiering av kontroll- och mål-DNA-sekvenser (i förekommande fall) sker i PCR-kammaren. NeuMoDx Cartridge är utformad som behållare för amplikonen efter PCR, vilket praktiskt taget eliminerar risken för kontaminering efter amplifiering.

De amplifierade målen detekteras i realtid med hjälp av hydrolyspokemi (kallas allmänt för TaqMan®-kemi) med hjälp av fluorogen oligonukleotid-problemolekyler som är specifika för applikon för respektive mål. TaqMan-prober består av en fluoroforen som är kovalent bunden till 5'-ändan av oligonukleotidproben och en quencher vid 3'-ändan. När proben är intakt är fluoroforen och quenchern nära varandra, vilket gör att quenchermolekylen undertrycker den fluorescens som fluoroforen emitterar via Förster resonansenergiöverföring Förster resonansenergiöverföring (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan-prober är konstruerade så att de hybridiseras inom en DNA-region som är amplifierad av en viss uppsättning primrar. Allt eftersom Taq DNA-polymeraset förlänger primern och syntetiserar den nya strängen så degraderar 5' till 3' exonukleasaktiviteten för Taq DNA-polymeraset proben som har fäst till mallen. Försämring av proben frigör fluoroforen från den och orsakar förlust av den nära bindningen till quenchern och övervinner dämpningseffekten genom FRET och gör det möjligt att detektera fluoroforen. Den resulterande fluorescenssignalen som detekteras i NeuMoDx Systems kvantitativa CR-termocycel är direkt proportionerlig med den frigjorda fluoroforen och kan korreleras med mängden mål.

En TaqMan-prob märkt med fluoroforen (excitering: 490 nm och emission: 521 nm) vid 5' änden och en mörk quencher vid 3' änden används för detektion av HBV DNA. För detektion av SPC1 är TaqMan-proben märkt med alternativ fluorescerande färg (excitering: 535 nm och emission: 556 nm) vid 5' änden och en mörk quencher vid 3' änden. Via NeuMoDx System-programvaran övervakas den fluorescenssignal som emitteras av TaqMan-proberna i slutet av varje amplifieringscykel. Efter avslutad amplifiering analyserar NeuMoDx System-programvaran data och rapporterar ett slutresultat (POSITIVE (Positivt) /NEGATIVE (Negativt)/ INDETERMINATE (Obestämt)/ UNRESOLVED (Olöst)/NO RESULT (Inget resultat)). Om resultatet är positivt och den beräknade koncentrationen ligger inom kvantifieringsgränserna, ger NeuMoDx Systems programvara också ett kvantitativt värde som associeras med provet.

### REAGENSER/FÖRBRUKNINGSVAROR

#### Material som medföljer

REF	Innehåll	Enheter per förpackning	Tester per enhet	Tester per förpackning
201300	<b>NeuMoDx HBV Quant Test Strip</b> <i>Torkade PCR-reagenser som innehåller HBV- och SPC1-specifika TaqMan-prober och -primrar</i>	6	16	96

#### Material som krävs men inte medföljer (tillgängligt separat från NeuMoDx)

REF	Innehåll
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Torkade paramagnetiska partiklar, lytiska enzymer och provprocesskontroller</i>
800100 eller 800102	<b>NeuMoDx HBV Calibrators</b> <i>HBV hög kalibrator och låg kalibrator för engångsbruk, för fastställning av kalibreringskurvans giltighet</i>
900101 eller 900102	<b>NeuMoDx HBV External Controls</b> <i>Satser med positiva och negativa kontroller för engångsbruk</i>
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) med filter</b>
235905	<b>Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (1 000 µL) med filter</b>

#### Instrument som behövs

**NeuMoDx 288 Molecular System** [REF 500100] eller **NeuMoDx 96 Molecular System** [REF 500200]

### VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- NeuMoDx HBV Quant Test Strip är enbart avsedd för *in vitro*-diagnostisk användning tillsammans med NeuMoDx System.
- Använd inte reagenser eller förbrukningsvaror efter det angivna utgångsdatumet.
- Använd inte reagenser om förseglingen är bruten eller om förpackningen är skadad vid leverans.
- Använd inte förbrukningsvaror eller reagenser om skyddspåsen är öppen eller trasig vid leverans.

- En giltig testkalibrering (skapas genom bearbetning av höga och låga kalibratorer från NeuMoDx HBV Calibrators) måste finnas tillgänglig innan testresultat kan genereras för kliniska prover.
- NeuMoDx HBV External Controls måste bearbetas var 24:e timme under testning med NeuMoDx HBV Quant Assay.
- Minsta provvolym är beroende av rörstorlek, provcarrier och provvolymbearbetning enligt nedan. Volym som är mindre än den minsta provvolymen kan leda till felet "Quantity Not Sufficient" (otillräcklig mängd).
- Användning av prover som har förvarats vid fel temperatur eller längre än den angivna förvaringstiden kan leda till felaktiga eller ogiltiga resultat.
- Undvik alltid kontaminering med mikrober eller deoxyribonukleas (DNase) av alla reagenser och förbrukningsvaror. Användning av sterila, DNase-fria överföringspipetter för engångsbruk rekommenderas vid användning av sekundära provrör. Använd en ny pipett för varje prov.
- Undvik att hantera eller bryta loss någon NeuMoDx Cartridge efter amplifiering för att undvika kontamination. Hämta inte NeuMoDx Cartridge från behållaren för biologiskt avfall (NeuMoDx 288 Molecular System) eller tunnan för biologiskt avfall (NeuMoDx 96 Molecular System) under några omständigheter. NeuMoDx Cartridge är utformad för att förebygga kontaminering.
- Om PCR-tester med öppna rör även utförs av laboratoriet ska åtgärder vidtas för att säkerställa att NeuMoDx HBV Quant Test Strip, ytterligare förbrukningsvaror och reagenser som behövs för testning, personlig skyddsutrustning som handskar och labbrockar och NeuMoDx System inte är förorenade.
- Rena, puderfria nitrilhandskar ska bäras vid hantering av alla NeuMoDx-reagenser och -förbrukningsvaror. Rör inte vid ovansidan av NeuMoDx Cartridge, folieförseglingen till NeuMoDx HBV Quant Test Strip och NeuMoDx Extraction Plate eller ovansidan av NeuMoDx Lysis Buffer 1; ta endast i sidorna när förbrukningsvaror och reagenser hanteras.
- Säkerhetsdatablad (Safety Data Sheets, SDS) medföljer varje reagens (i förekommande fall) på [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu).
- Tvätta händerna noga när testet har utförts.
- Pipettera inte med munnen. Rök, drick eller ät inte i områden där prover eller reagenser hanteras.
- Hantera alltid prover som om de vore smittfarliga och i enlighet med säkra laboratorierutiner såsom de som beskrivs i *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>5</sup> och i CLSI-dokument M29-A4.<sup>6</sup>
- Avfallshantera oanvända reagenser och avfall i enlighet med nationella, federala, regionala och lokala föreskrifter.
- Får ej återanvändas.



### PRODUKTFÖRVARING, HANTERING OCH STABILITET

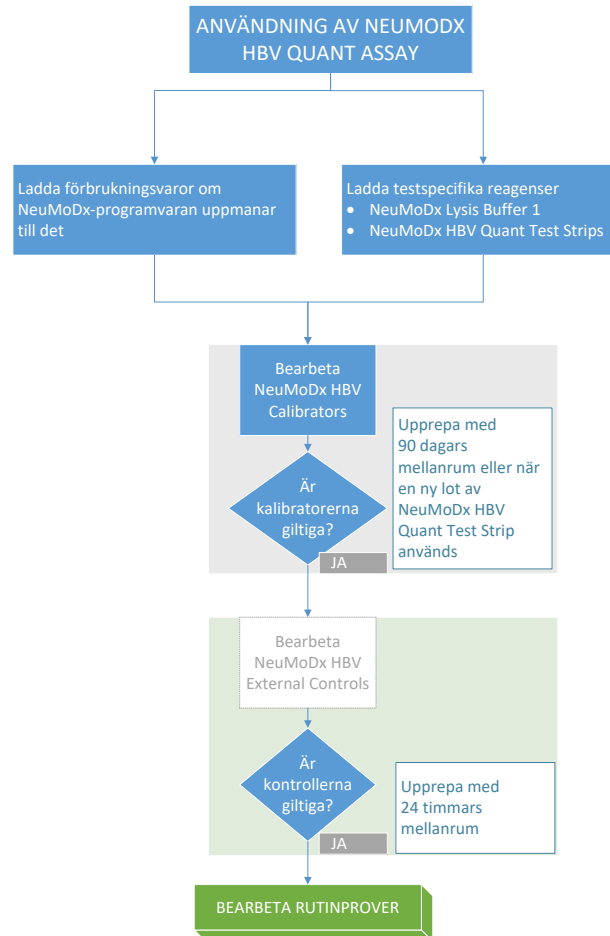
- NeuMoDx HBV Quant Test Strips är stabila i primärförpackningen till och med det utgångsdatum som står på den inre produktetiketten om de förvaras vid 4–28 °C.
- Använd inte förbrukningsvaror och reagenser efter det angivna utgångsdatumet.
- Använd inte någon testprodukt om den inre eller yttre förpackningen är synligt skadad.
- Ladda inte om någon testprodukt som redan har laddats på ett annat NeuMoDx System.
- Efter laddning kan NeuMoDx HBV Quant Test Strip lämnas kvar i NeuMoDx System i 62 dagar. Återstående hållbarhet för de laddade testremorna övervakas via programvaran och rapporteras till användaren i realtid. Systemet kommer att uppmana användaren att ta bort testremor som har gått ut.

### INSAMLING, TRANSPORT OCH LAGRING AV PROV

1. Hantera alla prover, kalibratorer och kontroller som potentiella smittbärare.
2. Frys inte helblod eller prover som förvaras i primärrör.
3. Plasmaprover ska prepareras genom att helblod samlas in i sterila provrör med EDTA eller ACD som antikoagulerande medel. Följ instruktionerna från tillverkaren av provröret för förberedelse och förvaring.
4. För att förbereda serumprover bör helblod samlas in i SST-rör. Följ instruktionerna från tillverkaren av provröret för förberedelse och förvaring.
5. Prover kan testas i primära eller sekundära provrör. Rekommenderas för test i primära provrör:
  - a. Plasmaprover: BD Vacutainer® Plus Plastic K<sub>2</sub>EDTA Tube (BD #368589) eller BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
  - b. Serumprover: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD #367820) eller BD Vacutainer SST™ Tube (BD #367988).
6. Preparerade prover kan förvaras i NeuMoDx System i upp till 8 timmar för plasma och 24 timmar för serum före bearbetningen. Om ytterligare förvaringstid behövs rekommenderar vi att proven antingen kyls eller infrysas som sekundära alikvoter.
7. Preparerade prover ska förvaras vid 2 °C till 8 °C i högst 7 dagar innan de testas och högst 8 timmar för plasma och 24 timmar för serum i rumstemperatur.

8. Beredda prover får förvaras vid  $\leq -20$  ° C i upp till 4 veckor (serum) eller 6 månader (plasma) före bearbetning. Frysta prover får inte genomgå mer än 2 frys-/upptiningscykler för plasma och 4 frys-/upptiningscykler för serum före användning.
  - a. Om proverna är frysta: Låt dem tina helt till rumtemperatur (15–30 °C) och blanda i vortexblandare så att de blir homogena.
  - b. Upptinade frysta prov måste testas inom 24 timmar.
  - c. Frysning av plasma/serum i primära uppsamlingsrör rekommenderas inte.
9. Om proverna ska skickas ska de förpackas och märkas i enlighet med gällande nationella och/eller internationella föreskrifter.
10. Märk proven tydligt och ange att de är avsedda för HBV-testning.
11. Fortsätt till avsnittet *Beredning av test*.

Den övergripande processen för användning av NeuMoDx HBV Quant Assay sammanfattas nedan i *Bild 1*.



**Bild 1:** Arbetsflöde för användning av NeuMoDx HBV Quant Assay

## BRUKSANVISNING

### Beredning av test

*NeuMoDx HBV Quant Assay kan köras direkt från primära blodprovtagningsrör eller från provalikvoter i sekundära rör. Bearbetningen kan köras med ett av två arbetsflöden för bearbetning av provolymer – 550  $\mu$ L provolymerarbetsflöde eller 200  $\mu$ L provolymerarbetsflöde. Fäst provstrekkodsetiketten på ett provrör som är kompatibelt med NeuMoDx System.*

1. Fäst provstrekkodsetiketten på ett provrör som är kompatibelt med NeuMoDx System. Det primära blodprovrröret kan märkas och placeras direkt i en 32-rörs provrörscarrier efter centrifugering enligt tillverkarens anvisningar. Alternativt kan en aliquot av plasma/serum överföras till ett sekundärt provrör för bearbetning i NeuMoDx System.

- Om du testar provet i det primära provröret ska provröret med streckkodsetiketten placeras i en carrier. Kontrollera att locket har avlägsnats innan du laddar provröret på NeuMoDx System. Minimivolymer **över** gel-/buffy-skiktet definieras nedan och kommer att uppfyllas om prover samlas in och behandlas enligt rörtillverkarens anvisningar. Prestandan garanteras inte för prover som samlas in på fel sätt.

Provrörstyp	Minsta provvolym som krävs	
	550 µL arbetsflöde	200 µL arbetsflöde
SST – 3,5 mL	1 550 µL	1 200 µL
PPT/SST – 5,0 mL	1 800 µL	1 450 µL
PPT/SST – 8,5 mL	2 500 µL	2 200 µL
K <sub>2</sub> EDTA/Serum – 4,0 mL	1 050 µL	700 µL
K <sub>2</sub> EDTA/Serum – 6,0 mL	1 250 µL	900 µL
K <sub>2</sub> EDTA/Serum – 10,0 mL	1 600 µL	1 250 µL

- Om du använder ett sekundärt provrör överför du en alikvot av plasma/serum till det streckkodsmärkta provröret som är kompatibelt med NeuMoDx System enligt nedanstående volymer:

Provrörscarrier	Rörstorlek	Minsta provvolym som krävs	
		550 µL arbetsflöde	200 µL arbetsflöde
<b>32-Tube Specimen Tube Carrier</b> (Provrörscarrier för 32 provrör)	11–14 mm diameter med 60–120 mm höjd	700 µL	400 µL
<b>24-Tube Specimen Tube Carrier</b> (Provrörscarrier för 24 provrör)	14,5–18 mm diameter med 60–120 mm höjd	1 100 µL	800 µL
<b>Low Volume Specimen Tube Carrier</b> (Provrörscarrier för lågvolymsprovrör)	1,5 mL mikrocenrifugrör med konisk botten	650 µL	300 µL

### Användning av NeuMoDx System

Se operatörshandboken till NeuMoDx 288 och 96 Molecular System för utförliga anvisningar (art.nr 40600108 och 40600317)

- Ladda testordern i NeuMoDx System enligt önskat arbetsflöde för probearbetningsvolym och provrörstyp:
  - 550 µL provvolym testas genom att definiera provtypen som "**Plasma**" eller "**Serum**"
  - 200 µL provvolym testas genom att definiera provtypen som "**Plasma2**" eller "**Serum2**"
  - Om inte har definierats i testordern kommer provtypen **Plasma** i ett **Secondary Tube (Sekundärt rör)** att användas som standard
- Fyll en eller flera NeuMoDx System Test Strip-carrier med NeuMoDx HBV Quant Test Strip och använd pekskärmen för att ladda testremscarriern i NeuMoDx System.
- Om NeuMoDx System-programvaran uppmanar till det ska du tillsätta nödvändiga förbrukningsvaror i NeuMoDx Systems carriers för förbrukningsvaror och använda pekskärmen för att ladda carriern i NeuMoDx System.
- När programvaran för NeuMoDx System uppmanar till det ska du ersätta NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, tömma primningsavfallet, behållaren för biologiskt avfall (endast NeuMoDx 288 Molecular System), spetsavfallsbehållaren (endast NeuMoDx 96 Molecular System) eller tunnan för biologiskt avfall (endast NeuMoDx 96 Molecular System) enligt uppmaningen.
- Om programvaran i NeuMoDx System uppmanar till det ska NeuMoDx HBV Calibrators och/eller NeuMoDx HBV External Controls bearbetas. Mer information om kalibratorer och kontrollerar finns i avsnittet *Bearbetning av resultat*.
- Ladda provrören med prov/kalibrator/kontroll i en provrörscarrier. Se till att alla provrörslock är borttagna.
- Placera provrörscarriern i Autoloader-hyllan och ladda carriern i NeuMoDx System med hjälp av pekskärmen. Detta startar bearbetningen av de laddade proverna för de identifierade testerna. förutsatt att en giltig testbeställning finns i systemet.

### BEGRÄNSNINGAR

1. NeuMoDx HBV Quant Test Strip kan bara användas på NeuMoDx System.
2. Prestandan hos NeuMoDx HBV Quant Test Strip har fastställts för plasmaprover som beretts med EDTA/ACD som antikoagulanter eller serumprover som beretts i serumseparatorrör. Användning av NeuMoDx HBV Quant Test Strip med andra källor har inte bedömts, och prestandaegenskaperna för detta test är okända för övriga typer av prover.
3. Prestandan hos NeuMoDx HBV Quant Test Strip har fastställts för primära provrörstest med BD Vacutainer Plus Plastic K<sub>2</sub>EDTA Tubes, BD Vacutainer PPT Plasma Preparation Tube, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube och BD Vacutainer SST Tube.
4. En liten ökning av detektionsgränsen och den lägre kvantifieringsgränsen för NeuMoDx HBV Quant Assay har observerats vid användning av 200 µL provvolymarbetsflödet.
5. NeuMoDx HBV Quant Assay används endast för kvantitativ övervakning. Det är inte avsett att användas för kvalitativ detektion.
6. NeuMoDx HBV Quant Assay får inte användas med prover från hepariniserade människor.
7. Eftersom detektion av HBV är beroende av antalet mål-DNA-partiklar i provet är pålitliga resultat beroende av att provet samlas in, hanteras och lagras på korrekt sätt.
8. NeuMoDx HBV Calibrators och NeuMoDx HBV External Controls måste behandlas enligt rekommendationerna i bipacksedlarna och uppmaningarna i NeuMoDx System-programvaran innan kliniska prover rutinbearbetas.
9. Felaktiga resultat kan uppstå vid felaktig insamling, hantering, förvaring, tekniska fel eller felidentifiering av provrör. Dessutom kan felaktigt negativa resultat bli följden eftersom antalet viruspartiklar i provet ligger under detektionsgränsen för NeuMoDx HBV Quant Assay.
10. NeuMoDx System får bara användas av personal som utbildats inom användning av NeuMoDx System.
11. Om både HBV-målet och SPC1-målen inte amplificeras rapporteras ett ogiltigt resultat (Indeterminate (obestämt), No Result (inget resultat) eller Unresolved (olöst)). Då ska testet upprepas.
12. Om NeuMoDx HBV Quant Assay är positivt, men kvantifieringsvärdet är utanför kvantifieringsgränserna, så rapporterar NeuMoDx System om detekterad HBV var *under* lägre kvantifieringsgräns (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) eller *över* övre kvantifieringsgräns (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
13. Om detekterad HBV var *under* LLoQ kan analysen upprepas (om så önskas) med en annan alikvot av provet.
14. Om detekterad HBV var över ULoQ ska analysen upprepas med NeuMoDx HBV Quant Assay och en utspädd alikvot av originalprovet. Vi rekommenderar en spädning på 1:1 000 i HBV-negativ plasma eller Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Koncentrationen i det ursprungliga provet kan beräknas enligt följande:
 
$$\text{ursprunglig provkoncentration} = \log_{10}(\text{spädningsfaktor}) + \text{rapporterad koncentration av det utspädda provet}$$
15. Tillfällig förekomst av PCR-hämmare i plasma kan resultera i ett systemkvantifieringsfel. Om detta inträffar rekommenderas att testet upprepas med samma prov som späds i Basematrix vid 1:10 eller 1:100.
16. Ett positivt testresultat indikerar inte nödvändigtvis förekomsten av levande organismer. Snarare tyder ett positivt resultat på förekomst av DNA från hepatit B-virus.
17. Borttagningar eller mutationer i de bevarade regionerna som är mål för NeuMoDx HBV Quant Assay kan påverka detekteringen eller ge upphov till felaktiga resultat med NeuMoDx HBV Quant Test Strip.
18. Resultat från NeuMoDx HBV Quant Assay ska användas som komplement till kliniska observationer och övrig information som är tillgänglig för läkaren. Det är inte avsett för diagnostisering av infektioner.
19. God laboratoriesed inklusive att byta handskar mellan hantering av patientprover rekommenderas för att undvika kontaminering.

### BEARBETNING AV RESULTAT

Tillgängliga resultat kan visas eller skrivas ut från fliken Results (Resultat) i fönstret Results (Resultat) på NeuMoDx Systems pekskärm. Resultatet av NeuMoDx HBV Quant Assay genereras automatiskt av programvaran i NeuMoDx System med beslutsalgoritmen och resultatbearbetningsparametrarna som angetts i definitionsfilen till NeuMoDx HBV Quant Assay (HBV ADF). Ett resultat kan anges som Negative (negativt), Positive (positivt) med en rapporterad HBV-koncentration, Positive (positivt) över ULoQ, Positive (positivt) under LLoQ, Indeterminate (obestämt, IND) eller Unresolved (olöst, UNR) eller No Result (Inget resultat, NR) baserat på amplificeringsstatus för målet och provbearbetningskontrollen. Resultaten rapporteras baserat på ADF-beslutsalgoritmen som sammanfattas nedan i *tabell 1*.

Tabell 1: Sammanfattning av beslutsalgoritm för HBV Quant Assay

RESULTAT	HBV-mål	Provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC1)	Resultattolkning
<b>Positive (positivt) med rapporterad koncentration</b>	Amplified (Amplifierad) 0,9 ≤ [HBV] ≤ 9,0 log <sub>10</sub> IE/mL (550 µL arbetsflöde) 1,4 ≤ [HBV] ≤ 9,0 log <sub>10</sub> IE/mL (200 µL arbetsflöde)	Amplified (amplifierad) eller Not Amplified (ej amplifierad)	HBV DNA detekterat inom kvantitativt intervall
<b>Positive (positivt), över ULoQ</b>	Amplified (Amplifierad) [HBV] > 9,0 log <sub>10</sub> IE/mL	Amplified (amplifierad) eller Not Amplified (ej amplifierad)	HBV DNA detekterat över kvantitativt intervall
<b>Positive (positivt), under LLoQ</b>	Amplified (Amplifierad) [HBV] < 0,9 log <sub>10</sub> IE/mL (550 µL arbetsflöde) [HBV] < 1,4 log <sub>10</sub> IE/mL (200 µL arbetsflöde)	Amplified (amplifierad) eller Not Amplified (ej amplifierad)	HBV DNA detekterat under kvantitativt intervall
<b>Negative (Negativt)</b>	Not Amplified (Ej amplifierad)	Amplified (Amplifierad)	HBV DNA har inte detekterats
<b>Indeterminate (Obestämt)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Ej amplifierad, Systemfel upptäcktes, Provbearbetning slutförd)		Alla målresultat var ogiltiga – testa om provet†
<b>No Result* (Inget resultat)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Ej amplifierad, Systemfel upptäcktes, Provbearbetning avbruten)		Provbearbetning avbröts; testa om provet†
<b>Unresolved (Olöst)</b>	Not Amplified, No System Error Detected (Ej amplifierad, Systemfel upptäcktes inte)		Alla målresultat var ogiltiga – testa om provet†

\*No Result-flaggan (Inget resultat) rapporteras bara på NeuMoDx System programversion 1.8 och senare.

†NeuMoDx System har utrustats med en automatisk funktion för Rerun (Omkörning)/Repeat (Uppprepning) som slutanvändaren kan välja att använda för att säkerställa att resultatet IND (Obestämt)/UNR (Olöst)/NR (Inget resultat) bearbetas om automatiskt och därmed minska förseningar av resultatrapportering.

### Testberäkning

- För prover inom kvantifieringsintervallet för NeuMoDx HBV Quant Assay så beräknas koncentrationen av HBV DNA i proverna med hjälp av den lagrade standardkurvan tillsammans med kalibreringskoefficienten och provvolymen.
  - En s.k. kalibreringskoefficient beräknas utifrån resultatet av NeuMoDx HBV Calibrators som bearbetats för att fastställa standardkurvas giltighet för en viss lot av NeuMoDx HBV Quant Test Strip i ett specifikt NeuMoDx System.
  - Kalibreringskoefficienten räknas in i den slutliga bestämningen av koncentrationen av HBV DNA.
  - NeuMoDx Software står för provets indatavolym vid bestämning av koncentrationen av HBV DNA per mL prov.
- Resultaten av NeuMoDx HBV Quant Assay rapporteras i log<sub>10</sub> IE/mL.
- Den resulterande kvantifieringen av de okända proverna kan spåras till WHO:s fjärde internationella standard för HBV.

### Testkalibrering

En giltig kalibrering baserad på standardkurvan krävs för att kvantifiera HBV DNA i proven. För att resultaten ska bli giltiga måste en testkalibrering utföras med externa kalibratorer från NeuMoDx Molecular, Inc.

### Kalibratorer

- En uppsättning NeuMoDx HBV Calibrators behöver bearbetas för varje ny lot med NeuMoDx HBV Quant Test Strips, när en ny HBV Quant analysdefinitionsfil laddas upp i NeuMoDx System eller om utgångsdatum har passerat för den aktuella kalibratoruppsättningen (90 dagar) eller om programvaran i NeuMoDx System förändras.
- NeuMoDx System-programvaran informerar användaren när kalibratorerna måste bearbetas. En ny lot testremisor kan inte användas för testning förrän kalibratorerna har bearbetats.
- Kalibreringsvaliditeten fastställs så här:
  - En uppsättning med två kalibratorer – en (1) hög och en (1) låg – behöver bearbetas för att fastställa validiteten.
  - För att resultaten ska vara giltiga ska minst två (2) av de tre (3) replikaten ge resultat som ligger inom de förinställda parametrarna. Det nominella målvärdet för låg kalibrator är 3,7 log<sub>10</sub> IE/mL och för hög kalibrator 5,7 log<sub>10</sub> IE/mL.
  - En kalibreringskoefficient beräknas för att ta hänsyn till förväntad variation mellan olika loter av testremisor. Kalibrationskoefficienten används vid bestämning av den slutgiltiga HBV-koncentrationen.
- Om en eller bägge kalibratorer inte godkänns av validitetskontrollen så upprepar du bearbetningen av de misslyckade kalibratorerna med en ny ampull. Om en kalibrator inte valideras så går det att enbart upprepa den misslyckade kalibratoren eftersom systemet inte kräver att användaren kör bägge kalibratorerna igen.
- Kontakta NeuMoDx Molecular, Inc. om en eller båda kalibratorer underkänns i valideringen i följd.

### Kvalitetskontroll

Lokala föreskrifter anger vanligen att laboratoriet är ansvarigt för kontrollrutiner som övervakar noggrannheten och precisionen i hela den analytiska processen och måste fastställa antalet, typen av och frekvensen för testning av kontrollmaterial med hjälp av prestandaspecifikationer för ett omodifierat, godkänt testsystem.

### Externa kontroller

1. Positiva och negativa externa kontroller måste bearbetas var 24:e timme under testning med NeuMoDx HBV Quant Assay. Om inga giltiga externa kontrollresultatuppsättningar finns begär NeuMoDx System-programvara användaren att tillhandahålla dessa kontroller innan provresultat kan rapporteras.
2. Giltigheten för externa kontroller analyseras av NeuMoDx System baserat på det förväntade resultatet. Den positiva kontrollen ska ge resultatet HBV Positive (positivt) och den negativa kontrollen resultatet HBV Negative (negativt).
3. Gör så här om resultaten för externa kontroller avviker från varandra:
  - a) Ett positivt testresultat som rapporteras för ett negativt kontrollprov indikerar att provet är kontaminerat.
  - b) Ett negativt testresultat som rapporteras för ett positivt kontrollprov kan indikera att det finns ett reagens- eller instrumentrelaterat problem.
  - c) Upprepa NeuMoDx HBV External Controls med färsk flaskor av de kontroller som inte godkändes av valideringen i något av ovanstående fall, eller vid resultatet Indeterminate (Obestämt, IND) eller No Result (Inget resultat, NR).
  - d) Om den positiva NeuMoDx HBV External Control återigen ger resultatet Negative (negativt) ska du kontakta den tekniska supporten hos NeuMoDx.
  - e) Om den negativa NeuMoDx HBV externa kontrollen återigen ger ett positivt resultat: försök eliminera alla potentiella kontamineringskällor, bland annat genom att byta alla reagenser innan du kontaktar den tekniska supporten hos NeuMoDx.

### Provprocesskontroller (interna)

En exogen probbearbetningskontroll (Sample Process Control, SPC1) inkluderas i NeuMoDx Extraction Plate och genomgår hela processen med nukleinsyraextraktion och realtids-PCR-amplifiering med varje prov. SPC1-specifika primrar och prober inkluderas också i varje NeuMoDx HBV Quant Test Strip. Därmed kan närvaron av SPC1 detekteras tillsammans med HBV mål-DNA (i förekommande fall) via multiplex PCR. Detektering av SPC1-amplifiering gör att programvaran i NeuMoDx System kan övervaka effektiviteten hos DNA-extraktion och PCR-amplifieringsprocesserna.

### Ogiltiga resultat

Om en NeuMoDx HBV Quant Assay som utförs i NeuMoDx System inte producerar ett giltigt resultat efter att probbearbetningen har slutförts rapporteras det som antingen Indeterminate (Obestämt) (IND), No result (Inget resultat) (NR) eller Unresolved (Olöst) (UNR) baserat på typen av fel som uppstod.

Ett IND-resultat rapporteras om ett NeuMoDx System-fel upptäckts under probbearbetningen. Om ett IND-resultat rapporteras rekommenderas ett omtest.

Ett UNR-resultat (Olöst) rapporteras om ingen giltig amplifiering av HBV DNA eller SPC1 identifieras i avsaknad av systemfel, vilket indikerar ett möjligt reagensfel eller att det finns hämmare. Om ett UNR-resultat (Olöst) rapporteras rekommenderas ett omtest som första steg. Om även omtestet misslyckas kan ett utspätt prov användas för att lindra effekterna av eventuell provhämning.

Om en NeuMoDx HBV Quant Assay som utförts på NeuMoDx System inte ger ett giltigt resultat och probbearbetningen avbryts innan den slutfördes kommer den att rapporteras som No Result (Inget resultat, NR). Om NR (Inget resultat) rapporteras rekommenderas ett omtest.

## PRESTANDAEGENSKAPER

### Analytisk sensitivitet – detektionsgräns enligt WHO-standard

Den analytiska sensitiviteten hos NeuMoDx HBV Quant Assay bestämdes genom att testa negativa prover och en spädningsserie enligt WHO:s fjärde internationella standard i screenad negativ humanplasma och serum för att fastställa detektionsgränsen (Limit of Detection, LoD) på NeuMoDx System. LoD definierades som den lägsta målnivån som detekteras till en kvot på 95 %, vilket fastställdes av probitanalysen. Undersökningen utfördes i tre dagar med flera NeuMoDx System och flera loter med NeuMoDx-reagenser. Ytterligare en studie utfördes för att bestämma LoD för NeuMoDx HBV Quant Assay när arbetsflödet med 200 µL provvolym används. Detektionsnivåer från båda studierna visas i *tabell 2*.



Tabell 2: Positiva detektionsnivåer för LoD-bestämning av NeuMoDx HBV Quant Assay

	Målkonzentration [IE/mL]	Målkonzentration [ $\log_{10}$ IE/mL]	PLASMA			SERUM		
			Antal giltiga tester	Antal positiva	Detektionsnivå	Antal giltiga tester	Antal positiva	Detektionsnivå
<b>550 <math>\mu</math>L</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	N/A (EJ TILLÄMPLIGT)	108	0	0 %	107	0	0 %
<b>200 <math>\mu</math>L</b>	25	1,40	43	43	100 %	44	44	100 %

LoD för NeuMoDx HBV Quant Assay för HBV-genotyp A (WHO:s fjärde internationella standard) i plasma fastställdes till 5,2 IE/mL (95 % KI 4,1–7,6 IE/mL) [(0,72  $\log_{10}$  IE/mL) (95 % KI 0,61–0,88  $\log_{10}$  IE/mL)] med arbetsflödet med 550  $\mu$ L provvolym (*bild 2*). LoD för NeuMoDx HBV Quant Assay för serumprover fastställdes till 8,0 IE/mL (95 % KI 6,5–10,8 IE/mL) [(0,9  $\log_{10}$  IE/mL) (95 % KI 0,8–1,0  $\log_{10}$  IE/mL)] med arbetsflödet med 550  $\mu$ L provvolym (*bild 2*).

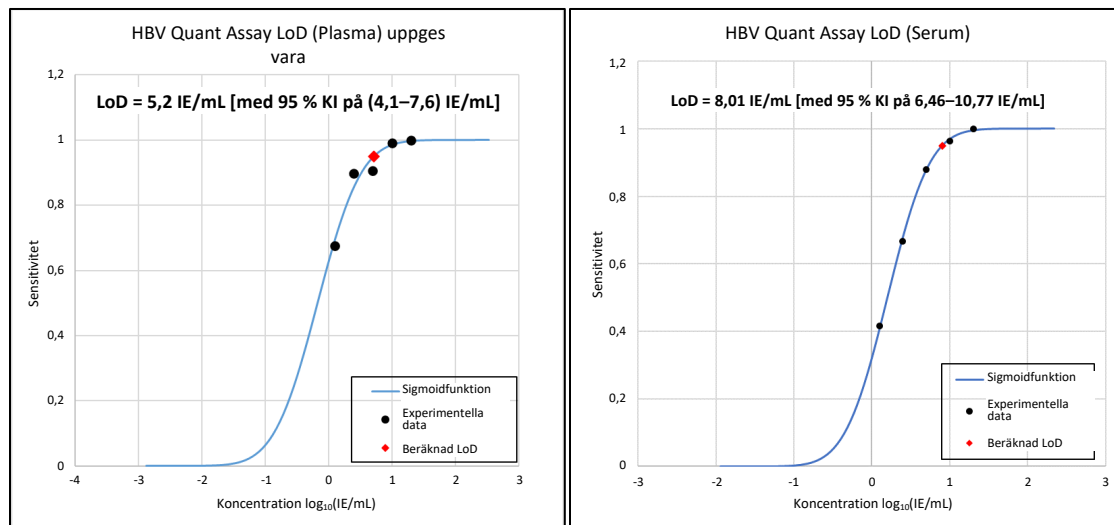


Bild 2: Probitformatanalys som används för att bestämma LoD för NeuMoDx HBV Quant Assay, Plasma (vänster) och Serum (höger)

### Analytisk sensitivitet – kvantifieringsgräns– lägre kvantifieringsgräns (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) enligt WHO-standard

Den lägre kvantifieringsgränsen (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) definieras som den lägsta målnivån där > 95 % detektion uppnås och totalt analytiskt fel (Total Analytical Error, TAE)  $\leq 1,0$ . För att fastställa LLoQ beräknades det totala analytiska felet (Total Analytical Error, TAE) för var och en av målnivåerna för HBV som rapporterade > 95 % detektion som en del av LoD-beräkningen. Det totala analytiska felet definieras enligt följande:

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

Bias är absolutvärdet för skillnaden mellan medelvärdet av den beräknade koncentrationen och den förväntade koncentrationen. SD avser standardavvikelsen för det kvantifierade värdet för provet.

Sammanställda resultat för de fem nivåerna av HBV-prover som används i LLoQ-studien med WHO:s fjärde internationella standard visas i *tabell 3*. LLoQ enligt WHO:s fjärde internationella standard i plasma med NeuMoDx HBV Quant Assay (arbetsflödet med 550  $\mu$ L provvolym) fastställdes till 5,5 IE/mL (0,74  $\log_{10}$  IE/mL). En separat studie utfördes för att bekräfta LLoQ när arbetsflödet med 200  $\mu$ L provvolym används, och dessa resultat visade en LLoQ på 25 IE/mL, vilket också visas i *tabell 3*.

LLoQ för NeuMoDx HBV Quant Assay för serumprover fastställdes till 6,0 IE/mL när arbetsflödet med 550  $\mu$ L provvolym används och 25 IE/mL vid användning av arbetsflödet med låg provvolym (200  $\mu$ L), vilket visas i *tabell 3*.

**Tabell 3:** NeuMoDx HBV Quant Assay LLoQ med Bias och TAE

	Målkonc. [IE/mL]	Målkonc. [log <sub>10</sub> IE/mL]	Plasma					Serum				
			Snittkonc. [log <sub>10</sub> IE/mL]	Detektion (%)	SD	Bias	TAE	Snittkonc. [log <sub>10</sub> IE/mL]	Detektion (%)	SD	Bias	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

**Analytisk sensitivitet – LoD och LLoQ över HBV-genotyper**

LoD fastställdes först för genotyp A (WHO:s fjärde internationella standard) och därefter utfördes ytterligare testning omkring fastställt LoD med var och en av de andra 7 genotyperna. Trettiosex (36) replikat vid nivåer motsvarande 2X, 1X och 0,5X av det övre gränsvärdet för 95 % KI LoD (~7 IE/mL) testades med NeuMoDx HBV Quant Assay med plasma och arbetsflödet med 550 µL provvolym. Positiv procentandel för varje genotyp vid var och en av dessa testade nivåer uppställdes i tabellform och användes för att beräkna LoD med en probitanalys.

Totalt analytiskt fel vid dessa nivåer beräknades också. Den lägsta nivån med 95 % positiv detektering och beräknat TAE på ≤ 1,0 bedömdes återigen vara LLoQ för genotypen. För olika genotyper visades att detektionsgränsen för NeuMoDx HBV Quant Assay för plasmaprover med arbetsflödet med 550 µL är 6,2 IE/mL (0,79 log<sub>10</sub> IE/mL) och att LLoQ är 7,6 IE/mL (0,88 log<sub>10</sub> IE/mL), vilket kan ses i *tabell 4*.

**Tabell 4.** HBV-genotyper testade i plasma med arbetsflödet med 550 µL provvolym

GENOTYP	LoD [IE/mL]	LLoQ [IE/mL]
Genotyp A	5,2	5,2
Genotyp B	6,2	6,2
Genotyp C	3,5	6,2
Genotyp D	5,2	5,7
Genotyp E	3,5	3,5
Genotyp F	5,1	6,2
Genotyp G	3,5	3,5
Genotyp H	5,2	7,6

Baserat på resultaten av dessa studier hävdar NeuMoDx en **LoD och LLoQ på 25 IE/mL (1,4 log<sub>10</sub> IE/mL)** för NeuMoDx HBV Quant Assay i **plasma och serum** med arbetsflödet för en **provvolyml på 200 µL**.

NeuMoDx hävdar en **LoD och LLoQ på 8,0 IE/mL (0,9 log<sub>10</sub> IE/mL)** för NeuMoDx HBV Quant Assay i i **plasma och serum** med arbetsflödet för en **provvolyml på 550 µL**.

**Analytisk sensitivitet – Linjäritet och bestämning av övre kvantifieringsgräns (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)**

Linjäritet och övre kvantifieringsgräns (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) för NeuMoDx HBV Quant Assay etablerades i plasma genom att en spädningsserie förbereddes med ett högpositivt HBV kliniskt prov (Access Biologicals, Vista, CA) med etablerad spårbarhet till WHO:s fjärde internationella standard. En panel med 11 deltagare preparerades i poolad HBV-negativ plasma så att panelen omfattade koncentrationer på 9,02 till 1,02 log<sub>10</sub> IE/mL. Testpanelen bearbetades med sex replikat på varje nivå över två NeuMoDx Systems och tre loter med kritiska reagenser. NeuMoDx HBV Quant Assay visade förmåga att kvantifiera HBV över det linjära intervallet 8 log<sub>10</sub> (inklusive kritiska medicinska beslutspunkter) med en avvikelse på ± 0,22 log<sub>10</sub> IE/mL. Ingen betydande fördel uppnåddes vid användning av regressionsanpassningar i 2:a och 3:e ordningen. ULoQ bestämdes med hjälp av data från denna studie till 9,02 log<sub>10</sub> IE/mL [*tabell 5* och *bild 3*].

Tabell 5: Linjäriteten hos NeuMoDx HBV Quant Assay (utvärderad med genotyp A)

Målkonc. (IE/mL)	Målkonc. (log <sub>10</sub> IE/mL)	Medelkonc. (log <sub>10</sub> IE/mL)	Standardavvikelse	Bias	Förutspådd linjär anpassning	Avvikelse från icke-linjär anpassning
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

\*Nära medicinska beslutspunkter

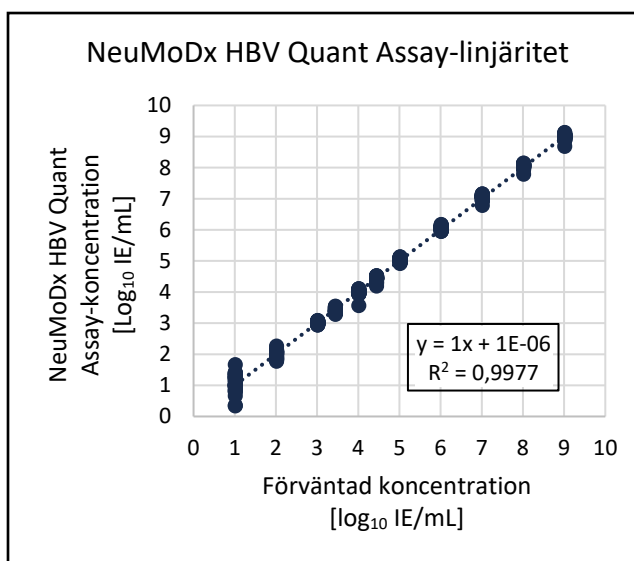
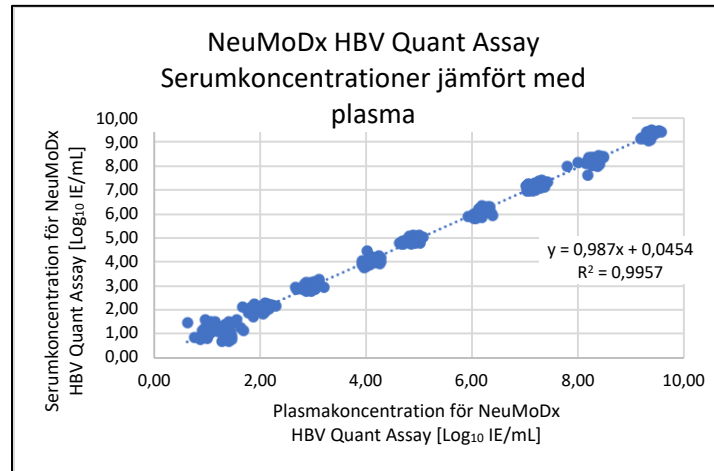


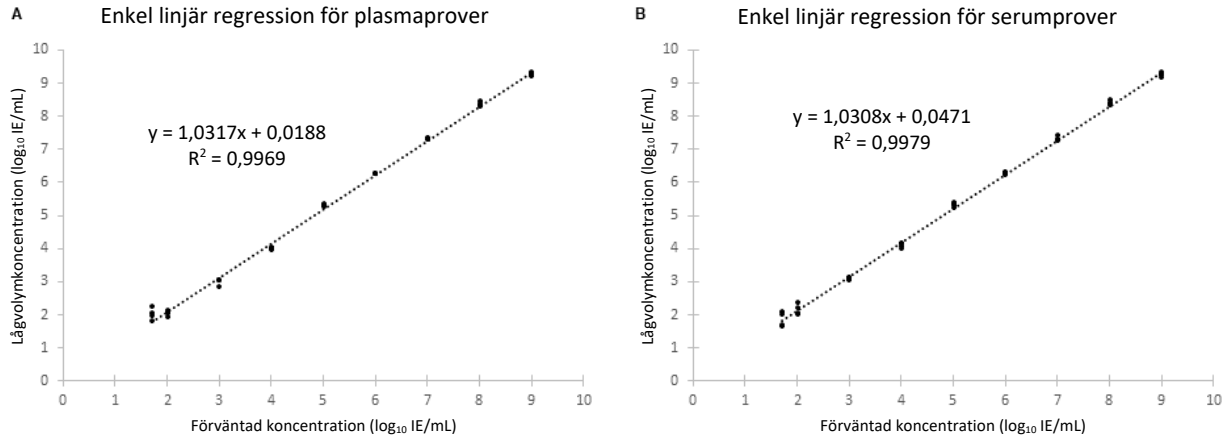
Bild 3: Linjärt område hos NeuMoDx HBV Quant Assay i plasma

En efterföljande studie utfördes för att visa matrisekvivalens och analysen jämfört med kvantitativa resultat för NeuMoDx HBV för prover som förberetts i plasma och serum med två olika modeller för regressionspassform, inklusive regressionsverktyget i MS Excel och Passing-Bablok. Resultaten visade en stark korrelation som representeras av lutnings- och interceptvärden nära 1,00 respektive 0,00 och ett R<sup>2</sup>-värde på 0,99 (regressionsverktyget i MS Excel) eller ett p-värde på 0,270 (Passing-Bablok). HBV Quant-analysens koncentrationer, som rapporterades av NeuMoDx System för plasmamatrixen jämfört med motsvarande serumprover, presenteras i bild 4.



**Bild 4:** Linjärt område hos NeuMoDx HBV Quant Assay mellan matriser

Linjäriteten och ULOQ bekräftades därefter för arbetsflödet med 200 µL provvolym över ett område på 9,31–1,71 log<sub>10</sub> IE/mL. Ekvivalensjämförelser utfördes mellan de koncentrationer som rapporterats av NeuMoDx Software för arbetsflöden med 200 µL och 550 µL. Deming och Passing-Bablok-regressionsanalys visade en utmärkt korrelation och en lutning nära 1 och minimala intercept (bias) för de rapporterade koncentrationerna av både plasma- och serumprover över det linjära området. En Bland-Altman-jämförelse av den rapporterade koncentrationen för arbetsflödet med 200 µL provvolym och den genomsnittliga rapporterade koncentrationen för både 200 µL och 550 µL provvolym visade minimal bias. Precisionen tillskrivs den algoritm som användes för att skapa resultat för arbetsflödet med 200 µL. Dessutom jämförde en enkel linjär regression den förväntade koncentrationen med den rapporterade koncentrationen för arbetsflödet med 200 µL och gav en lutning nära 1, vilket visar en utmärkt korrelation [bild 5]. Tillsammans visar dessa jämförelser korrekt kvantifiering av HBV över det linjära intervallet för NeuMoDx HBV Quant Assay med arbetsflödet med 200 µL provvolym.



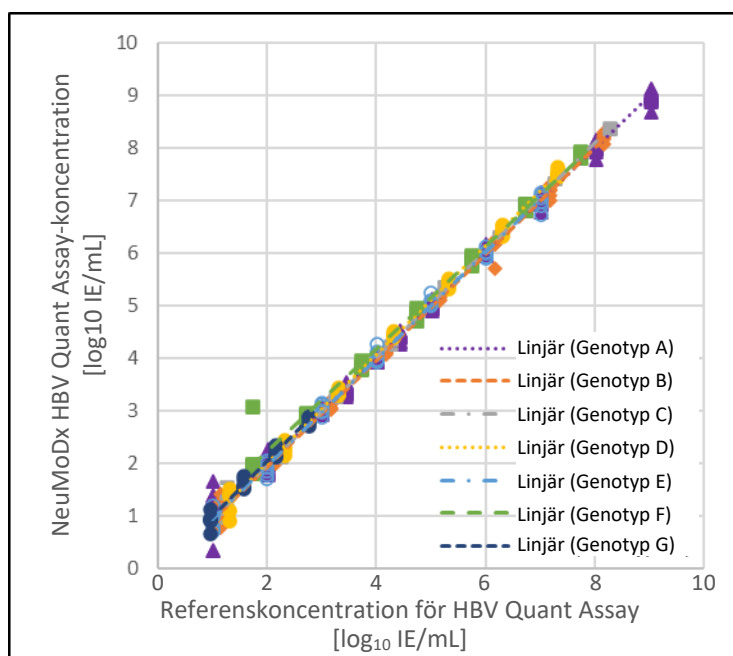
**Bild 5:** Linjär relation mellan förväntade och NeuMoDx-rapporterade koncentrationer för arbetsflödet med 200 µL i a) Plasma och b) serum

### Linjäritet över genotyper

Linjäriteten hos NeuMoDx HBV Quant Assay i plasmaprover för HBV-genotyperna bestämdes genom att testa minst fyra (4) olika koncentrationer av varje genotyp av HBV preparerade i poolad HBV-negativ plasma. De HBV-målnivåer som testades i den här studien var beroende av koncentrationen av källprovet och skilde sig därmed mellan genotyper. I studien använde varje genotyp sex replikat på varje nivå. Linearitet för HBV-genotyperna presenteras i tabell 6 och bild 6.

**Tabell 6:** Linjäritet hos NeuMoDx HBV Quant Assay över genotyper

Genotyp	Linjäritetsekvation y = NeuMoDx HBV Quant Assay-kvantifiering x = Förväntat kvantifiering	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


**Bild 6:** Linjäritet hos NeuMoDx HBV Quant Assay över genotyper

### Analytisk specificitet och korsreaktivitet

Analytisk specificitet demonstrerades genom screening av 32 organismer som kan finnas i blod- och plasmaprover och prover som fylogenetiskt liknar HBV i korsreaktivitetssyfte. Organismerna förbereddes i pooler på 4 till 6 organismer vardera och testades i en hög koncentration. Det testade organismerna visas i *tabell 7*. Ingen korsreaktivitet observerades med någon av de testade organismerna vilket bekräftar 100 % analytisk specificitet för NeuMoDx HBV Quant Assay.

**Tabell 7:** Patogener som används för att demonstrera analytisk specificitet – Korsreaktivitet

Adenovirus 2	Dengue V1	Hepatit A	HPV 16	Ilheus (ILHV)	Gula febern
Adenovirus 5	Dengue V2	Hepatit C	HPV 18	Influensa A	Zikavirus
Banzivirus	Dengue V3	Humant herpesvirus 6a	HSV1	Parvo B19	
BK-virus	Dengue V4	Humant herpesvirus 8	HSV 2	Rubella	
Cytomegalovirus	Epstein Barr-virus	HIV 1	HTLV 1	Saint Louis-encefalit	
VZV	Vaccinia-virus	HIV 2	HTLV 2	West Nile-virus	

**Störande ämnen – kommensala organismer**

NeuMoDx HBV Quant Assay utvärderades för interferens vid närvaro av icke-målorganismer med hjälp av samma organismpooler som förberetts för test av analytisk specificitet. Organismerna testades antingen individuellt eller poolades i grupper med 4–6 organismer i screenad HBV-negativ plasma och spetsades med HBV-kontroller vid en koncentration på 3,7 log<sub>10</sub> IE/mL. Ingen betydande interferens observerades i närvaron av de här organismerna vilket visas av den minimala avvikelserna i kvantifiering från kontrollproverna utan interfererande agent [tabell 8].

**Tabell 8: Interferenstest – kommensala organismer**

Icke-målorganismer	Snittkonc. (log <sub>10</sub> IE/mL)	Bias (log <sub>10</sub> IE/mL)
Grupp 1 [BK-virus, cytomegalovirus, Epstein Barr-virus, humant herpesvirus 6a, humant herpesvirus 8]	3,51	0,10
Grupp 2 [adenovirus 2, adenovirus 5, dengue V2, dengue V3, dengue V4]	3,38	0,22
Grupp 3 [parvo B19, HTLV 1, HTLV 2, Ilheus (ILHV), gula febern, zikavirus]	3,62	0,06
Grupp 4 [HPV 16, HPV 18, HSV 1, HSV 2, dengue V1]	3,57	0,04
Grupp 5 [St. Louis encefalit, VZV, vaccinia-virus, West Nile-virus]	3,57	0,03
HAV	3,58	0,05
Banzivirus	3,41	0,19
HIV-1	3,47	0,15
HIV-2	3,56	0,05
Rubella	3,16	0,44
Influenza A	3,60	0,03
HCV	3,58	0,04

**Interfererande ämnen – endogena och exogena ämnen**

NeuMoDx HBV Quant Test Strip utvärderades vid närvaro av typiska exogena och endogena interfererande substanser som påträffas i HBV-kliniska plasmaprover. Det inkluderade onormalt höga nivåer av blodkomponenter samt vanliga antivirala läkemedel, vilka klassificerats i *tabell 9*. Alla endogena och exogena ämnen som förtecknas nedan i *tabell 10* tillsattes till screenad HBV-negativ human plasma som spetsats med  $3,7 \log_{10}$  IE/mL HBV och dessa data granskades för interferens. Dessutom interferenstestades plasma som smittats med vanliga sjukdomar kopplade till infektion med hepatit B.

**Tabell 9:** Interferenstestning – exogena ämnen (läkemedelsklassificeringar)

Pool	Läkemedel	Klassificering
1	Zidovudin (ZDV)	Omvända transkriptashämmare
	Saquinavir	HIV-proteashämmare
	Ritonavir	HIV-proteashämmare
	Clarithromycin	Antibiotika
	Interferon alfa-2a	Immunmodulator
	Interferon alfa-2b	Immunmodulator
2	Abacavir sulfate	Omvända transkriptashämmare
	Amprenavir	Proteashämmare
	Ribavirin	Immunmodulator
	Entecavir	Antiviral HBV
	Fluoxetine	SSRI antidepressiv
	Valganciklovirhydroklorid	Antiviral
3	Tenofovir disoproxil	Antiviral HBV/HIV
	Lamivudine	Antiviral HBV/HIV
	Ganciklovir	Antiviral CMV
	Valganciclovir	Antiviral CMV
	Nevirapine	Omvända transkriptashämmare
4	Efavirenz	Omvända transkriptashämmare
	Lopinavir	Proteashämmare
	Enfuvirtide	HIV Fusion Inhibitor
	Ciprofloxacin	Antibiotika
	Paroxetine	SSRI antidepressiv
5	Adefovir (dipivoxil)	Antiviral
	Azithromycin	Antibiotika
	Indinavir sulfate	HIV-proteashämmare
	Sertraline	SSRI antidepressiv

**Tabell 10:** Interferenstestning – exogena och endogena medel

Endogena	Snittkonc. (log <sub>10</sub> IE/mL)	Bias (log <sub>10</sub> IE/mL)
Hemoglobin	3,50	0,20
Triglycerider	3,51	0,09
Bilirubin	3,56	0,13
Albumin	3,51	0,17
Exogena (läkemedel)	Snittkonc. (log <sub>10</sub> IE/mL)	Bias (log <sub>10</sub> IE/mL)
Pool 1: Zidovudine (ZDV), Saquinavir, Ritonavir, Clarithromycin, Interferon alfa-2a, Interferon alfa-2b	3,58	0,08
Pool 2: Abacavir sulfate, Amprenavir, Ribavirin, Entecavir, Fluoxetine, Valacyclovirhydroklorid	3,56	0,04
Pool 3: Tenofovir disoproxil, Lamivudine, Ganciclovir, Valganciclovir, Nevirapine	3,59	0,06
Pool 4: Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtide, Ciprofloxacin, Paroxetine,	3,60	0,07
Pool 5: Adefovir (dipivoxil), Azithromycin, Indinavir sulfate, Sertraline	3,56	0,19
Sjukdomstillstånd	Snittkonc. (log <sub>10</sub> IE/mL)	Bias (log <sub>10</sub> IE/mL)
Antinukleär antikropp (Antinuclear Antibody, ANA)	3,61	0,10
Systemic Lupus Erythematosus (SLE)	3,63	0,10
Reumatoid artrit (RA)	3,57	0,09
HCV-antikroppar	3,58	0,07
HBV-antikroppar	3,64	0,11
Alkoholcirros	3,68	0,15
Reumatoidfaktor (RF)	3,63	0,10
Alkoholfri steatohepatit (NASH)	3,49	0,06

**Precision inom labbet**

Precision för NeuMoDx HBV Quant Test Strip fastställdes genom att testa en 8-medlemspanel med HBV-prover som omfattar genotyperna A och C med tre NeuMoDx System över 12 dagar. Precisionerna inom körning, inom dag och inom system karakteriserades och den övergripande standardavvikelsen fastställdes till  $\leq 0,22 \log_{10}$  IE/mL. Precisionen mellan användare beräknades inte eftersom inte användaren spelar någon tydlig roll i bearbetningen av prover med NeuMoDx System. Resultat för precision inom labbet visas i *tabell 11*.

**Tabell 11:** Resultaten för precision inom labbet

PANELMEDLEM	MÅLKONC. [Log <sub>10</sub> IE/mL]	MEDELKONC. [Log <sub>10</sub> IE/mL]	N	Bias	SD inom körning	SD inom dag	SD inom system	Övergripande SD
Genotyp 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
Genotyp 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



### Reproducerbarhet lot till lot

Reproducerbarhet från lot till lot för NeuMoDx HBV Quant Test Strip bestämdes med tre olika loter av nyckelreagenser - NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plate och NeuMoDx HBV Quant Test Strip. En 8-medlemspanel av HBV-genotyperna A och C användes för att bedöma prestandan. Testen utfördes med de tre reagensloterna på tre NeuMoDx Systems över 6 dagar. Variationen inom och mellan loter analyserades. Maximal övergripande bias var 0,12 log<sub>10</sub> IE/mL och maximal övergripande standardavvikelse var 0,24 log<sub>10</sub> IE/mL. Inga signifikanta skillnader påträffades i prestandan mellan loter eftersom kvantifiering av alla panelmedlemmar var inom toleransspecifikationen. Resultat för reproducerbarhet från lot till lot presenteras nedan i *tabell 12*.

Tabell 12: Studieresultat av reproducerbarhet från lot till lot

PANELMEDLE M	MÅLKONC. [log <sub>10</sub> IE/mL]	MEDELKONC. [log <sub>10</sub> IE/mL]	N	Bias	Inom LOT SD	Mellan LOTER SD	Övergripande SD
Genotyp 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
Genotyp 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

### Kontrolleffektivitet

Effektiviteten hos SPC1 som ingår i NeuMoDx HBV Quant Assay för att rapportera eventuella processtegsfel eller -hämningar som påverkar prestandan hos NeuMoDx HBV Quant Assay bedömdes med hjälp av två vanliga HBV-genotyper (A och C). Förutsättningarna som testades är representativa för kritiska processtegsfel som kan uppstå vid probbearbetning och som *eventuellt inte detekteras* av sensorerna som övervakar prestandan för NeuMoDx System. Effektiviteten hos SPC1 utvärderades genom att simulera sådana feltillstånd. Ineffektiviteter hos processen som hade en negativ inverkan på detektion/-kvantifiering av HBV speglades av prestandan för SPC1-målet (förekomst av hämmare och låg tvättnivå). För förhållanden där SPC1-amplifieringen inte påverkades visade det sig också att HBV-målet amplifierades inom en rapporterad kvantifiering på 0,2 log<sub>10</sub> IE/mL för kontrollproverna.

Tabell 13: Effektivitet hos provprocesskontrollen

Testat processtegfel	Status för processkontrollamplifiering för prov	Status för HBV- målamplifiering	Analysresultat
Presence of Inhibitor (Närvaro av hämmare)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Unresolved (Olöst)
No Wash Delivered (Ingen sköljning tillförd)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Unresolved (Olöst)
No Wash Blowout (Ingen Wash-utblåsning)	Amplified (Amplifierad)	Amplified (Amplifierad)	Positive (Positiv) med kvantifiering inom 0,2 log <sub>10</sub> IE/mL av kontroll

### Korskontaminering

Korskontamineringshastigheten för NeuMoDx HBV Quant Assay fastställdes genom testning av tre uppsättningar HBV-prov med alternerande höggradigt positiva och negativa prover. Totalt omfattade detta testning av 144 replikat av ett normalt, HBV-negativt humant EDTA-plasmaprov och 144 replikat av ett HBV-högnivåprov vid 8,0 log<sub>10</sub> IE/mL. Alla 144 replikaten av det negativa provet rapporterades som negativa, vilket visar förekomsten av ingen korskontaminering under probbearbetning i NeuMoDx System.

### Provmatrisekvivalens

Testning utfördes för att påvisa likvärdiga resultat med plasmaprover som samlats in i både provrör med etylendiamintetraättiksyra (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) och sur citratdextros (acid citrate dextrose, ACD). Dessutom utfördes tester för att påvisa likvärdighet mellan färska och frysta exemplar. Fyrtio enskilda donatorprover från BioIVT samlades in i både EDTA- och ACD-insamlingsrör. Dessa färska prover spetsades med fyra nivåer av HBV-genotyp A eller C och ekvivalenstestades. Därefter frystes proverna i minst 24 timmar, tinades och testades om. Utmärkt ekvivalens påvisades mellan färska och frysta exemplar och EDTA- och ACD-prover genom regressionsanalys.

**Tabell 14:** Regressionsanalys av provekvivalensresultat

Parameter (godkännandekriterier)	Färskt jämfört med fryst	ACD jämfört med K2EDTA
Lutning [0,9–1,1]	1,002	0,996
Intercept [< 0,5]	-0,031	0,018
Bestämningkoefficient [ $R^2 > 0,95$ ]	0,995	0,993

Ytterligare test utfördes för att påvisa likvärdighet för prestandan hos NeuMoDx HBV Quant Assay på primära prover kontra sekundära provrör. Paneler med HBV-negativa donatorprover som spetsats med HBV-målet (AccuPlex™ HBV-kontroll) bearbetades först från de primära provrören. Den återstående plasman alikvoterades från varje prov till ett sekundärt provrör och ombearbetades. Ingen signifikant skillnad påträffades i rapporterade resultat mellan bearbetningen av de primära och sekundära provrören.

Ekvivalensen för NeuMoDx HBV Quant Assay i färska kontra frysta serumprover utvärderades också med hjälp av en panel med individuella färska serumprover från givare som spetsats med HBV vid koncentrationer som sträcker sig över det linjära intervallet för analysen. Efter bearbetning av de färska proverna frystes serumproverna i minst 24 timmar vid  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Därefter tinades och omtestades de frysta proverna. Linjär ekvivalens mellan identiska färska och frysta prover utvärderades med både Passing-Bablok och Deming-regressionsanalys. Passing-Bablok-regressionens p-värde på 0,329 (större än 0,05) och Deming-regressionsvärdets korrelationskoefficient på 0,989 visar en utmärkt ekvivalens mellan färska och tinade prover. Bias mellan färskt och fryst tillstånd fastställdes med Bland-Altman med ett extremt försumbart värde på  $-0,002\text{ log}_{10}\text{ IE/mL}$  och bekräftar att bearbetningen av färska och frysta prover är ekvivalent. Slutligen fastställdes korrelationen mellan de systemrapporterade HBV-koncentrationerna och de förväntade koncentrationerna för både färska och frysta prover genom enkel linjär regression med rapporterade  $R^2$ -värden på 0,991 respektive 0,985.

#### Provstabilitet

HBV-negativa EDTA-plasma och serumprover spetsades med  $3,7\text{ log}_{10}\text{ IE/mL}$  HBV och testades vid olika tidpunkter när de förvarades ombord på NeuMoDx System – omedelbart (tid 0), efter 4 timmar, efter 8 timmar och efter 24 timmar. Ingen betydande skillnad i prestanda observerades mellan tidpunkterna, vilket indikerar att ett prov kan laddas i NeuMoDx System i upp till 24 timmar utan att analysprestanda påverkas.

Liknande tester utfördes också med plasma- och serumprover som förvarades i ett laboratoriekylskåp (mellan  $2\text{ och }8\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) i upp till 7 dagar före testningen och ingen betydande skillnad i prestanda observerades.

Slutligen testades prover som förvarats i  $\leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$  i upp till 6 månader (plasma) och upp till 4 månader (serum) före bearbetningen. De uppvisade inte någon betydande skillnad i förhållande till färska prover. Frys-/tiningscykeln upprepades och visade ingen förändring i prestanda efter 2 frys-/tiningcykler (plasma) eller 4 frys-/tiningcykler (serum).

#### Metodkorrelation

##### Plasmaprover

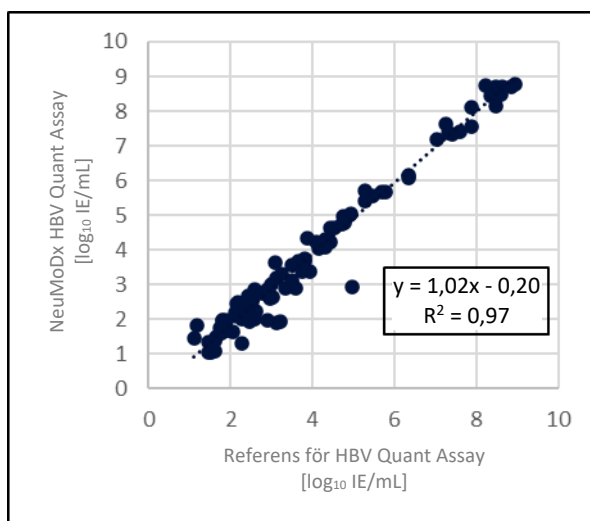
Kvalitativ och kvantitativ prestanda hos NeuMoDx HBV Quant Assay utvärderades mot FDA-/CE-godkända jämförelseanalyser genom att testa ospädda kliniska plasmaprov från HBV-infekterade patienter. Test utfördes internt hos NeuMoDx med en enkelblindad studie som använde kliniska prover som erhöles från tre oberoende referenslaboratorier. Resultaten från sammanlagt 308 HBV-positiva och -negativa prover sammanställdes i den kvalitativa analysen för att beräkna den kliniska känsligheten och specificiteten hos NeuMoDx HBV Quant Assay. Kvalitativ analys utfördes, inklusive och exklusive positiva prov under LLOQ, eftersom klassificeringen av sådana låga prover kan variera mellan olika tester. Totalt 97 HBV-positiva kliniska prover inom det linjära område som är gemensamt för båda testerna användes för att generera den linjära regressionen för att definiera den kvantitativa prestandan. Förutom att ge utmärkt sensitivitet och specificitet uppvisade NeuMoDx HBV Quant Test Strip utmärkt kvantitativ korrelation med jämförelseanalysen. Utifrån dessa resultat uppskattades sensitiviteten hos NeuMoDx HBV Quant Assay till 100 % (KI 96,4 % – 100 %) och specificiteten uppskattades till 95,6 % (KI 91,9 % – 97,7 %). Dessa konfidensintervall på 95 % beräknades med 95 % konfidensintervall enligt EP12-A2, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, Approved Guideline, volym 28, nr 3.<sup>6</sup>

**Tabell 15:** Kliniska känslighets- och specificitetsmått för NeuMoDx HBV Quant Assay for plasmaprover i NeuMoDx 288 Molecular System

	Referensanalys (POS)	Referensanalys (NEG)	TOTALT
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	103	9	112
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
<b>TOTALT</b>	103	205	308
<b>SENSITIVITET = 100 %</b> 95 % KI (96,4 %–100 %) <b>SPECIFICITET = 95,6 %</b> 95 % KI (91,9 %–97,7 %)			

**Tabell 16:** Kliniska sensitivets- och specificitetsmått för NeuMoDx HBV Quant Assay i NeuMoDx 288 Molecular System med plasmaprover < LLOQ undantaget

	Referensanalys (POS)	Referensanalys (NEG)	TOTALT
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	99	5	104
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
<b>TOTALT</b>	99	201	300
<b>SENSITIVITET = 100 %</b> 95 % KI (96,3 %–100 %) <b>SPECIFICITET = 97,5 %</b> 95 % KI (94,3 %–98,9 %)			



**Bild 7:** Kvantitativ metodkorrelationsstudie med NeuMoDx HBV Quant Assay

Ytterligare test utfördes på NeuMoDx 96 Molecular System med 159 kvarvarande kliniska plasmaprover. I likhet med tidigare tester som utförts på NeuMoDx 288 jämfördes resultaten från NeuMoDx 96 med de resultat som rapporterats av FDA-godkända och/eller CE-märkta analyser som använts av källlaboratorier för vårdstandardtest. Resultat inklusive en sanningstabell med klinisk sensitivitet och specificitet presenteras med 95 % KI i *tabell 17*.

Tabell 17: Sammanfattning av kliniska prestanda – NeuMoDx HBV Quant Assay i NeuMoDx 96 Molecular System

	Referensanalys (POS)	Referensanalys (NEG)	TOTALT
<b>NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)</b>	60	2	62
<b>NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)</b>	1	95	96
<b>TOTALT</b>	61	97	158
<b>SENSITIVITET = 98 % 95 % KI (90 %–100 %)</b> <b>SPECIFICITET = 98 % 95 % KI (92 % – 100 %)</b>			

### Serumprover

Kvantitativ prestanda hos NeuMoDx HBV Quant Assay utvärderades mot FDA-/CE-godkända jämförelseanalyser genom att testa anonymiserade, kvarvarande HBV-positiva serumprov från HBV-infekterade patienter. Sammanlagt 66 kliniska kända HBV-positiva serumprover som erhållits från två oberoende referenslaboratorier testades med NeuMoDx HBV Quant Assay, internt hos NeuMoDx. Av de kända positiva serumprover som testades identifierades 58 som positiva resultat, varav nio (9) resultat låg under LLOQ och över ULOQ för NeuMoDx HBV Quant Assay och/eller referenstestet. Totalt 49 HBV-positiva kliniska prover inom det linjära område som är gemensamt för båda testerna användes för att generera regressionsanalysen för att definiera den kvantitativa prestandan.

Ekvivalens- och restdiagram genererades för att representera korrelationen mellan NeuMoDx HBV Quant Assay-koncentrationerna och referenstestkoncentrationerna för alla prover som testades med regressionsanalysen Deming och Passing-Bablok, såsom visas i bild 8 och 9. Kvaliteten på Deming-regressionsanpassningen illustreras av en lutningskoefficient på 0,99 med 95 % KI (0,93, 1,07) och en skärningspunkt på -0,22 med 95 % KI (-0,56, 0,12), vilket visar att de koncentrationsresultat som erhållits mellan NeuMoDx HBV Quant Assay och referenstesten är mycket korrelerade och med en godtagbar bias. Kvaliteten på den linjära Passing-Bablok-regressionsanpassningen illustreras av en lutningskoefficient på 0,99 med 95 % KI (0,91, 1,06) och en skärningspunkt på -0,25 med 95 % KI (-0,48, 0,06), vilket visar att de koncentrationsresultat som erhållits mellan NeuMoDx HBV Quant Assay och referenstesten är mycket korrelerade och med en godtagbar bias, vilket framgår av tabell 18.

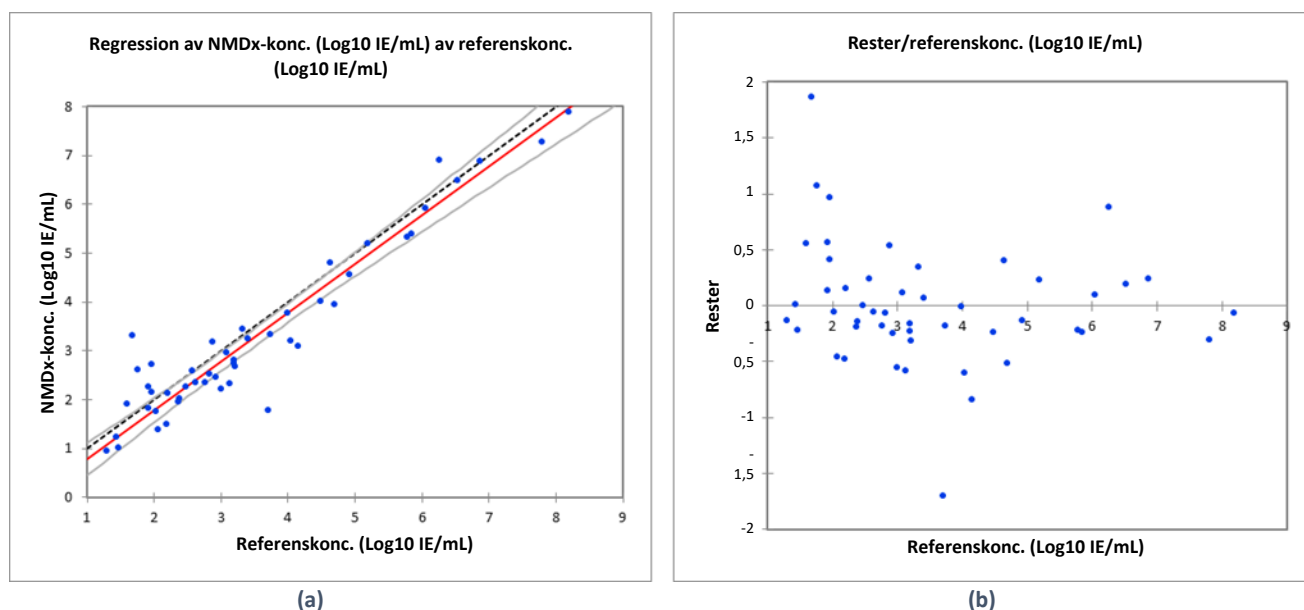
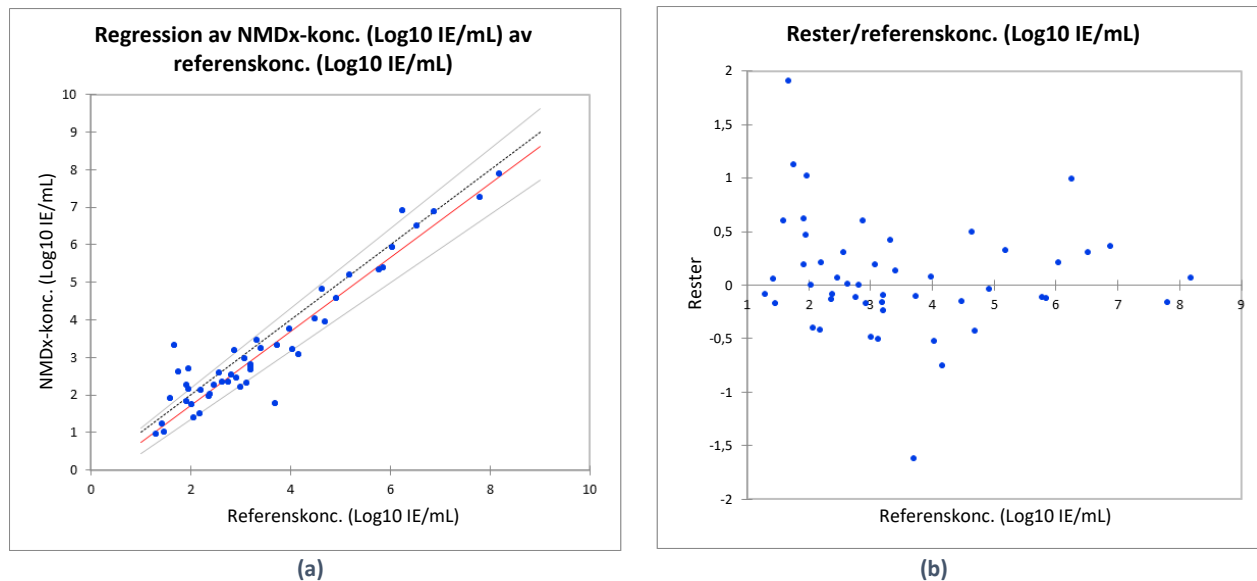


Bild 8: Diagram över ekvivalens (a) och rester (b) – Kumulativ analys av NeuMoDx HBV kontra referenstest – Deming-analys.



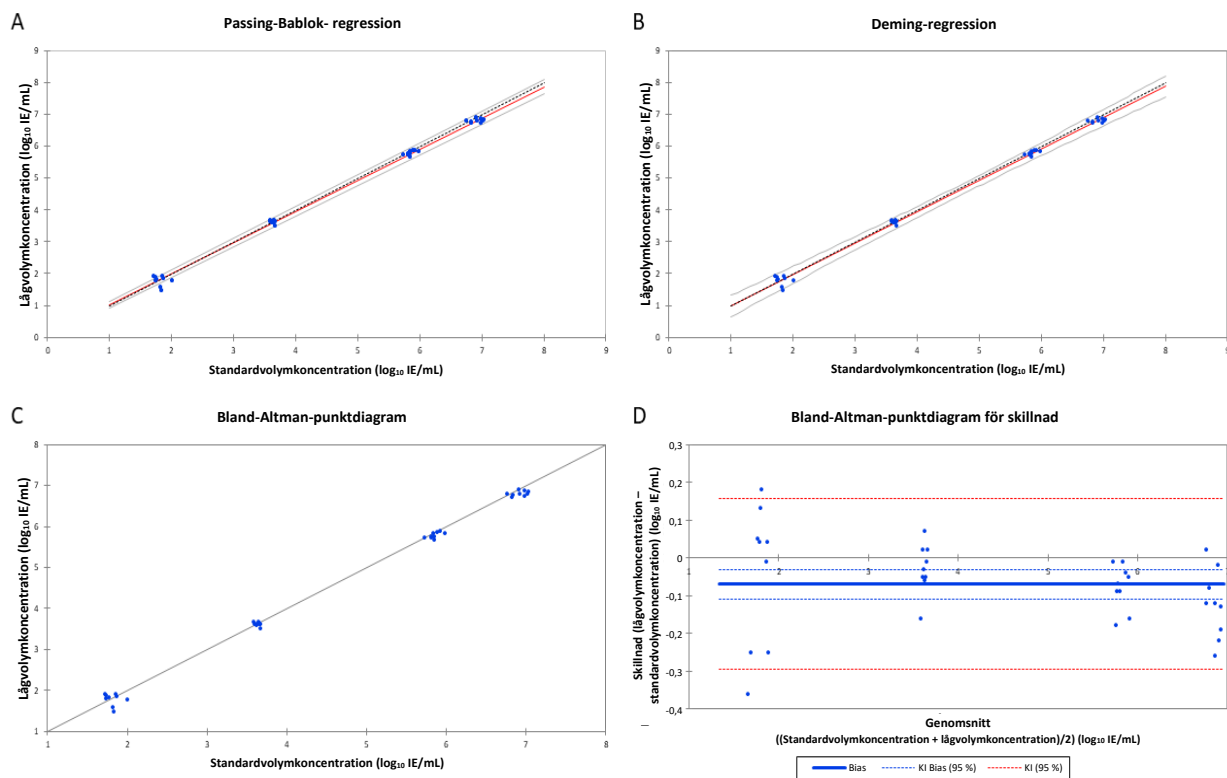
**Bild 9:** Diagram över ekvivalens (a) och rester (b) – Kumulativ analys av NeuMoDx HBV Quant Assay kontra referenstest – Passing-Bablok-analys.

Tabell 18. Sammanfattning av linjär regressionsanalys enligt Deming och Passing-Bablok för serumprover

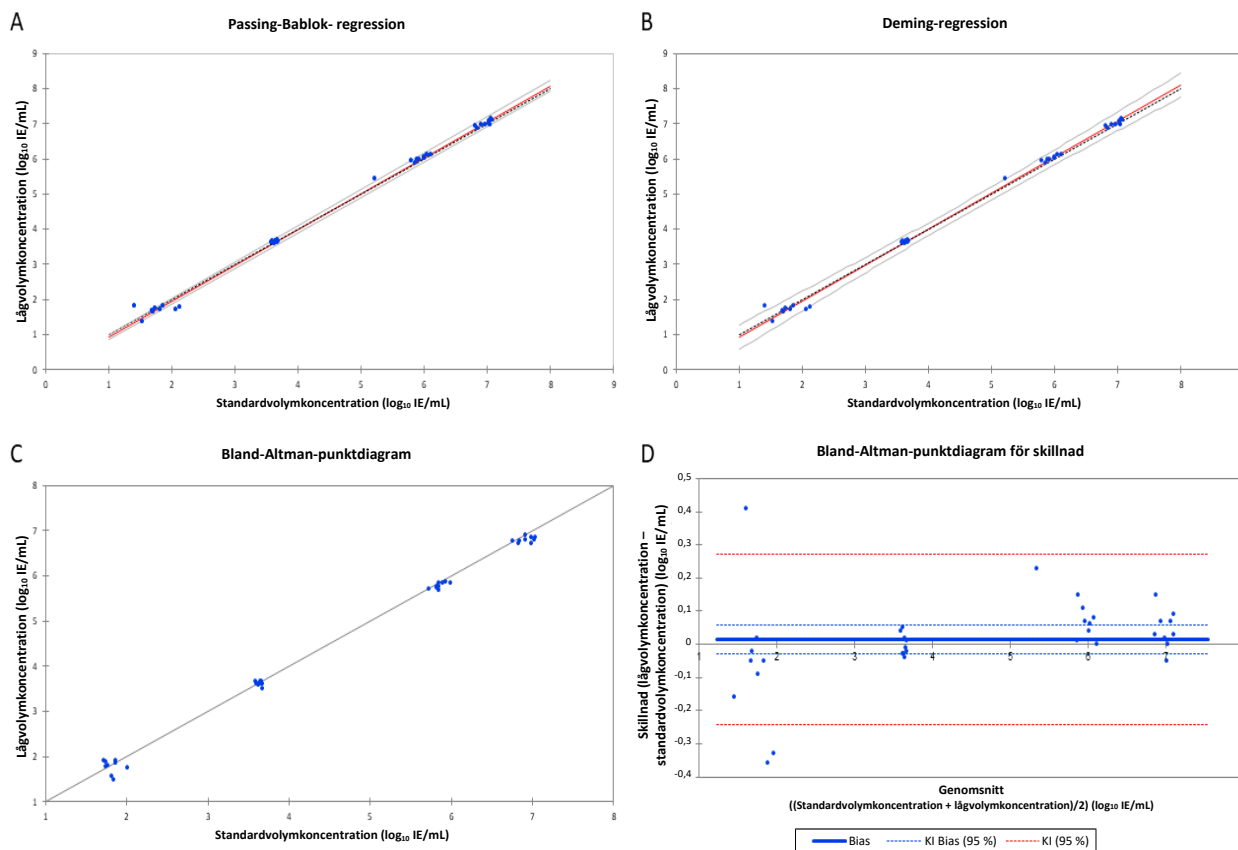
Deming-analys			Passing-Bablok-analys		
Skärningspunkt	Lutningskoefficient	R2	Skärningspunkt	Lutningskoefficient	p-värde
-0,22 95 % KI (-0,56, 0,12)	0,99 95 % KI (0,93, 1,07)	0,95	-0,25 95 % KI (-0,48, 0,06)	0,99 95 % KI (0,91, 1,06)	0,89

### Testning av konstruerade prover – 200 µL provvolymarbetsflöde

Kvantitativ korrelation mellan arbetsflöden med 200 µL och 550 µL provvolym bekräftades med hjälp av en panel bestående av individuella, HBV-negativa plasma- och serumprover som spetsats med fyra kända nivåer av HBV-kontrollmaterial, som kan spåras till WHO:s fjärde internationella standard för HBV DNA för nukleinsyretester. Dessa individuella plasma- och serumprover bearbetades med både 550 µL och 200 µL provvolym vilket sammanlagt gav 288 utförda tester. Ekvivalensjämförelser mellan den koncentration som rapporterades av NeuMoDx Software för arbetsflödena med 200 µL och 550 µL provvolym med den konstruerade panelen utfördes på individuell provbasis. Deming och Passing-Bablok regressionsanalysen hade en lutning på 0,985 respektive 0,998 med intercept på -0,001 respektive 0,053 i plasma respektive 1,024 och 1,018 med intercept på 0,095 och 0,070 i serum, vilket visar utmärkt överensstämmelse mellan HBV-kvantiteterna hos de två bearbetningsvolymerna. En Bland-Altman-jämförelse visade minimal bias mellan de två arbetsflödena. Dessutom hade enkla linjära regressionsanalyser med förväntad koncentration och den rapporterade koncentrationen för arbetsflödet med 200 µL en lutning på 1,047 och en korrelationskoefficient på 0,998 (plasma) och 1,113 och 0,992 (serum), vilket ytterligare gav utmärkt prestanda med användning av arbetsflödet med 200 µL provvolym för NeuMoDx HBV Quant Assay. Resultaten från dessa studier sammanfattas nedan i *bild 10* och *bild 11*.



**Bild 10:** Ekvivalenspunktdiagram som jämför lågvolymskoncentrationer med standardvolymskoncentrationer. A) Passing-Bablok- regression. B) Deming-regression. C) Bland-Altman-punktdiagram D) Bland-Altman-skillnadsdiagram – Plasmaprover



**Bild 11:** Ekvivalenspunktdiagram som jämför lågvolymskoncentrationer med standardvolymskoncentrationer. A) Passing-Bablok-regression. B) Deming-regression. C) Bland-Altman-punktdiagram D) Bland-Altman-skillnadsdiagram – Serumprover

### REFERENSER

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.

### VARUMÄRKEN

NeuMoDx™ är ett varumärke som tillhör NeuMoDx Molecular, Inc.  
 NeuDry™ är ett varumärke som tillhör NeuMoDx Molecular, Inc.  
 TaqMan® är ett registrerat varumärke som tillhör Roche Molecular Systems, Inc.

Alla andra produktnamn, varumärken och registrerade varumärken som förekommer i detta dokument tillhör sina respektive ägare.

### SYMBOLNYCKEL

**R only** Enbart med recept

 Tillverkare


**IVD** *In vitro*-diagnostisk medicinteknisk produkt


**EC REP** Auktoriserad representant i europeiska gemenskapen


**REF** Katalognummer


**LOT** Batchkod


 Utgångsdatum

 Temperaturbegränsning

 Får ej återanvändas

 Innehållet räcker till <n> tester

 Läs bruksanvisningen

 Iakttag försiktighet

 Biologiska risker

**CE** CE-märkning



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  
Australien



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

**CE** 2797

Teknisk support/Vaksamhetsrapportering: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

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