

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

**R only**

UZMANĪBU! Tikai ASV eksportam

**IVD** Lietošanai *in vitro* diagnostikā sistēmās NeuMoDx 288 un NeuMoDx 96 Molecular Systems

*leiktņa atjauninājumus skatiet vietnē: [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)*
*Detalizētus norādījumus skatiet NeuMoDx 288 Molecular System operatora rokasgrāmatā; daļas Nr. 40600108*
*Detalizētus norādījumus skatiet NeuMoDx 96 Molecular System operatora rokasgrāmatā; daļas Nr. 40600317*

### PAREDZĒTĀ LIETOŠANA

NeuMoDx HBV Quant Assay ir automatizēts, *in vitro* nukleīnskābes amplifikācijas tests B hepatīta vīrusa (HBV) DNS kvantitatīvai noteikšanai cilvēka plazmas un seruma parauga materiālos, lai cilvēkiem, kas inficējušies ar HBV, noteiktu HBV genotipus no A līdz H. NeuMoDx HBV Quant Assay, ar ko veic testēšanu sistēmā NeuMoDx 288 Molecular System un sistēmā NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(-s)), ietver automatizētu DNS ekstrahēšanu, lai no parauga materiāla izolētu mērķa nukleīnskābi, un reāllaika polimerāzes ķēdes reakciju (kPQR), lai mērķētu uz ļoti labi saglabātajām sekvencēm B hepatīta vīrusa genomā.

NeuMoDx HBV Quant Assay ir paredzēts izmantot kā palīg līdzekli pacientu ar HBV infekcijām ārstēšanā. NeuMoDx HBV Quant Assay rezultāti ir jāinterpretē kontekstā ar visām attiecīgajām klīniskajām un laboratoriskajām atradēm. NeuMoDx HBV Quant Assay nav paredzēts izmantot kā asins vai asins pagatavošanu skrīninga testu vai kā diagnostisku rīku HBV infekcijas klīniskā statusa diagnosticēšanai.

### KOPSAVLUKUMS UN SKAIDROJUMS

Cilvēka pilnasinis, kas paņemtas sterilis asins paņemšanas stobriņos, kuros kā pretsārcēšanas līdzekļi ir etilēndiamintetraetiķskābe (EDTA) vai skābes-citrāta-dekstrozes šķīdums (acid citrate-dextrose, ACD), vai plazmas sagatavošanas stobriņos (plasma preparation tubes, PPT), var izmantot plazmas sagatavošanai, bet serums jāpaņem seruma paņemšanas stobriņos vai atdalīšanas stobriņos (serum separation tube, SST). Sagatavojot testēšanai, plazmu vai serumu sekundārajā parauga materiāla stobriņā vai frakcionētas asinis primārajā parauga materiāla stobriņā, kas sader ar NeuMoDx System, ievieto sistēmā NeuMoDx System, izmantojot tam īpaši paredzētu parauga materiālu stobriņu turētāju. Katra plazmas vai seruma parauga materiāla alikvoto daļu sajauc ar NeuMoDx Lysis Buffer 1, un NeuMoDx System automātiski veic visas darbības, kas nepieciešamas, lai ekstrahētu mērķa nukleīnskābi, sagatavotu izolēto DNS reāllaika PQR amplifikācijai un amplificētu un noteiktu amplifikācijas produktus, ja tādi ir (HBV genoma mērķa daļas ļoti labi saglabātajā reģionā, kas kodē *X proteīnu* un *preC proteīnu*). NeuMoDx HBV Quant Assay ietver DNS paraugu apstrādes kontrolmateriālu (Sample Process Control, SPC1), lai palīdzētu uzraudzīt iespējamu inhibitorvielu klātbūtni, kā arī NeuMoDx System vai reaģentu kļūdas, kas var rasties ekstrahēšanas un amplifikācijas procesu laikā.

B hepatīta vīruss (HBV) ir B hepatīta aknu infekcijas izraisītājs un veselības problēma visā pasaulē. B hepatīts var izraisīt akūtu hepatītu vai progresēt līdz hroniskam stāvoklim, izraisot cirozi vai aknu vēzi. Hroniska stāvokļa attīstības risks ir saistīts galvenokārt ar vecumu; ja vīruss tiek pārnestis dzemdību laikā, iespējamība, ka attīstīsies hronisks stāvoklis, ir >90%, bet pieaugušajam inficēšanās gadījumā iespējamība, ka attīstīsies hronisks stāvoklis, ir 2–6%.<sup>1</sup> HBV pārnes, asinīm saskaroties ar inficētas personas asinīm, seksuālas transmisijas ceļā, i. v. narkotikas ievadot ar to pašu adatu, ko lietojusi inficēta persona, vai vertikālas transmisijas no mātes bērnam ceļā dzemdību laikā. Amerikas Savienotās Valstīs aptuveni 850 000 cilvēku dzīvo ar HBV infekciju, vairākums jaunu infekciju rodas seksuālas transmisijas ceļā vai lietojot injicējamās narkotikas.<sup>2</sup> Zināms, ka Āfrikā un Klusā okeāna rietumu daļā ir inficēti 5% populācijas. 2015. gadā visā pasaulē HBV infekcija izraisīja 885 000 nāves gadījumu, kuru cēlonis bija galvenokārt ciroze vai hepatocelulāra karcinoma.<sup>3</sup> Ir vakcīna, kuras efektivitāte HBV infekcijas novēršanā ir 95%, tādējādi katru gadu diagnosticē zivien mazāk gadījumu.<sup>4</sup>

Pašreizējais aprūpes standarts HBV infekcijas ārstēšanai ir pretvīrusu terapija, kas ir pastāvīgi jāuzrauga, lai ārstēšanas virzība atbilstu vēlamajai. Ārstēšanas uzraudzīšana, izmantojot NeuMoDx HBV Quant Assay, ārstiem var sniegt nepieciešamo informāciju, palīdzot pacientu ar HBV infekcijām ārstēšanā.

### PROCEDŪRAS PRINCIPI

NeuMoDx HBV Quant Assay apvieno automatizētu DNS ekstrahēšanu, amplifikāciju un noteikšanu, izmantojot reāllaika PQR. Pilnasiņu parauga materiālus paņem EDTA, ACD vai PPT stobriņos plazmas sagatavošanai un/vai SST stobriņos seruma sagatavošanai. Primāro (frakcionētu) asins parauga materiālu vai plazmas/seruma alikvoto daļu saderīgā sekundārajā parauga materiālu stobriņā marķē ar svītrkoda uzlīmi un ievieto sistēmā NeuMoDx System. NeuMoDx System automātiski aspirē plazmas/seruma alikvoto daļu, kas sajaucama ar NeuMoDx Lysis Buffer 1 un platē NeuMoDx Extraction Plate esošajiem līdzekļiem, lai sāktu apstrādi. NeuMoDx System automatizē un integrē DNS ekstrahēšanu un koncentrāciju, reaģenta sagatavošanu un nukleīnskābes mērķa sekvenču amplifikāciju/noteikšanu, izmantojot reāllaika PQR. Iekļautais paraugu apstrādes kontrolmateriāls (Sample Process Control, SPC1) palīdz uzraudzīt inhibitorvielu klātbūtni un sistēmas, apstrādes vai reaģentu kļūdas. Pēc parauga materiāla ievietošanas sistēmā NeuMoDx System operatoram vairs nav jāiesaistās.

NeuMoDx System izmanto siltuma, lizējoša enzīma un ekstrahēšanas reaģentu kombināciju, lai automātiski lizētu, ekstrahētu DNS un likvidētu inhibitorus. Paramagnētiskās daļiņas piesaista atbrīvojušās nukleīnskābes. Daļiņas ar piesaistīto nukleīnskābi ievieto kasetnē NeuMoDx Cartridge, kur nesaistītos elementus aizskalo ar NeuMoDx Wash Reagent. Pēc tam saistīto DNS eluē, izmantojot NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx System izmanto eluēto DNS, lai rehidratētu patentētos NeuDry™ amplifikācijas reaģentus, kas satur visus elementus, kuri ir nepieciešami HBV un SPC1 mērķa amplifikācijai. Tādējādi iespējama gan mērķa, gan kontroles DNS sekvenču vienlaicīga amplifikācija un noteikšana. Kad sausie PQR reaģenti ir izšķīdināti, sagatavoto PQR maisījumu NeuMoDx System iepilda vienā no NeuMoDx Cartridge PQR kamerām (atbilstoši parauga materiālam). Kontroles un mērķa DNS sekvenču (ja tādas ir) amplifikācija un noteikšana notiek PQR kamerā. Kasetnē NeuMoDx Cartridge ir paredzēts ietvert amplikonu pēc PQR, būtībā novēršot piesārņošanas risku pēc amplifikācijas.

Amplificētos mērķus nosaka reāllaikā, izmantojot hidrolīzes zondes ķīmiju (ko parasti sauc par TaqMan® ķīmiju) ar fluorogēnās oligonukleotīdu zondes molekulām, kas ir specifiskas to attiecīgo mērķu amplikoniem. TaqMan zondes satur fluoroforu, kas kovalenti saistīts ar oligonukleotīda zondes 5' galu, un dzēsēju 3' galā. Kamēr zonde ir nesakārtota, fluorofors un dzēsējs ir tuvu viens otram, tāpēc dzēsēja molekula var apslāpēt fluorofora izstaroto fluorescenci Fērstera rezonanses enerģijas pārnese Fērstera rezonanses enerģijas pārnese (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) ceļā.

TaqMan zondēm paredzēts piesaistīties DNS reģionā, kas amplificēts ar īpašu praimeru kopumu. Taq DNS polimerāzei pagarinot praimeru un sintezējot jauno pavedienu, Taq DNS polimerāzes 5'–3' eksonukleāzes aktivitāte noārda zondi, kas ir piesaistījusies pie matricē. Zondei noārdoties, atbrīvojas fluorofors, un tā vairs nav tuvu dzēsējam, tādējādi FRET dēļ zūd dzēsēšanas efekts un ir iespējams noteikt fluoroforu. Iegūtais fluorescences signāls, kas noteikts NeuMoDx System kvantitatīvās PĶR amplifikatorā, ir tieši proporcionāls atbrīvotajam fluoroforam, un to var saistīt ar esošā mērķa daudzumu.

TaqMan zondi, kas ir iezīmēta ar fluoroforu (ierosme: 490 nm un izstarošana: 521 nm) 5' galā un tumšu dzēsēju 3' galā, izmanto HBV DNS noteikšanai. SPC1 noteikšanai TaqMan zonde ir iezīmēta ar citu fluorescentu krāsvielu (ierosme: 535 nm un izstarošana: 556 nm) 5' galā un tumšu dzēsēju 3' galā. NeuMoDx System programmatūra uzrauga fluorescences signālu, ko katra amplifikācijas cikla beigās izstaro TaqMan zondes. Kad amplifikācija pabeigta, NeuMoDx System programmatūra analizē datus un ziņo galīgo rezultātu (POSITIVE (Pozitīvs)/NEGATIVE (Negatīvs)/INDETERMINATE (Neskaidrs)/UNRESOLVED (Neatrisināts)/NO RESULT (Nav rezultāta)). Ja rezultāts ir pozitīvs un aprēķinātā koncentrācija atbilst kvantitatīvās noteikšanas robežvērtībām, NeuMoDx System programmatūra sniedz arī ar paraugu saistīto kvantitatīvo vērtību.

### REAĢENTI/PALĪGMATERIĀLI

#### Nodrošinātais materiāls

ATS	Saturs	Vienības iepakojumā	Testi vienībā	Testi iepakojumā
201300	<b>NeuMoDx HBV Quant Test Strip</b> <i>Sausie PĶR reaģenti, kas satur HBV un SPC1 specifisku TaqMan zondi un praimerus</i>	6	16	96

#### Nepieciešamie materiāli, kas jāiegādājas atsevišķi (iegādājami atsevišķi no NeuMoDx)

ATS	Saturs
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Sausas paramagnētiskas daļiņas, lizējošs enzīms un paraugu apstrādes kontrolmateriāli</i>
800100 vai 800102	<b>NeuMoDx HBV Calibrators</b> <i>Vienreizlietojami HBV augšējo un apakšējo vērtību kalibratoru komplekti kalibrācijas līknes derīguma noteikšanai</i>
900101 vai 900102	<b>NeuMoDx HBV External Controls</b> <i>Vienreizlietojami pozitīvu un negatīvu kontrolmateriālu komplekti</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 uzgaļi (300 µl) ar filtriem</b>
235905	<b>Hamilton CO-RE/CO-RE II uzgaļi (1000 µl) ar filtriem</b>

#### Nepieciešamie piederumi

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

### BRĪDINĀJUMI UN PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

- Testa strēmēlīte NeuMoDx HBV Quant Test Strip ir paredzēta lietošanai *in vitro* diagnostikā tikai sistēmās NeuMoDx Systems.
- Reaģentus un palīgmateriālus nedrīkst lietot pēc norādītā derīguma termiņa beigām.
- Reaģentus nedrīkst lietot, ja drošības noslēgs ir saplīsis vai saņemšanas brīdī iepakojums ir bojāts.
- Palīgmateriālus un reaģentus nedrīkst lietot, ja saņemšanas brīdī aizsargmaisīņš ir atvērts vai saplīsis.
- Jābūt pieejamai derīgai testa kalibrācijai (ko ģenerē, apstrādājot augšējo un apakšējo vērtību kalibratorus no NeuMoDx HBV Calibrators), tikai pēc tam var iegūt testu rezultātus klīniskajiem paraugiem.
- NeuMoDx HBV External Controls jāapstrādā ik pēc 24 stundām visu testēšanas laiku ar NeuMoDx HBV Quant Assay.

- Parauga materiāla minimālais tilpums ir atkarīgs no stobriņa lieluma, parauga materiālu turētāja un apstrādājamā parauga materiāla tilpuma, kā norādīts tālāk. Ja tilpums ir mazāks par norādīto minimālo tilpumu, var rasties kļūda "Quantity Not Sufficient" (Daudzums nav pietiekams).
- Ja izmanto parauga materiālus, kas glabāti neatbilstošā temperatūrā, vai pēc norādītā glabāšanas laika, iegūtie rezultāti var būt nederīgi vai kļūdaini.
- Vienmēr jāizvairās no visu reaģentu un palīgmateriālu mikrobioloģiskā un dezoksiribonukleāžu (DNāze) piesārņojuma. Lietojot sekundāros stobriņus, ieteicams izmantot sterilas DNāzi nesaturējošas vienreizlietojamas pārneses pipetes. Katram parauga materiālam jāizmanto jauna pipete.
- Lai izvairītos no piesārņošanas, pēc amplifikācijas nedrīkst rīkoties ar NeuMoDx Cartridge vai to izjaukt. Nekādā gadījumā neizņemt kasetnes NeuMoDx Cartridges no bioloģiski bīstamo atkritumu konteinera (NeuMoDx 288 Molecular System) vai bioloģiski bīstamo atkritumu tvertnes (NeuMoDx 96 Molecular System). Kasetne NeuMoDx Cartridge ir izveidota tā, lai nepieļautu kontamināciju.
- Ja laboratorijā veic arī PQR testus ar atvērtiem stobriņiem, jāuzmanās, lai nepiesārņotu NeuMoDx HBV Quant Test Strip, testēšanai nepieciešamos papildu palīgmateriālus un reaģentus, individuālos aizsardzības līdzekļus, piemēram, cimdus un laboratorijas uzsvārcus, kā arī NeuMoDx System.
- Rīkojoties ar NeuMoDx reaģentiem un palīgmateriāliem, jāvalkā tīri nitrila cimdi bez pulvera. Jāuzmanās, lai nepieskartos NeuMoDx Cartridge augšējai virsmai, NeuMoDx HBV Quant Test Strip un NeuMoDx Extraction Plate folijas noslēgvirsmas vai NeuMoDx Lysis Buffer 1 augšējai virsmai; rīkojoties ar palīgmateriāliem un reaģentiem, drīkst pieskarties tikai sānu virsmām.
- Drošības datu lapas (DDL) katram reaģentam (attiecīgā gadījumā) atrodamas tīmekļa vietnē [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu).
- Pēc testa veikšanas rūpīgi nomazgāt rokas.
- Vietas nedrīkst iesūkt pipetē ar muti. Zonās, kur notiek darbības ar parauga materiāliem vai reaģentiem, nedrīkst smēķēt, dzert vai ēst.
- Ar parauga materiāliem vienmēr jārīkojas tā, it kā tie būtu inficēti, un saskaņā ar drošām laboratorijas procedūrām, piemēram, tām, kas aprakstītas dokumentā *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>5</sup> un CLSI dokumentā M29-A4.<sup>6</sup>
- Neizlietotie reaģenti un atkritumi jālikvidē saskaņā ar valsts, federālajiem, pašvaldības, pavalsts un vietējiem noteikumiem.
- Nelietot atkārtoti.



### PRODUKTA GLABĀŠANA, APIEŠANĀS AR TO UN STABILITĀTE

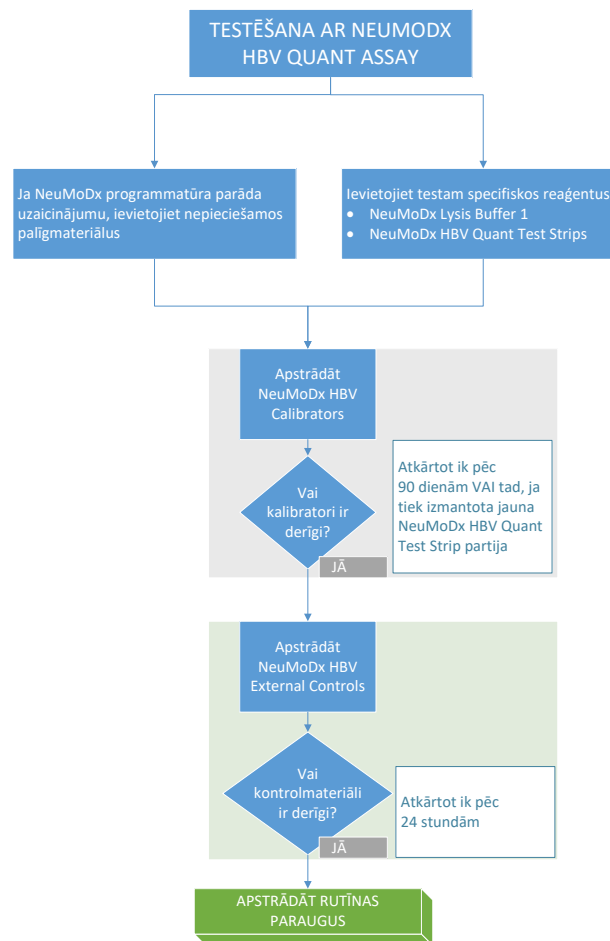
- Primārajā iepakojumā NeuMoDx HBV Quant Test Strips ir stabilas visu derīguma termiņu, kas norādīts uz preparāta tiešās uzlīmes, ja tiek glabātas 4–28 °C temperatūrā.
- Nedrīkst lietot palīgmateriālus un reaģentus, kuru norādītais derīguma termiņš ir beidzies.
- Nevienu testa preparātu nedrīkst lietot, ja ir redzami primārā vai sekundārā iepakojuma bojājumi.
- Nevienu testa produktu, kas iepriekš bijis ievietots citā NeuMoDx System, nedrīkst ievietot atkārtoti.
- Pēc ielādēšanas NeuMoDx HBV Quant Test Strip sistēmā NeuMoDx System var palikt 62 dienas. Programmatūra reāllaikā izseko un ziņo lietotājam par ielādēto testa strēmelišu atlikušo glabāšanas ilgumu. Sistēma parādīs uzaicinājumu izņemt testa strēmeli, kas tiek lietota ilgāk par pieļaujamo periodu.

### PARAUGA MATERIĀLA PAŅEMŠANA, TRANSPORTĒŠANA UN GLABĀŠANA

1. Ar visiem parauga materiāliem, kalibratoriem un kontrolmateriāliem jārīkojas tā, it kā tie varētu pārnest infekcijas izraisītājus.
2. Nedrīkst sasaldēt pilnasinis un nevienu parauga materiālu, ko glabā primārajos stobriņos.
3. Lai sagatavotu plazmas parauga materiālus, pilnasinis jāpaņem sterilos stobriņos, kā antikoagulantus izmantojot EDTA vai ACD. Parauga materiāls jāgatavo un jāglabā atbilstīgi parauga materiāla paņemšanas stobriņa ražotāja norādījumiem.
4. Lai sagatavotu seruma parauga materiālus, pilnasinis jāpaņem SST stobriņos. Parauga materiāls jāgatavo un jāglabā atbilstīgi parauga materiāla paņemšanas stobriņa ražotāja norādījumiem.
5. Parauga materiālus var testēt primārajos paņemšanas stobriņos vai sekundārajos parauga materiālu stobriņos. Ieteicamie stobriņi testēšanai primārajos stobriņos norādīti tālāk.
  - a. Plazmas parauga materiāli: BD Vacutainer® Plus Plastic K<sub>2</sub> EDTA Tube (BD Nr. 368589) vai BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD Nr. 362799).
  - b. Seruma parauga materiāli: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD Nr. 367820) vai BD Vacutainer SST™ Tube (BD Nr. 367988).
6. Sagatavotus parauga materiālus sistēmā NeuMoDx System pirms apstrādes var glabāt līdz 8 stundām – plazmu un līdz 24 stundām – serumu. Ja nepieciešams papildu glabāšanas laiks, parauga materiālus ieteicams atdzesēt vai sasaldēt kā sekundārās alikvotās daļas.
7. Sagatavotie parauga materiāli pirms testēšanas jāglabā 2–8 °C temperatūrā ne ilgāk kā 7 dienas un istabas temperatūrā, plazma – ne ilgāk kā 8 stundas, serums – ne ilgāk kā 24 stundas.

8. Sagatavotos parauga materiālus pirms apstrādes var glabāt  $\leq -20$  °C temperatūrā līdz 4 nedēļām (serumu) vai 6 mēnešiem (plazmu); sasaldētos parauga materiālus pirms lietošanas nedrīkst pakļaut vairāk kā 2 sasaldēšanas/atkausēšanas cikliem (plazmu) vai vairāk kā 4 sasaldēšanas/atkausēšanas cikliem (serumu).
  - a. Ja paraugi ir sasaldēti, jānogaida, līdz paraugi istabas temperatūrā (15–30 °C) pilnībā atkūst, pēc tam jāsamaisa virpuļmikserī, lai iegūtu vienmērīgi izkliedētu paraugu.
  - b. Kad sasaldētie paraugi atkususi, tie jātestē 24 stundu laikā.
  - c. Plazmu/serumu nav ieteicams sasaldēt primārajos paņemšanas stobriņos.
9. Ja parauga materiālus pārvadā, tie jāiesaiņo un jāmarķē saskaņā ar piemērojamiem valsts un/vai starptautiskajiem noteikumiem.
10. Parauga materiāli skaidri jāmarķē, un jānorāda, ka parauga materiāli ir paredzēti HBV testēšanai.
11. Pārejiet pie sadaļas *Testa sagatavošana*.

Vispārīgā gaita, kā notiek testēšana ar NeuMoDx HBV Quant Assay, ir apkopota tālāk šeit: **1. attēls**.



**1. attēls.** Testēšana ar NeuMoDx HBV Quant Assay: darbplūsmā

## LIETOŠANAS INSTRUKCIJA

### Testa sagatavošana

Testēt ar NeuMoDx HBV Quant Assay var tieši no primārajiem asins paņemšanas stobriņiem vai no parauga materiālu alikvotajām daļām sekundārajos stobriņos. Apstrādāt var, izmantojot vienu no divām apstrādājamo parauga materiālu tilpumu darbplūsmām: 550  $\mu$ l parauga materiāla tilpuma darbplūsmu vai 200  $\mu$ l apstrādājamā parauga materiāla darbplūsmu. Ar NeuMoDx System saderīgam parauga materiāla stobriņam uzlīmējiet parauga materiāla svitrkoda uzlīmi.

- Ar NeuMoDx System saderīgā parauga materiāla stobriņam uzlīmējiet parauga materiāla svītrkoda uzlīmi. Pēc centrifugēšanas atbilstoši ražotāja norādījumiem primāro asins paņemšanas stobriņu var marķēt un ievietot tieši 32 parauga materiālu stobriņu turētājā. Plazmas/seruma alikvoto daļu var arī pārnest sekundārajā stobriņā apstrādei sistēmā NeuMoDx System.
- Ja parauga materiālu testē primārajā paņemšanas stobriņā, stobriņu ar svītrkodu ievietojiet parauga materiālu stobriņu turētājā un pirms ievietošanas sistēmā NeuMoDx System noteikti noņemiet vāciņu. Minimālais tilpums **virus** gela/centrifugāta slāņa ir noteikts tālāk, un tas būs atbilstošs, ja parauga materiāli tiks paņemti un apstrādāti saskaņā ar stobriņu ražotāja norādījumiem. Darbības efektivitāte nepareizi paņemtiem parauga materiāliem nav garantēta.

Stobriņa veids	Minimālais nepieciešamais parauga materiāla tilpums	
	550 µl darbplūsma	200 µl darbplūsma
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/serums – 4,0 ml	1050 µl	700 µl
K <sub>2</sub> EDTA/serums – 6,0 ml	1250 µl	900 µl
K <sub>2</sub> EDTA/serums – 10,0 ml	1600 µl	1250 µl

- Ja izmantojat sekundāro stobriņu, plazmas/seruma alikvoto daļu pārnēsiet ar NeuMoDx System saderīgā parauga materiāla stobriņā ar svītrkodu atbilstoši tālāk noteiktajiem tilpumiem.

Parauga materiālu stobriņu turētājs	Stobriņa lielums	Minimālais nepieciešamais parauga materiāla tilpums	
		550 µl darbplūsma	200 µl darbplūsma
<b>32 parauga materiālu stobriņu turētājs</b>	diametrs 11–14 mm, augstums 60–120 mm	700 µl	400 µl
<b>24 parauga materiālu stobriņu turētājs</b>	diametrs 14,5–18 mm, augstums 60–120 mm	1100 µl	800 µl
<b>Low Volume Specimen Tube Carrier (Maza tilpuma parauga materiālu stobriņu turētājs)</b>	1,5 ml mikrocentrifūgas stobriņš ar konisku apakšu	650 µl	300 µl

### Darbs ar NeuMoDx Systems

Detalizētus norādījumus skatiet NeuMoDx 288 un 96 Molecular Systems operatora rokasgrāmatā (daļas Nr. 40600108 un 40600317)

- Atbilstoši vēlamajai apstrādājamā parauga materiāla tilpuma darbplūsmai un parauga materiāla stobriņa veidam ielādējiet testa pasūtījumu sistēmā NeuMoDx System:
  - 550 µl parauga materiāla tilpumu testē, parauga materiāla veidu nosakot kā **“Plasma”** (Plazma) vai **“Serum”** (Serums)
  - 200 µl parauga materiāla tilpumu testē, parauga materiāla veidu nosakot kā **“Plasma2”** (Plazma Nr. 2) vai **“Serum2”** (Serums Nr. 2)
  - Ja testa pasūtījumā nenorāda veidu, pēc noklusējuma tiks izmantots parauga materiāla veids **Plasma** (Plazma) stobriņā **Secondary Tube** (Sekundārais stobriņš)
- Piepildiet vienu vai vairākus turētājus NeuMoDx System Test Strip Carrier ar testa strēmeliņiem NeuMoDx HBV Quant Test Strip un izmantojiet skārienkrānu, lai testa strēmeliņu turētājus ielādētu sistēmā NeuMoDx System.
- Ja NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu, NeuMoDx System palīgmateriālu turētājos ievietojiet nepieciešamos palīgmateriālus un izmantojiet skārienkrānu, lai turētājus ielādētu sistēmā NeuMoDx System.
- Ja NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu un ja vajadzīgs, nomainiet NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, iztukšojiet uzpildes atkritumus, bioloģiski bīstamo atkritumu konteineru (tikai NeuMoDx 288 Molecular System), uzgaļu atkritumu tvertni (tikai NeuMoDx 96 Molecular System) vai bioloģiski bīstamo atkritumu tvertni (tikai NeuMoDx 96 Molecular System).
- Ja NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu, apstrādājiet NeuMoDx HBV Calibrators un/vai NeuMoDx HBV External Controls. Papildinformācija par kalibratoriem un kontrolmateriāliem atrodama sadaļā *Rezultātu apstrāde*.

6. Parauga materiālu/kalibratoru/kontrolmateriālu stobriņus ievietojiet parauga materiālu stobriņu turētājā un visiem stobriņiem noteikti noņemiet vāciņus.
7. Parauga materiālu stobriņu turētājus ievietojiet automātiskās ievietošanas ierīces plauktā un izmantojiet skārienekrānu, lai turētājus ielādētu sistēmā NeuMoDx System. Tādējādi sāksies ielādēto parauga materiālu apstrāde ar norādītajiem testiem, pieņemot, ka sistēmā ir derīgs testa pasūtījums.

### IEROBEŽOJUMI

1. NeuMoDx HBV Quant Test Strip var izmantot tikai ar NeuMoDx Systems.
2. NeuMoDx HBV Quant Test Strip darbības efektivitāte ir noteikta plazmas parauga materiāliem, kas sagatavoti ar EDTA/ACD kā antikoagulantiem, vai seruma parauga materiāliem, kas sagatavoti seruma atdalīšanas stobriņos. NeuMoDx HBV Quant Test Strip lietošana ar citiem avotiem nav novērtēta, un darbības efektivitātes raksturlielumi citu veidu parauga materiāliem nav zināmi.
3. NeuMoDx HBV Quant Test Strip darbības efektivitāte ir noteikta testēšanai primārajos stobriņos, izmantojot BD Vacutainer Plus Plastic K<sub>2</sub> EDTA Tubes, BD PPT Plasma Preparation Tube, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube un BD SST Tube.
4. Izmantojot 200 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu, novērota neliela NeuMoDx HBV Quant Assay noteikšanas robežas un kvantitatīvās noteikšanas apakšējās robežas palielināšanās.
5. NeuMoDx HBV Quant Assay izmanto tikai kvantitatīvās kontroles nolūkiem. To nav paredzēts izmantot kvalitatīvai noteikšanai.
6. NeuMoDx HBV Quant Assay nedrīkst izmantot paraugiem, kas iegūti no heparinizētiem cilvēka paraugiem.
7. HBV noteikšana ir atkarīga no mērķa DNS daļiņu skaita paraugā, tāpēc rezultātu ticamība ir atkarīga no parauga materiālu pareizas paņemšanas, rīcības ar tiem un glabāšanas.
8. Pirms rutīnas klīnisko paraugu apstrādes jāapstrādā NeuMoDx HBV Calibrators un NeuMoDx HBV External Controls, kā ieteikts to lietošanas pamācībā, ja NeuMoDx System programmatūra parāda šādu uzaicinājumu.
9. Kļūdainu rezultātu iemesls var būt parauga materiālu nepareiza paņemšana, rīkošanās ar tiem, glabāšana, tehniska kļūme vai parauga materiālu stobriņu sajaukšana. Vēl kļūdaini negatīvi rezultāti iespējami tad, ja vīrusa daļiņu skaits paraugā ir zem NeuMoDx HBV Quant Assay noteikšanas robežas.
10. Strādāt ar NeuMoDx System drīkst tikai darbinieki, kas ir apguvuši zināšanas par NeuMoDx System lietošanu.
11. Ja gan HBV mērķis, gan SPC1 mērķis neamplificē, tiek ziņots nederīgs rezultāts (Indeterminate (Neskaidrs), No Result (Nav rezultāta) vai Unresolved (Neatrisināts)), un tests ir jāatkārto.
12. Ja NeuMoDx HBV Quant Assay rezultāts ir Positive (Pozitīvs), bet kvantitatīvās noteikšanas vērtība pārsniedz kvantitatīvās noteikšanas robežas, NeuMoDx System ziņo, vai noteiktais HBV ir *zem* kvantitatīvās noteikšanas apakšējās robežas (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) vai *virs* kvantitatīvās noteikšanas augšējās robežas (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
13. Ja noteiktais HBV ir *zem* LLoQ, analīzi var atkārtot (ja vēlams) ar citu parauga materiāla alikvoto daļu.
14. Ja noteiktais HBV ir *virs* ULoQ, NeuMoDx HBV Quant Assay var atkārtot ar sākotnējā parauga materiāla atšķaidītu alikvoto daļu. Ieteicams atšķaidījums attiecībā 1:1000 HBV negatīvā plazmā vai atšķaidītājā Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Sākotnējā parauga materiāla koncentrāciju var aprēķināt šādi:
 
$$\text{sākotnējā parauga materiāla koncentrācija} = \log_{10}(\text{atšķaidījuma koeficients}) + \text{atšķaidītā parauga ziņotā koncentrācija}$$
15. PQR inhibitoru gadījuma rakstura klātbūtne plazmā var izraisīt sistēmas kvantitatīvās noteikšanas kļūdu. Ja tā notiek, testu ieteicams atkārtot ar to pašu parauga materiālu, kas atšķaidīts atšķaidītājā Basematrix attiecībā 1:10 vai 1:100.
16. Pozitīvs rezultāts ne vienmēr liecina par dzīvotspējīgu organismu klātbūtni. Tomēr pozitīva rezultāta gadījumā iespējama B hepatīta vīrusa DNS klātbūtne.
17. Delēcijas vai mutācijas saglabātajos reģionos, uz ko mērķē NeuMoDx HBV Quant Assay, var ietekmēt noteikšanu, vai var iegūt kļūdainu rezultātu, izmantojot NeuMoDx HBV Quant Test Strip.
18. NeuMoDx HBV Quant Assay iegūtie rezultāti jāizmanto kā papildinājums klīniskajiem novērojumiem un citai ārstam pieejamajai informācijai; analīze nav paredzēta infekcijas diagnosticēšanai.
19. Lai novērstu piesārņojumu, ieteicams ievērot labu laboratoriju praksi, tostarp pēc darba ar katra pacienta parauga materiāliem mainīt cimdus.

### REZULTĀTU APSTRĀDE

Pieejamos rezultātus var apskatīt vai izdrukāt cilnē "Results" (Rezultāti), kas atrodama NeuMoDx System skārienekrāna logā Results (Rezultāti). NeuMoDx HBV Quant Assay rezultātus automātiski ģenerē NeuMoDx System programmatūra, izmantojot lēmuma algoritmu un rezultātu apstrādes parametrus, kas norādīti NeuMoDx HBV Quant Assay definīcijas failā (HBV ADF). Ziņotais rezultāts atbilstoši mērķa amplifikācijas statusam un parauga apstrādes kontrolmateriālam var būt šāds: Negative (Negatīvs), Positive (Pozitīvs) ar ziņotu HBV koncentrāciju, Positive (Pozitīvs) virs ULOQ, Positive (Pozitīvs) zem LLoQ, Indeterminate (Neskaidrs) (IND), Unresolved (UNR) (Neatrisināts) vai No Result (Nav rezultāta) (NR). Rezultāti tiek ziņoti, pamatojoties uz ADF lēmuma algoritmu, kas apkopots tālāk šeit: 1. tabula.

1. tabula. HBV Quant Assay lēmuma algoritma kopsavilkums

REZULTĀTS	HBV mērķis	Paraugu apstrādes kontrolmateriāls (SPC1)	Rezultāta interpretēšana
<b>Positive (Pozitīvs) ar ziņotu koncentrāciju</b>	Amplified (Amplificēts) $0,9 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ SV/ml}$ (550 $\mu\text{l}$ darbplūsma) $1,4 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ SV/ml}$ (200 $\mu\text{l}$ darbplūsma)	Amplified (Ir amplificēts) vai Not Amplified (Nav amplificēts)	HBV DNS noteikts kvantitatīvās noteikšanas diapazonā
<b>Positive (Pozitīvs), virs ULOQ</b>	Amplified (Amplificēts) [HBV] $>9,0 \log_{10} \text{ SV/ml}$	Amplified (Ir amplificēts) vai Not Amplified (Nav amplificēts)	HBV DNS noteikts virs kvantitatīvās noteikšanas diapazona
<b>Positive (Pozitīvs), zem LLoQ</b>	Amplified (Amplificēts) [HBV] $<0,9 \log_{10} \text{ SV/ml}$ (550 $\mu\text{l}$ darbplūsma) [HBV] $<1,4 \log_{10} \text{ SV/ml}$ (200 $\mu\text{l}$ darbplūsma)	Amplified (Ir amplificēts) vai Not Amplified (Nav amplificēts)	HBV DNS noteikts zem kvantitatīvās noteikšanas diapazona
<b>Negative (Negatīvs)</b>	Not Amplified (Nav amplificēts)	Amplified (Amplificēts)	HBV DNS nav noteikts
<b>Indeterminate (Neskaidrs)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Nav amplificēts, Konstatēta sistēmas kļūda, Parauga apstrāde pabeigta)		Visi mērķa rezultāti bija nederīgi; paraugu testēt atkārtoti*
<b>No Result (Nav rezultāta)*</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Nav amplificēts, Konstatēta sistēmas kļūda, Parauga apstrāde pārtraukta)		Parauga apstrāde tika pārtraukta; paraugu testēt atkārtoti*
<b>Unresolved (Neatrisināts)</b>	Not Amplified, No System Error Detected (Nav amplificēts, Nav konstatētu sistēmas kļūdu)		Visi mērķa rezultāti bija nederīgi; paraugu testēt atkārtoti*

\* Karodziņš No Result (Nav rezultāta) tiek ziņots tikai NeuMoDx System programmatūras versijā 1.8 un jaunākās versijās

† NeuMoDx System ir aprīkota ar automātiskas atkārtotas apstrādes/atkārtotības iespēju, ko galalietotājs var izvēlēties izmantot, lai IND/UNR/NR rezultāta gadījumā tests tiktu automātiski atkārtoti apstrādāts un tādējādi mazinātu rezultātu ziņošanas aizkavēšanos.

### Testa aprēķini

- Paraugiem, kas atbilst NeuMoDx HBV Quant Assay kvantitatīvās noteikšanas diapazonam, HBV DNS koncentrāciju paraugos aprēķina, izmantojot saglabāto standarta līkni kopā ar kalibrācijas koeficientu un parauga materiāla tilpumu.
  - Kalibrācijas koeficientu aprēķina atbilstīgi rezultātiem, kas iegūti, apstrādājot NeuMoDx HBV Calibrators, lai noteiktu standarta līknes derīgumu konkrētai NeuMoDx HBV Quant Test Strip partijai konkrētā sistēmā NeuMoDx System.
  - Kalibrācijas koeficients ir iekļauts HBV DNS koncentrācijas galīgajā noteikšanā.
  - NeuMoDx Software, nosakot HBV DNS koncentrāciju mililitrā parauga materiāla, nosaka parauga materiāla ievades tilpumu.
- NeuMoDx HBV Quant Assay rezultāti tiek ziņoti mērvienībā  $\log_{10} \text{ SV/ml}$ .
- Nezināmo paraugu iegūtā kvantitatīvā noteikšana ir izsekojama atbilstoši PVO 4. HBV starptautiskajam standartam.

### Testa kalibrēšana

Lai kvantitatīvi noteiktu HBV DNS parauga materiālos, nepieciešama derīga kalibrēšana atbilstīgi standarta līknei. Lai ģenerētu derīgus rezultātus, tests jākalibrē, izmantojot ārējus NeuMoDx Molecular, Inc. piegādātus kalibratorus.

### Kalibratori

- NeuMoDx HBV Calibrators komplekts jāapstrādā ar katru jaunu NeuMoDx HBV Quant Test Strips partiju, ja sistēmā NeuMoDx System augšupielādē jaunu HBV Quant Assay definīcijas failu, ja pašreizējā kalibratoru komplekta derīguma termiņš ir beidzies (pašlaik iestatītas 90 dienas) vai ja tiek modificēta NeuMoDx System programmatūra.
- NeuMoDx System programmatūra lietotāju informēs, kad būs jāapstrādā kalibratori. Jaunu testa strēmeliņu partiju nevarēs izmantot testēšanai, kamēr kalibratori nebūs sekmīgi apstrādāti.



3. Tālāk aprakstīts, kā tiek noteikts kalibrācijas derīgums:
  - a) Lai noteiktu derīgumu, jāapstrādā divu kalibratoru komplekts: viens (1) augšējās un viens (1) apakšējās vērtības kalibrators.
  - b) Vismaz divu (2) atkārtojumu rezultātiem no trim (3) atkārtojumiem jāatbilst iepriekšnoteiktajiem parametriem. Apakšējās vērtības kalibratora nominālais mērķis ir  $3,7 \log_{10} \text{SV/ml}$ , un augšējās vērtības kalibratora nominālais mērķis ir  $5,7 \log_{10} \text{SV/ml}$ .
  - c) Aprēķina kalibrācijas koeficientu, lai ņemtu vērā paredzamās atšķirības starp testa strēmelišu partijām. Šo kalibrācijas koeficientu izmanto galīgās HBV koncentrācijas noteikšanai.
4. Ja viena vai abu kalibratoru derīguma pārbaude ir nesekmīga, atkārtoti apstrādājiet nesekmīgo kalibratoru, izmantojot jaunu flakonu. Ja derīguma pārbaude ir nesekmīga vienam kalibratoram, var atkārtot tikai nesekmīgā kalibratora pārbaudi, jo sistēma neprasa, lai lietotājs vēlreiz analizētu abus kalibratorus.
5. Ja kalibratoru derīguma pārbaude ir nesekmīga vairākas reizes pēc kārtas, sazinieties ar NeuMoDx Molecular, Inc.

### Kvalitātes kontrole

Vietējie noteikumi parasti paredz, ka laboratorija ir atbildīga par kontroles procedūrām, ar ko uzrauga pilna analizēšanas procesa akurātumu un precizitāti, un ka tai, izmantojot apstiprinātas darbības efektivitātes specifiskācijas nepārveidotai apstiprinātai testu sistēmai, jānosaka, cik reizi, kādā veidā un cik bieži jātestē kontrolmateriāli.

### Ārējie kontrolmateriāli

1. Pozitīvi un negatīvi ārējie kontrolmateriāli jāapstrādā ik pēc 24 stundām visu testēšanas laiku ar NeuMoDx HBV Quant Assay. Ja nav derīgu ārējo kontrolmateriālu rezultātu kopas, NeuMoDx System programmatūra parāda uzaicinājumu lietotājam apstrādāt kontrolmateriālus, lai varētu ziņot paraugu rezultātus.
2. Ārējo kontrolmateriālu derīgumu NeuMoDx System novērtē, ņemot vērā paredzamo rezultātu. Ar pozitīvo kontrolmateriālu jāiegūst HBV pozitīvs rezultāts, un ar negatīvo kontrolmateriālu jāiegūst HBV negatīvs rezultāts.
3. Tālāk aprakstīts, kā jārikojas, ja ārējo kontrolmateriālu rezultāti nav atbilstoši.
  - a) Pozitīvs testa rezultāts, kas ziņots negatīvam kontrolmateriāla paraugam, liecina par parauga materiāla kontaminācijas problēmu.
  - b) Negatīvs testa rezultāts, kas ziņots pozitīvam kontrolmateriāla paraugam, var liecināt par problēmu, kas ir saistīta ar reaģentu vai iekārtu.
  - c) Abos iepriekš minētajos gadījumos vai ja rezultāts ir Indeterminate (Neskaidrs) (IND) vai No Result (Nav rezultāta) (NR), NeuMoDx HBV External Controls jāapstrādā atkārtoti, izmantojot jaunus to kontrolmateriālu flakonus, kuru derīguma pārbaude bijusi nesekmīga.
  - d) Ja pozitīva NeuMoDx HBV External Control rezultāts aizvien ir negatīvs, sazinieties ar NeuMoDx tehnisko dienestu.
  - e) Ja negatīva NeuMoDx HBV External Control rezultāts aizvien ir pozitīvs, mēģiniet likvidēt visus iespējama piesārņojuma avotus, tostarp nomainiet visus reaģentus, tikai pēc tam sazinieties ar NeuMoDx tehnisko dienestu.

### Paraugu apstrādes (iekšējie) kontrolmateriāli

Platē NeuMoDx Extraction Plate ir iestrādāts eksogēns paraugu apstrādes kontrolmateriāls (Sample Process Control, SPC1), kas ir pakļauts visam nukleīnskābes ekstrahēšanas un reāllaika PĶR amplifikācijas procesam katram paraugam. Katrā testa strēmelītē NeuMoDx HBV Quant Test Strip ir iekļauti arī SPC1 specifiski praimeru un zonde, tādējādi ar mērķa HBV DNS (ja tāda ir) daudzkārtīgas PĶR ceļā ir iespējama SPC1 noteikšana. SPC1 amplifikācijas noteikšanas dēļ sistēmas NeuMoDx System programmatūra var pārraudzīt DNS ekstrahēšanas un PĶR amplifikācijas procesu efektivitāti.

### Nederīgi rezultāti

Ja sistēmā NeuMoDx System veikta NeuMoDx HBV Quant Assay iegūtais rezultāts pēc parauga apstrādes beigām nav derīgs, tas atbilstoši radušās kļūdas veidam tiek ziņots kā Indeterminate (Neskaidrs) (IND), No Result (Nav rezultāta) (NR) vai Unresolved (Neatrisināts) (UNR).

Rezultāts IND tiek ziņots, ja parauga apstrādes laikā tiek konstatēta NeuMoDx System kļūda. Ja tiek ziņots IND rezultāts, ieteicama atkārtota testēšana.

Ja netiek konstatēta HBV DNS vai SPC1 derīga amplifikācija un nav arī sistēmas kļūdu, tiek ziņots UNR rezultāts, kas liecina par iespējamu reaģenta kļūdu vai inhibitoru klātbūtni. Ja tiek ziņots UNR rezultāts, kā pirmā darbība ieteicama atkārtota testēšana. Ja atkārtota testēšana ir nesekmīga, jebkādas parauga inhibīcijas efektu mazināšanai var izmantot parauga materiāla atšķaidījumu.

Ja sistēmā NeuMoDx System veiktas analīzes NeuMoDx HBV Quant Assay iegūtais rezultāts nav derīgs un parauga apstrāde pārtraukta pirms pabeigšanas, tas tiek ziņots kā No Result (Nav rezultāta). Gadījumā, ja tiek ziņots NR rezultāts, ieteicama atkārtota testēšana.



### DARBĪBAS EFEKTIVITĀTES RAKSTURLIELUMI

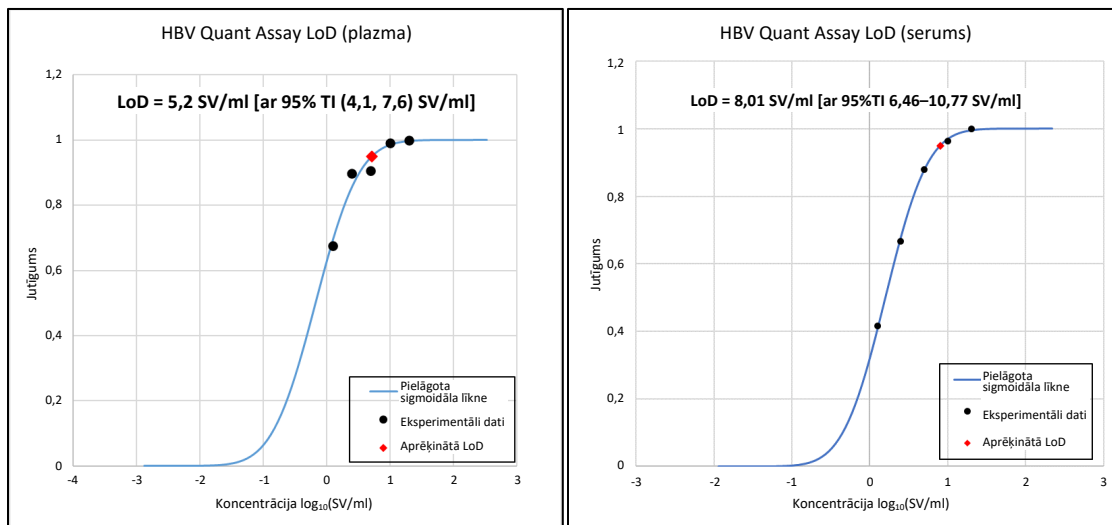
#### Analītiskais jutīgums – noteikšanas robeža, izmantojot PVO standartu

NeuMoDx HBV Quant Assay analītisko jutīgumu raksturoja, testējot negatīvus parauga materiālus un PVO 4. starptautiskā standarta atšķaidījumu sēriju atsiņātā negatīvā cilvēka plazmā un serumā, lai noteiktu noteikšanas robežu (Limit of Detection, LoD) sistēmās NeuMoDx Systems. LoD definēja kā zemāko noteikto mērķa līmeni ar rādītāju 95%, nosakot ar probita analīzi. Pētījumus veica 3 dienas ar vairākām NeuMoDx Systems un vairākām NeuMoDx reaģentu partijām. Lai apstiprinātu NeuMoDx HBV Quant Assay LoD, izmantojot 200 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu, veica papildu pētījumu. Abos pētījumos iegūtie noteikšanas rādītāji ir parādīti šeit: 2. tabula.

2. tabula. NeuMoDx HBV Quant Assay LoD pozitīvi noteikšanas rādītāji

	Mērķa koncentrācija [SV/ml]	Mērķa koncentrācija [ $\log_{10}$ SV/ml]	PLAZMA			SERUMS		
			Derīgu testu skaits	Pozitīvo skaits	Noteikšanas rādītājs	Derīgu testu skaits	Pozitīvo skaits	Noteikšanas rādītājs
<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.	N/A (Nav attiecināms)	108	0	0%	107	0	0%
<b>200 µl</b>	25	1,40	43	43	100%	44	44	100%

NeuMoDx HBV Quant Assay noteiktā LoD HBV A genotipam (PVO 4. starptautiskais standarts) plazmā bija 5,2 SV/ml (95% TI 4,1–7,6 SV/ml) [(0,72  $\log_{10}$  SV/ml) (95% TI 0,61–0,88  $\log_{10}$  SV/ml)], izmantojot 550 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu (2. attēls). NeuMoDx HBV Quant Assay noteiktā LoD seruma parauga materiāliem bija 8,0 SV/ml (95% TI 6,5–10,8 SV/ml) [(0,9  $\log_{10}$  SV/ml) (95% TI 0,8–1,0  $\log_{10}$  SV/ml)], izmantojot 550 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu (2. attēls).



2. attēls. Probita analīze, kas izmantota NeuMoDx HBV Quant Assay LoD noteikšanai, plazma (pa kreisi) un serums (pa labi)

#### Analītiskais jutīgums – kvantitatīvās noteikšanas robeža – kvantitatīvās noteikšanas apakšējā robeža (LLOQ), izmantojot PVO standartu

Kvantitatīvās noteikšanas apakšējā robeža (LLOQ) ir definēta kā zemākais mērķa līmenis, kādā sasniedz >95% noteikšanu, UN SAK ≤1,0. Lai noteiktu LLOQ, aprēķināja summāro analīzes kļūdu (SAK) katram HBV mērķa līmenim, kam ziņotā noteikšana bija >95%, aprēķinot LoD. SAK ir definēta šādi:

$$\text{SAK} = \text{novirze} + 2 * \text{SN} \text{ [Westgard statistika]}$$

Novirze ir aprēķinātās koncentrācijas vidējā aritmētiskā un paredzamās koncentrācijas starpības absolūtā vērtība. SN attiecas uz parauga kvantitatīvi noteiktās vērtības standartnovirzi.

Apkopotie rezultāti, kas iegūti LLoQ pētījumā izmantoto HBV parauga materiālu 5 līmeņos, izmantojot PVO 4. starptautisko standartu, ir parādīti šeit: 3. tabula. Noteiktā LLoQ PVO 4. starptautiskajam standartam plazmā, izmantojot NeuMoDx HBV Quant Assay (550 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmā), bija 5,5 SV/ml (0,74 log<sub>10</sub> SV/ml). Lai apstiprinātu LLoQ, izmantojot 200 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu, veica atsevišķu pētījumu, un tā rezultāti uzrādīja LLoQ 25 SV/ml, kas arī ir parādīti šeit: 3. tabula.

NeuMoDx HBV Quant Assay noteiktā LLoQ seruma parauga materiāliem bija 6,0 SV/ml, izmantojot 550 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu, un 25 SV/ml maza tilpuma (200 µl) parauga materiāla tilpuma darbplūsmai, kā parādīts šeit: 3. tabula.

3. tabula. NeuMoDx HBV Quant Assay LLoQ ar novirzi un SAK

	Mērķa konc. [SV/ml]	Mērķa konc. [log <sub>10</sub> SV/ml]	Plazma					Serums				
			Vidējā konc. [log <sub>10</sub> SV/ml]	Noteikšana (%)	SN	Novirze	SAK	Vidējā konc. [log <sub>10</sub> SV/ml]	Noteikšana (%)	SN	Novirze	SAK
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

#### Analītiskais jutīgums – LoD un LLoQ dažādiem HBV genotipiem

Sākumā LoD noteica A genotipam (PVO 4. starptautiskais standarts), pēc tam ap noteikto LoD veica papildu testus, izmantojot visus pārējos 7 genotipus. Trīsdesmit sešus (36) atkārtojumus līmeņos, kas atbilst 2X, 1X un 0,5X 95% TI LoD augšējai robežai (~7 SV/ml) testēja ar 550 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu, izmantojot NeuMoDx HBV Quant Assay un plazmu. Katra genotipa pozitīvos rādītājus (procentos) katrā testētajā līmenī sakārtoja tabulā un izmantoja LoD aprēķināšanai, izmantojot probita analīzi.

Šajos testētajos līmeņos aprēķināja arī summāro analīzes kļūdu. Par genotipa LLoQ uzskatīja zemāko līmeni ar 95% pozitīvu noteikšanu un aprēķināto SAK ≤1,0. Dažādiem genotipiem NeuMoDx HBV Quant Assay noteikšanas robeža plazmas parauga materiālos, izmantojot 550 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu, bija 6,2 SV/ml (0,79 log<sub>10</sub>SV/ml), un LLoQ bija 7,6 SV/ml (0,88 log<sub>10</sub> SV/ml), kā parādīts šeit: 4. tabula.

4. tabula. Plazmā testētie HBV genotipi, izmantojot 550 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu

GENOTIPS	LoD [SV/ml]	LLOQ [SV/ml]
A genotips	5,2	5,2
B genotips	6,2	6,2
C genotips	3,5	6,2
D genotips	5,2	5,7
E genotips	3,5	3,5
F genotips	5,1	6,2
G genotips	3,5	3,5
H genotips	5,2	7,6

Pamatojoties uz šo pētījumu iznākumu, NeuMoDx apstiprina, ka NeuMoDx HBV Quant Assay **LoD un LLoQ ir 25 SV/ml (1,4 log<sub>10</sub> SV/ml) plazmā un serumā**, izmantojot **200 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu**.

NeuMoDx apstiprina, ka NeuMoDx HBV Quant Assay **LoD un LLoQ ir 8,0 SV/ml (0,9 log<sub>10</sub> SV/ml) plazmā un serumā**, izmantojot **550 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu**.

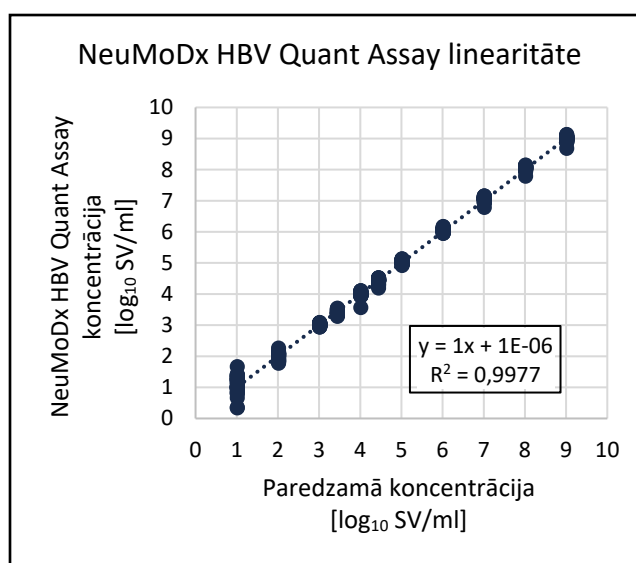
#### Analītiskais jutīgums – linearitāte un kvantitatīvās noteikšanas augšējās robežas (ULOQ) noteikšana

NeuMoDx HBV Quant Assay linearitāti un kvantitatīvās noteikšanas augšējo robežu (ULOQ) noteica plazmā, atšķaidījumu sērijas sagatavošanai izmantojot ļoti pozitīvu HBV klīnisko paraugu (Access Biologicals, Vista, CA) ar noteiktu izsekojamību atbilstoši PVO 4. starptautiskajam standartam. HBV negatīvas plazmas kopparaugā sagatavoja 11 elementu paneli, radot testēšanas paneli, kas aptvertu koncentrāciju diapazonu 9,02–1,02 log<sub>10</sub> SV/ml. Testēšanas paneli apstrādāja ar 6 atkārtojumiem katrā līmenī 2 sistēmās NeuMoDx Systems un izmantoja 3 partijas kritiski būtisku reaģentu. NeuMoDx HBV Quant Assay parādīja spēju noteikt HBV daudzumu 8 log<sub>10</sub> lineārajā diapazonā (ieskaitot kritiski būtiskus medicīnisku lēmumu pieņemšanas punktus) ar novirzi ±0,22 log<sub>10</sub> SV/ml. Izmantojot 2. un 3. kārtas regresijas pielāgojumus, nozīmīga ieguvuma nebija. Izmantojot šajā pētījumā iegūtos datus, noteiktā ULOQ bija 9,02 log<sub>10</sub> SV/ml [5. tabula un 3. attēls].

5. tabula. NeuMoDx HBV Quant Assay linearitāte (novērtēta ar A genotipu)

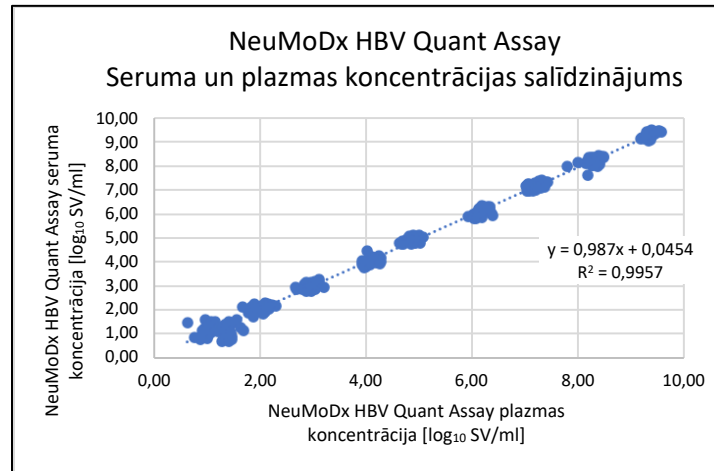
Mērķa konc. (SV/ml)	Mērķa konc. (log <sub>10</sub> SV/ml)	Vidējā konc. (log <sub>10</sub> SV/ml)	Standartnovirze	Novirze	Paredzamais lineārais pielāgojums	Novirze no nelineāra pielāgojuma
1,05E+09	9,02	8,99	0,08	0,06	9,02	-0,04
1,05E+08	8,02	8,05	0,07	0,05	8,02	0,03
1,05E+07	7,02	7,05	0,07	0,06	7,02	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

\* Gandrīz medicīnisku lēmumu pieņemšanas punkti



3. attēls. NeuMoDx HBV Quant Assay lineārais diapazons plazmā

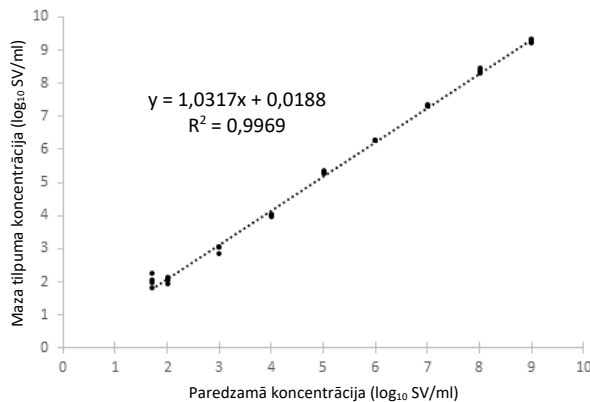
Pēc tam veica pētījumu, lai pierādītu matricas līdzvērtīgumu, un analizē salīdzināja NeuMoDx HBV kvantitatīvos rezultātus plazmā un serumā sagatavotiem paraugiem, izmantojot divus dažādus regresijas pielāgojuma modeļus, tostarp MS Excel regresijas rīku un Passinga-Babloka regresiju. Rezultāti uzrādīja spēcīgu korelāciju, par ko liecināja ļoti tuvas virziena koeficienta un regresijas konstantes vērtības: attiecīgi 1,00 un 0,00, un R<sup>2</sup> vērtība bija 0,99 (MS Excel regresijas rīks) vai p vērtība bija 0,270 (Passinga-Babloka regresija). NeuMoDx System ziņotās HBV Quant analīzes koncentrācijas plazmas matricē, salīdzinot ar atbilstošajiem seruma paraugiem, ir parādītas šeit: 4. attēls.



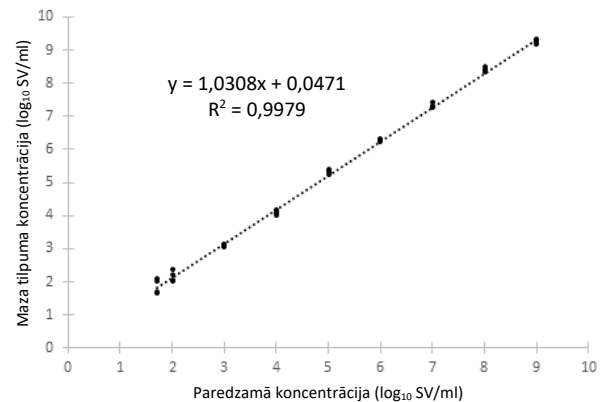
4. attēls. NeuMoDx HBV Quant Assay lineārais diapazons dažādām matricēm

Pēc tam apstiprināja linearitāti un ULOQ 200  $\mu$ l parauga materiāla tilpuma darbplūsmā diapazonā 9,31–1,71  $\log_{10}$  SV/ml. NeuMoDx Software ziņoto koncentrāciju līdzvērtīgumu salīdzināja gan 200  $\mu$ l, gan 550  $\mu$ l darbplūsmā. Deminga un Passinga-Babloka regresijas analizē iegūtie dati uzrādīja teicamu korelāciju, ziņoto koncentrāciju virziena koeficientu tuvu 1 un minimālas regresijas konstantes (novirzes) gan plazmas, gan seruma paraugiem visā lineārajā diapazonā. Ziņotās koncentrācijas 200  $\mu$ l parauga materiāla tilpuma darbplūsmā un vidējās ziņotās koncentrācijas 200  $\mu$ l un 550  $\mu$ l parauga materiāla tilpuma darbplūsmām salīdzinājums pēc Blenda (Bland) un Altmena (Altman) metodes uzrādīja minimālu novirzi, piešķirot precizitāti algoritmam, ko izmantoja rezultātu ģenerēšanai no 200  $\mu$ l darbplūsmas. Turklāt vienkāršā lineārā regresijā, paredzamo koncentrāciju salīdzinot ar ziņoto koncentrāciju 200  $\mu$ l darbplūsmā, virziena koeficients bija tuvu 1, kas pierāda teicamu korelāciju [5. attēls]. Kopumā šie salīdzinājumi pierāda, ka HBV kvantitatīvā noteikšana NeuMoDx HBV Quant Assay visā lineārajā diapazonā, izmantojot 200  $\mu$ l parauga materiāla tilpuma darbplūsmu, ir precīza.

A Vienkāršā lineārā regresija plazmas paraugiem



B Vienkāršā lineārā regresija seruma paraugiem



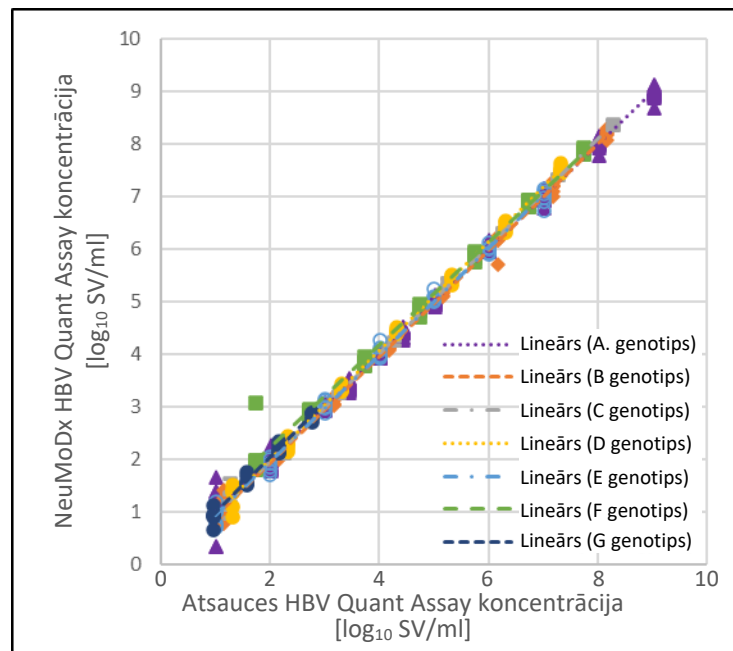
5. attēls. Lineārā sakarība starp paredzamo un NeuMoDx ziņoto koncentrāciju 200  $\mu$ l darbplūsmā a) plazmā un b) serumā

### Linearitāte dažādiem genotipiem

NeuMoDx HBV Quant Assay linearitāti plazmas parauga materiālos HBV genotipiem raksturoja, testējot vismaz četras (4) dažādas katra HBV genotipa koncentrācijas, ko sagatavoja HBV negatīvas plazmas kopparaugā. Šajā pētījumā izmantotie HBV mērķa testētie līmeņi bija atkarīgi no avota parauga materiāla koncentrācijas, tāpēc dažādiem genotipiem tie atšķīrās. Pētījumu veica ar katru genotipu, izmantojot 6 atkārtojumus katrā līmenī. Linearitāte dažādajiem HBV genotipiem ir parādīta šeit: 6. tabula un 6. attēls.

6. tabula. NeuMoDx HBV Quant Assay linearitāte dažādiem genotipiem

Genotips	Linearitātes vienādojums y = NeuMoDx HBV Quant Assay kvantitatīvā noteikšana x = paredzamā kvantitatīvā noteikšana	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



6. attēls. NeuMoDx HBV Quant Assay linearitāte dažādiem genotipiem

#### Analītiskais specifiskums un krusteniskā reaģētspēja

Analītisko specifiskumu pierādīja, atslējot 32 organismus, kas parasti ir sastopami asins/plazmas parauga materiālos, kā arī HBV filoģenētiski līdzīgas sugas, lai noteiktu krustenisko reaģētspēju. Organismus sagatavoja kopparaugos pa 4–6 organismiem un testēja augstā koncentrācijā. Testētie organismi ir norādīti šeit: 7. tabula. Nevienam testētajam organismam nenovēroja krustenisko reaģētspēju, kas apstiprina NeuMoDx HBV Quant Assay 100% analītisko specifiskumu.

7. tabula. Patogēni, kurus izmantoja analītiskā specifiskuma pierādīšanai, – krusteniskā reaktivitāte

Adenovīruss 2	Denges drudzis V1	A hepatīts	HPV 16	Ilheus (ILHV)	Dzeltenais drudzis
Adenovīruss 5	Denges drudzis V2	C hepatīts	HPV 18	A tipa gripa	Zikas vīruss
Banži vīruss	Denges drudzis V3	Cilvēka herpesvīruss 6a	HSV1	Parvovīruss B19	
BK vīruss	Denges drudzis V4	Cilvēka herpesvīruss 8	HSV 2	Masaliņas	
Citomegalovīruss	Epšteina-Barra vīruss	HIV 1	HTLV 1	Sentluisas encefalīts	
VZV	Vaccinia vīruss	HIV 2	HTLV 2	Rietumnilas vīruss	

**Traucējošās vielas – komensāli organismi**

NeuMoDx HBV Quant Assay novērtēja, lai noteiktu interferenci tādu organismu klātbūtnē, kas nav mērķa, izmantojot tos pašus organismu kopparaugus, ko sagatavoja analītiskā specifiskuma testēšanai. Organismus testēja atsevišķi vai apkopojā grupās pa 4–6 organismiem atsiņātā HBV negatīvā plazmā, un tiem pievienoja HBV kontrolmateriālus koncentrācijā 3,7 log<sub>10</sub> SV/ml. Šo komensālo organismu klātbūtnē nenovēroja nozīmīgu interferenci, par ko liecina kvantitatīvās noteikšanas minimāla novirze no kontrolmateriālu parauga materiāliem, kas nesaturēja nevienu traucējošu vielu [8. tabula].

8. tabula. Interferences testēšana – komensāli organismi

Organismi, kas nav mērķa	Vidējā konc. (log <sub>10</sub> SV/ml)	Novirze (log <sub>10</sub> SV/ml)
1. grupa [BK vīruss, citomegalovīruss, Epšteina-Barra vīruss, cilvēka herpesvīruss 6a, cilvēka herpesvīruss 8]	3,51	0,10
2. grupa [adenovīruss 2, adenovīruss 5, denges drudzis V2, denges drudzis V3, denges drudzis V4]	3,38	0,22
3. grupa [parvovīruss B19, HTLV 1, HTLV 2, Ilheus (ILHV), dzeltenais drudzis, Zikas vīruss]	3,62	0,06
4. grupa [HPV 16, HPV 18, HSV 1, HSV 2, denges drudzis V1]	3,57	0,04
5. grupa [Sentluisas encef., VZV, Vaccinia vīruss, Rietumnilas vīruss]	3,57	0,03
HAV	3,58	0,05
Banži vīruss	3,41	0,19
HIV-1	3,47	0,15
HIV-2	3,56	0,05
Masaliņas	3,16	0,44
A tipa gripa	3,60	0,03
HCV	3,58	0,04

**Traucējošās vielas – endogēnās un eksogēnās vielas**

NeuMoDx HBV Quant Test Strip darbības efektivitāti novērtēja tādu tipisku eksogēno un endogēno traucējošo vielu klātbūtnē, ko konstatē HBV klīniskajos plazmas parauga materiālos. Šīs vielas ietvēra neparasti augstus asins komponentu līmeņus, kā arī parastas pretvīrusu zāles, kuras klasificētas šeit: *9. tabula*. Katru eksogēno un endogēno vielu, kas norādītas šeit: *10. tabula*, pievienoja atsijātai HBV negatīvai cilvēka plazmai, kam pievienotas 3,7 log<sub>10</sub> SV/ml HBV, un vēroja datus, lai noteiktu interferenci. Lai noteiktu iespējamu interferenci, testēja arī ar B hepatīta infekciju saistītu parastu slimības stāvokļa plazmu.

**9. tabula.** Interferences testēšana – eksogēnās vielas (zāļu klasifikācija)

Kopparaugs	Zāles	Klasifikācija
1	Zidovudīns (ZDV)	Reversās transkriptāzes inhibitors
	Sahinavīrs	HIV proteāzes inhibitors
	Ritonavīrs	HIV proteāzes inhibitors
	Klaritromicīns	Antibiotika
	Alfa-2a interferons	Imūnmodulators
	Alfa-2b interferons	Imūnmodulators
2	Abakavīra sulfāts	Reversās transkriptāzes inhibitors
	Amprenavīrs	Proteāzes inhibitors
	Ribavirīns	Imūnmodulators
	Entekavīrs	HBV pretvīrusu līdzeklis
	Fluoksetīns	SSAI antidepresants
	Valaciklovīra hidrohlorīds	Pretvīrusu līdzeklis
3	Tenofovīra disoproksils	HBV/HIV pretvīrusu līdzeklis
	Lamivudīns	HBV/HIV pretvīrusu līdzeklis
	Ganciklovīrs	CMV pretvīrusu līdzeklis
	Valganciklovīrs	CMV pretvīrusu līdzeklis
	Nevirapīns	Reversās transkriptāzes inhibitors
4	Efavirenz	Reversās transkriptāzes inhibitors
	Lopinavīrs	Proteāzes inhibitors
	Enfuvirtīds	HIV fūzijas inhibitors
	Ciprofloksacīns	Antibiotika
	Paroksetīns	SSAI antidepresants
5	Adefovīrs (dipivoksils)	Pretvīrusu līdzeklis
	Azitromicīns	Antibiotika
	Indinavīra sulfāts	HIV proteāzes inhibitors
	Sertralīns	SSAI antidepresants



**10. tabula.** Interferences testēšana – eksogēnās un endogēnās vielas

Endogēnā	Vidējā konc. (log <sub>10</sub> SV/ml)	Novirze (log <sub>10</sub> SV/ml)
Hemoglobīns	3,50	0,20
Triglicerīdi	3,51	0,09
Bilirubīns	3,56	0,13
Albumīns	3,51	0,17
Eksogēnās (zāles)	Vidējā konc. (log <sub>10</sub> SV/ml)	Novirze (log <sub>10</sub> SV/ml)
1. kopparaugs: zidovudīns (ZDV), sahinavīrs, ritonavīrs, klaritromicīns, alfa-2a interferons, alfa-2b interferons	3,58	0,08
2. kopparaugs: abakavīra sulfāts, amprenavīrs, ribavīrīns, entekavīrs, fluoksetīns, valciklovīra hidrohlorīds	3,56	0,04
3. kopparaugs: tenofovīra disoproksīls, lamivudīns, ganciklovīrs, valganciklovīrs, nevirapīns	3,59	0,06
4. kopparaugs: efavirens, lopinavīrs, enfuvirtīds, ciprofloksacīns, paroksetīns	3,60	0,07
5. kopparaugs: adefovīrs (dīpivoksīls), azitromicīns, indinavīra sulfāts, sertralīns	3,56	0,19
Slimības stāvoklis	Vidējā konc. (log <sub>10</sub> SV/ml)	Novirze (log <sub>10</sub> SV/ml)
Antinukleārās antivielas (ANA)	3,61	0,10
Sistēmiska sarkanā vilkēde (SSV)	3,63	0,10
Reimatoīdais artrīts (RA)	3,57	0,09
HCV antivielas	3,58	0,07
HBV antivielas	3,64	0,11
Alkohola ciroze	3,68	0,15
Reimatoīdais faktors (RF)	3,63	0,10
Alkohola neizraisīts steatohepatīts (non-alcoholic steatohepatitis, NASH)	3,49	0,06

**Vienas laboratorijas rezultātu precizitāte**

NeuMoDx HBV Quant Test Strip precizitāti noteica, HBV parauga materiālu 8 elementu paneli, kas aptvēra A un C genotipus, testējot trijās NeuMoDx Systems 12 dienas. Tika raksturota vienas testēšanas reizes, vienas dienas un vienas sistēmas precizitāte, un noteiktā vispārējā standartnovirze bija  $\leq 0,22 \log_{10} \text{SV/ml}$ . Precizitāte starp operatoriem netika raksturota, jo operatora darbības paraugu apstrādē, izmantojot NeuMoDx System, nav nozīmīgas. Vienas laboratorijas rezultātu precizitāte ir parādīta šeit: **11. tabula**.

**11. tabula.** Vienas laboratorijas rezultātu precizitātes pētījuma rezultāti

PANEĻA ELEMENTS	MĒRĶA KONC. [log <sub>10</sub> SV/ml]	VIDĒJĀ KONC. [log <sub>10</sub> SV/ml]	N	Novirze	Vienas izpildes SN	Vienas dienas SN	Vienas sistēmas SN	Vispārējā SN
A genotips	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
C genotips	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

### Reproducējamība ar dažādām partijām

NeuMoDx HBV Quant Test Strip reproducējamību ar dažādām partijām noteica, izmantojot trīs dažādas galveno reaģentu partijas: NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plate un NeuMoDx HBV Quant Test Strip. Darbības efektivitātes novērtēšanai izmantoja HBV A un C genotipu 8 elementu paneli. Testēšanā izmantoja trīs reaģentu partijas trijās NeuMoDx Systems 6 dienas. Analizēja vienas partijas un dažādu partiju atšķirības. Maksimālā vispārējā novirze bija 0,12 log<sub>10</sub> SV/ml, un maksimālā vispārējā SN bija 0,24 log<sub>10</sub> SV/ml. Darbības efektivitātes nozīmīgas atšķirības starp dažādām partijām nekonstatēja, jo visu paneļa elementu kvantitatīvā noteikšana atbilda pielaišanas specifiskajai. Reproducējamības ar dažādām partijām rezultāti ir parādīti tālāk šeit: 12. tabula.

12. tabula. Reproducējamība ar dažādām partijām: pētījuma rezultāti

PANEĻA ELEMENTS	MĒRĶA KONC. [log <sub>10</sub> SV/ml]	VIDĒJĀ KONC. [log <sub>10</sub> SV/ml]	N	Novirze	Vienas PARTIJAS SN	Dažādu PARTIJU SN	Kopējais SN
A genotips	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
C genotips	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

### Kontrolmateriālu efektivitāte

SPC1, kas iekļauts analizē NeuMoDx HBV Quant Assay, lai ziņotu par visām apstrādes darbību kļūdām vai par inhibīciju, kas ietekmē NeuMoDx HBV Quant Assay darbības efektivitāti, iedarbīgumu novērtēja, izmantojot divus izplatītus HBV genotipus (A un C). Testētie apstākļi ir raksturīgi kritiski būtiskām apstrādes darbību kļūdām, kas varētu rasties paraugu apstrādes laikā un ko *var nekonstatēt* NeuMoDx System darbības efektivitāti pārraugošie sensori. SPC1 efektivitāti novērtēja, simulējot šādus kļūdu apstākļus. Apstrādes neefektivitāti, kas nelabvēlīgi ietekmēja HBV noteikšanu/kvantitatīvo noteikšanu, atspoguļoja SPC1 mērķa darbības efektivitāte (inhibitora klātbūtne un skalošanas neesamība). Apstākļos, kas neietekmēja SPC1 amplifikāciju, arī HBV mērķis amplificējās atbilstoši kontrolmateriālu paraugu ziņotai kvantitatīvajai noteikšanai 0,2 log<sub>10</sub> SV/ml.

13. tabula. Paraugu apstrādes kontrolmateriāla efektivitāte

Pārbaudītā apstrādes darbības kļūda	Paraugu apstrādes kontrolmateriāla amplifikācijas statuss	HBV mērķa amplifikācijas statuss	Analīzes rezultāts
Presence of Inhibitor (Inhibitora klātbūtne)	Not Amplified (Nav amplificēts)	Not Amplified (Nav amplificēts)	Unresolved (Neatrisināts)
No Wash Delivered (Nav skalošanas)	Not Amplified (Nav amplificēts)	Not Amplified (Nav amplificēts)	Unresolved (Neatrisināts)
No Wash Blowout (Nenotiek skalošanas izpūšana)	Amplified (Amplificēts)	Amplified (Amplificēts)	Positive (Pozitīvs) ar kontrolmateriāla kvantitatīvo noteikšanu 0,2 log <sub>10</sub> SV/ml

### Krusteniskā kontaminācija

NeuMoDx HBV Quant Assay krusteniskās kontaminācijas rādītāju noteica, pārmaiņus testējot trīs ļoti pozitīvu un negatīvu HBV parauga materiālu kopas. Pavisam testēja 144 normāla, HBV negatīva cilvēka EDTA plazmas parauga materiāla atkārtojumus un 144 augsta titra HBV parauga materiāla atkārtojumus koncentrācijā 8,0 log<sub>10</sub> SV/ml. Visu negatīvā parauga materiāla 144 atkārtojumu rezultāti bija negatīvi, kas pierāda, ka paraugu apstrādes laikā sistēmā NeuMoDx System krusteniskā kontaminācija nenotiek.

### Parauga materiālu matricas līdzvērtīgums

Lai pierādītu rezultātu līdzvērtīgumu, testēja plazmas parauga materiālus, kas paņemti gan stobriņos ar etilēndiamīntetraetiķskābi (EDTA), gan stobriņos ar skābes-citrāta-dekstrozes šķīdumu (ACD). Lai pierādītu līdzvērtīgumu, testēja arī svaigus un sasaldētus parauga materiālus. Četrdesmit atsevišķu donoru parauga materiālus, kuru avots ir uzņēmums BioIVT, paņēma gan stobriņos ar EDTA, gan stobriņos ar ACD. Šiem svaigajiem paraugiem pievienoja HBV A vai C genotipu četrus līmeņos, tad tos testēja, lai noteiktu līdzvērtīgumu. Pēc tam paraugus uz vismaz 24 stundām sasaldēja, tad atkausēja un testēja vēlreiz. Regresijas analizē iegūtie dati uzrādīja svaigu un sasaldētu parauga materiālu un parauga materiālu ar EDTA un ar ACD teicamu līdzvērtīgumu.

14. tabula. Parauga materiālu līdzvērtīguma rezultātu regresijas analīze

Parametrs [akceptēšanas kritēriji]	Svaigs, salīdzinot ar sasaldētu	ACD, salīdzinot ar K2EDTA
Virziena koeficients [0,9–1,1]	1,002	0,996
Regresijas konstante [<0,5]	-0,031	0,018
Noteikšanas koeficients [ $R^2 > 0,95$ ]	0,995	0,993

Lai pierādītu NeuMoDx HBV Quant Assay darbības efektivitātes līdzvērtīgumu, testēja arī parauga materiālus primārajos un sekundārajos paņemšanas stobriņos. Vispirms apstrādāja HBV negatīvu donoru parauga materiālu paneļus, kam pievienots HBV mērķis (AccuPlex™ HBV Control), no primārajiem parauga materiālu stobriņiem. Katra parauga materiāla atlikušās plazmas alikvoto daļu iepildīja sekundārajā parauga materiāla stobriņā un atkārtoti apstrādāja. Primāro un sekundāro parauga materiāla stobriņu ziņotajos apstrādes rezultātos nozīmīgas atšķirības nekonstatēja.

Novērtēja arī NeuMoDx HBV Quant Assay darbības efektivitātes līdzvērtīgumu svaigiem un sasaldētiem seruma parauga materiāliem, izmantojot atsevišķu donoru svaigu seruma parauga materiālu paneli, kam pievienots HBV koncentrācijās, kas aptvēra analīzes lineāro diapazonu. Pēc svaigo parauga materiālu apstrādes seruma paraugus sasaldēja uz vismaz 24 stundām -20 °C temperatūrā. Pēc tam sasaldētos paraugus atkausēja un testēja vēlreiz. Vienādu svaigu un sasaldētu paraugu lineāro līdzvērtīgumu novērtēja, izmantojot gan Passinga-Babloka, gan Deminga regresijas analīzi. Passinga-Babloka regresijas p vērtība 0,329 (lielāka nekā 0,05) un Deminga regresijas korelācijas koeficients 0,989 pierāda svaigu un iepriekš sasaldētu paraugu apstrādes teicamu līdzvērtīgumu. Ar Blenda-Altmena metodi noteiktā novirze starp svaigiem un sasaldētiem parauga materiāliem bija ļoti niecīga – tās vērtība bija -0,002 log<sub>10</sub> SV/ml, un tas papildus pierāda svaigu un sasaldētu parauga materiālu apstrādes līdzvērtīgumu. Visbeidzot, korelāciju starp sistēmas ziņotajām HBV koncentrācijām un paredzamajām koncentrācijām gan svaigiem, gan sasaldētiem paraugiem noteica ar vienkāršo lineāro regresiju, ziņotās R<sup>2</sup> vērtības bija attiecīgi 0,991 un 0,985.

#### Parauga materiālu stabilitāte

HBV negatīviem EDTA plazmas un seruma parauga materiāliem pievienoja HBV koncentrācijā 3,7 log<sub>10</sub> SV/ml, un tos testēja dažādos laika brīžos, kamēr tie glabājās sistēmā NeuMoDx System: tūlīt (laiks 0), pēc 4 stundām, pēc 8 stundām un pēc 24 stundām. Darbības efektivitātes nozīmīgas atšķirības dažādajos laika brīžos nenovēroja, kas liecina, ka parauga materiālu var ievietot sistēmā NeuMoDx System uz laiku līdz 24 stundām, un tas nekādi neietekmēs analīzes darbības efektivitāti.

Līdzīgi testēja arī plazmas un seruma parauga materiālus, ko līdz 7 dienām pirms testēšanas glabāja laboratorijas ledusskapī (no 2 līdz 8 °C temperatūrā), un darbības efektivitātes nozīmīgas atšķirības nenovēroja.

Visbeidzot testēja parauga materiālus, ko pirms apstrādes glabāja ≤-20 °C temperatūrā līdz 6 mēnešiem (plazmu) un līdz 4 mēnešiem (serumu), un nozīmīgas atšķirības salīdzinājumā ar svaigiem parauga materiāliem nenovēroja. Sasaldēšanas/atkausēšanas ciklu atkārtoja, un pēc 2 sasaldēšanas/atkausēšanas cikliem (plazma) vai 4 sasaldēšanas/atkausēšanas cikliem (serums) aizvien nenovēroja darbības efektivitātes izmaiņas.

#### Metožu korelācija

##### Plazmas parauga materiāli

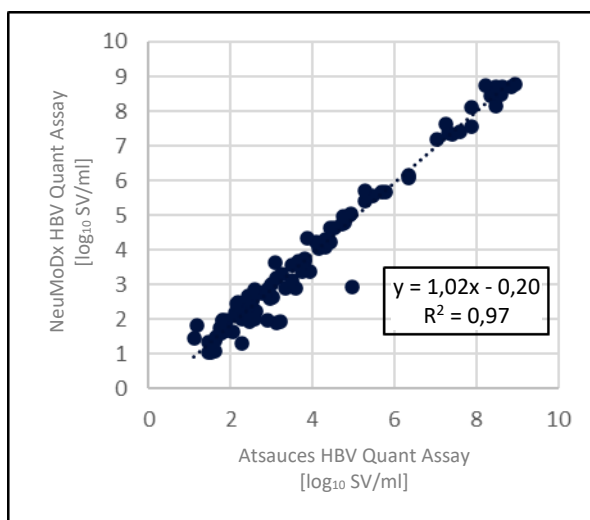
NeuMoDx HBV Quant Assay kvalitatīvo un kvantitatīvo darbības efektivitāti novērtēja, ar FDA/CE apstiprinātām salīdzinājuma analīzēm testējot neatšķaidītus klīniskos plazmas parauga materiālus no pacientiem, kas inficējušies ar HBV. Testēšanu veica iekšēji uzņēmumā NeuMoDx vienkārši maskēta pētījuma veidā, izmantojot klīniskos parauga materiālus, kas iegūti no trijām neatkarīgām atsaucēs laboratorijām. Pavisam 308 HBV pozitīvu un negatīvu paraugu rezultātus apkopēja kvalitatīvajā analīzē, lai aprēķinātu NeuMoDx HBV Quant Assay klīnisko jutīgumu un specifiskumu. Kvalitatīvo analīzi veica, ietverot un neietverot pozitīvos paraugus zem LLoQ, jo šādu zema rezultāta paraugu klasifikācija dažādiem testiem var atšķirties. Lai izveidotu lineāro regresiju un noteiktu kvantitatīvo darbības efektivitāti, izmantoja pavisam 97 HBV pozitīvus klīniskos parauga materiālus, kas atbilda abiem testiem kopējam lineārajam diapazonam. NeuMoDx HBV Quant Test Strip nodrošināja ne tikai teicamu jutīgumu un specifiskumu, bet arī uzrādīja teicamu kvantitatīvo korelāciju ar salīdzinājuma analīzi. Pamatojoties uz šiem rezultātiem, novērtēts, ka NeuMoDx HBV Quant Assay jutīgums ir 100% (TI 96,4%–100%), bet specifiskums ir 95,6% (TI 91,9%–97,7%). Šos 95% ticamības intervālus aprēķināja, izmantojot 95% ticamības intervāla metodi saskaņā ar dokumentu EP12-A2, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, Approved Guideline, Vol 28, No 3.<sup>6</sup>

15. tabula. NeuMoDx HBV Quant Assay klīniskā jutīguma un specifiskuma rādītāji plazmas parauga materiāliem ar NeuMoDx 288 Molecular System

	Atsauces analīze (POS)	Atsauces analīze (NEG)	KOPĀ
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	103	9	112
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
<b>KOPĀ</b>	103	205	308
<b>JUTĪGUMS = 100% 95% TI (96,4%–100%)</b> <b>SPECIFISKUMS = 95,6% 95% TI (91,9%–97,7%)</b>			

16. tabula. NeuMoDx HBV Quant Assay klīniskā jutīguma un specifiskuma rādītāji ar NeuMoDx 288 Molecular System, neietverot plazmas paraugus <LLOQ

	Atsauces analīze (POS)	Atsauces analīze (NEG)	KOPĀ
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	99	5	104
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
<b>KOPĀ</b>	99	201	300
<b>JUTĪGUMS = 100% 95% TI (96,3%–100%)</b> <b>SPECIFISKUMS = 97,5% 95% TI (94,3%–98,9%)</b>			



7. attēls. Kvantitatīvās metodes korelācijas pētījums, izmantojot NeuMoDx HBV Quant Assay

159 palikušos klīniskos plazmas parauga materiālus papildus testēja sistēmā NeuMoDx 96 Molecular System. Tāpat kā iepriekšējā testēšanā ar NeuMoDx 288, rezultātus, ko ieguva ar NeuMoDx 96, salīdzināja ar rezultātiem, ko ziņoja FDA apstiprinātas un/vai ar CE zīmi marķētas analīzes, ko avota laboratorijas izmanto testēšanai atbilstoši aprūpes standartam. Rezultāti, tostarp patiesumvērtību tabula ar klīnisko jutīgumu un specifiskumu, ar 95% TI ir parādīti šeit: 17. tabula.

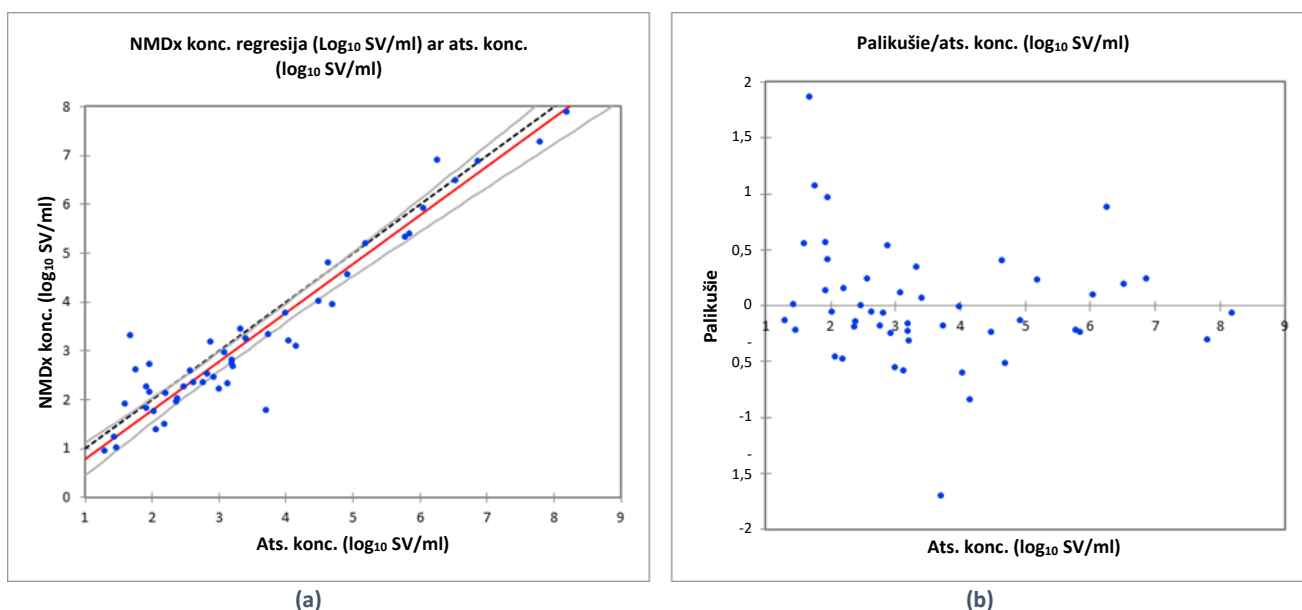
17. tabula. Klīniskās darbības efektivitātes kopsavilkums – NeuMoDx HBV Quant Assay sistēmā NeuMoDx 96 Molecular System

	Atsauces analīze (POS)	Atsauces analīze (NEG)	KOPĀ
<b>NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)</b>	60	2	62
<b>NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)</b>	1	95	96
<b>KOPĀ</b>	61	97	158
<b>JUTĪGUMS = 98% 95% TI (90%–100%)</b> <b>SPECIFISKUMS = 98% 95% TI (92%–100%)</b>			

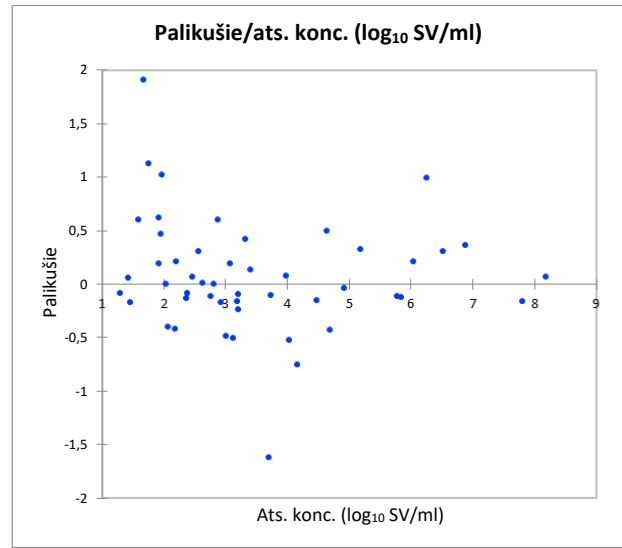
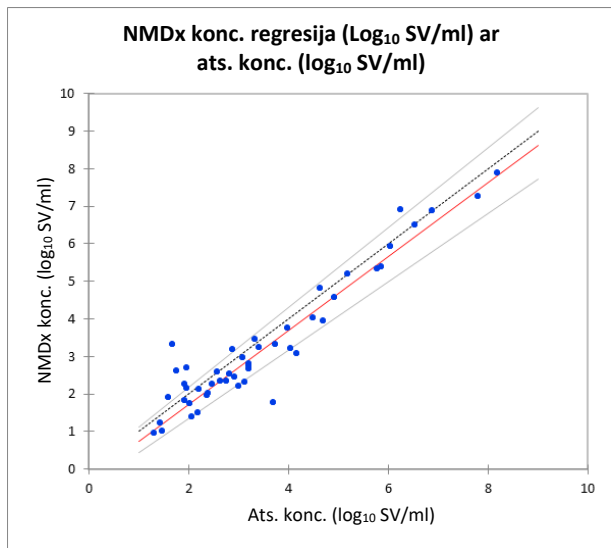
### Seruma parauga materiāli

NeuMoDx HBV Quant Assay kvantitatīvo darbības efektivitāti novērtēja, ar FDA/CE apstiprinātām salīdzinājuma analīzēm testējot palikušos HBV pozitīvus seruma parauga materiālus bez identificējošās informācijas no pacientiem, kas inficējušies ar HBV. Pavisam 66 klīniskus zināmus HBV pozitīvus seruma parauga materiālus, kas iegūti no divām neatkarīgām atsauces laboratorijām, testēja iekšēji uzņēmumā NeuMoDx, izmantojot NeuMoDx HBV Quant Assay. No testētajiem zināmajiem pozitīvajiem seruma parauga materiāliem 58 parauga materiāliem rezultāts bija pozitīvs, no tiem deviņu (9) parauga materiālu rezultāti bija zem LLoQ un virs ULoQ analīzei NeuMoDx HBV Quant Assay un/vai atsauces testam. Lai izveidotu regresijas analīzi un noteiktu kvantitatīvo darbības efektivitāti, izmantoja pavisam 49 HBV pozitīvus klīniskos parauga materiālus, kas atbilda abiem testiem kopējam lineārajam diapazonam.

Lai attēlotu korelāciju starp NeuMoDx HBV Quant Assay koncentrācijām un atsauces testa koncentrācijas vērtībām visiem testētajiem paraugiem, izveidoja līdzvērtīguma un palikušo paraugu diagrammas, izmantojot Deminga un Passinga-Babloka regresijas analīzi, kā parādīts 8. un 9. attēlā. Deminga regresijas pielāgojuma kvalitāti ilustrē virziena koeficients 0,99 ar 95% TI (0,93; 1,07) un regresijas konstante (novirze) -0,22 ar 95% TI (-0,56; 0,12), kas pierāda, ka ar NeuMoDx HBV Quant Assay un atsauces testiem iegūtie koncentrācijas rezultāti ļoti korelē un ir ar pieņemamu novirzi. Passinga-Babloka lineārās regresijas pielāgojuma kvalitāti ilustrē virziena koeficients 0,99 ar 95% TI (0,91; 1,06) un regresijas konstante (novirze) -0,25 ar 95% TI (-0,48; 0,06), kas pierāda, ka ar NeuMoDx HBV Quant Assay un atsauces testiem iegūtie koncentrācijas rezultāti ļoti korelē un ir ar pieņemamu novirzi, kā parādīts šeit: 18. tabula.



8. attēls. Līdzvērtīguma (a) un palikušo paraugu (b) diagrammas – NeuMoDx HBV Test rezultātu kumulatīvā analīze salīdzinājumā ar atsauces testiem – Deminga analīze.



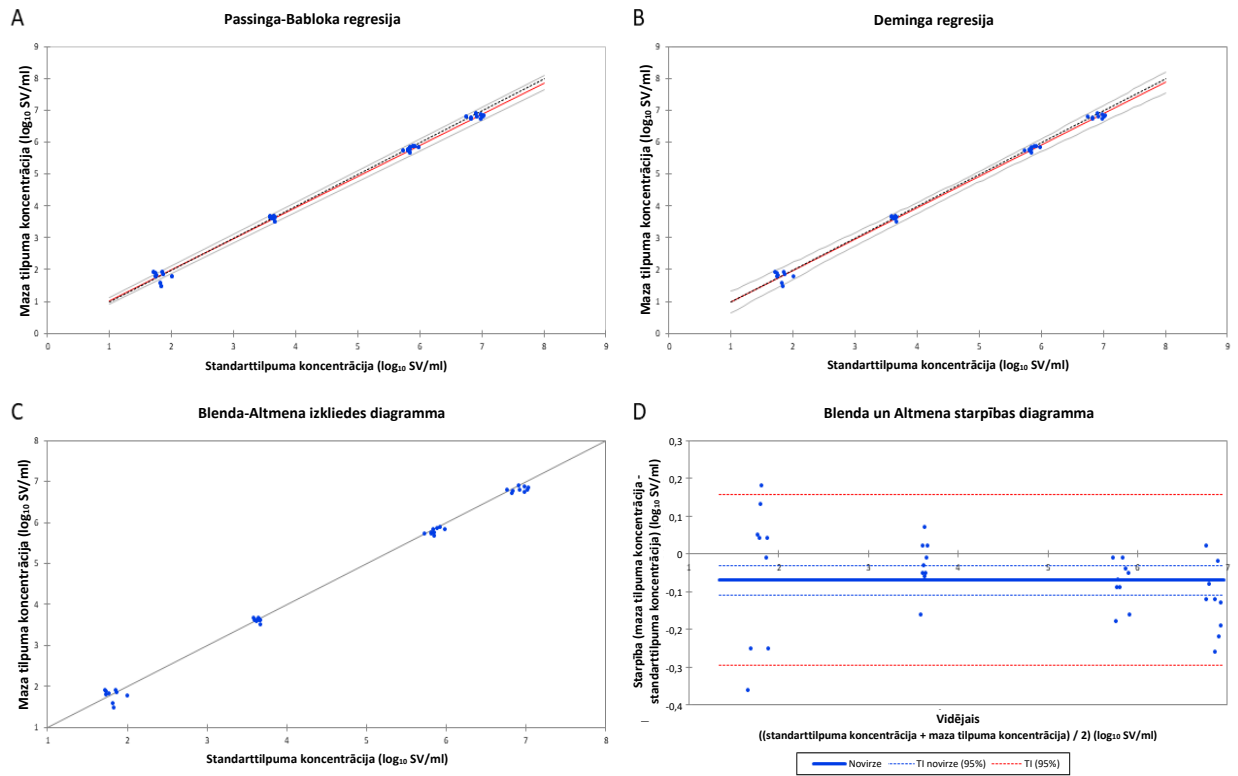
9. attēls. Līdzvērtīguma (a) un palikušo paraugu (b) diagrammas – NeuMoDx HBV Quant Assay rezultātu kumulatīvā analīze salīdzinājumā ar atsauces testiem – Passinga-Babloka analīze.

18. tabula. Kopsavilkums par Deminga un Passinga-Babloka lineārās regresijas analīzi seruma parauga materiāliem

Deminga analīze			Passinga-Babloka analīze		
Regresijas konstante	Virziena koeficients	R2	Regresijas konstante	Virziena koeficients	p vērtība
-0,22 95% TI (-0,56; 0,12)	0,99 95% TI (0,93; 1,07)	0,95	-0,25 95% TI (-0,48; 0,06)	0,99 95% TI (0,91; 1,06)	0,89

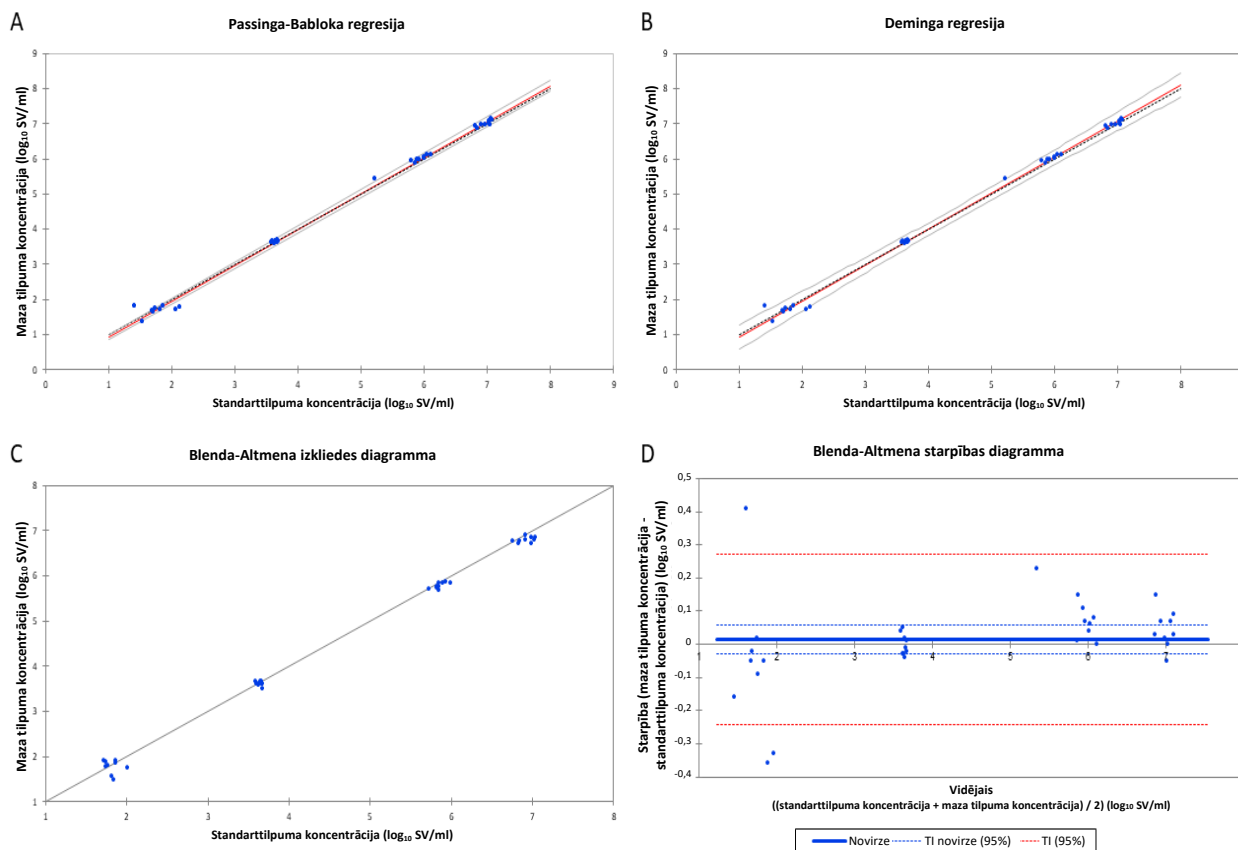
### Īpaši izveidotu parauga materiālu testēšana – 200 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsma

Kvantitatīvo korelāciju starp 200 µl un 550 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmām apstiprināja, izmantojot paneli, kurā bija atsevišķi HBV negatīvi plazmas un seruma paraugi, kam pievienots HBV kontrolmateriāls četros zināmos līmeņos un kas ir izsekojams atbilstoši PVO 4. starptautiskajam standartam HBV DNS nukleīnskābju testiem. Šos atsevišķos plazmas un seruma parauga materiālus apstrādāja gan ar 550 µl, gan 200 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu, veicot pavisam 288 testus. NeuMoDx Software ziņoto koncentrāciju līdzvērtīgumu īpaši izveidotajam panelim 200 µl un 550 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmās salīdzināja, pamatojoties uz atsevišķu paraugu rezultātiem. Deminga un Passinga-Babloka regresijas analīzē virziena koeficients bija attiecīgi 0,985 un 0,998 ar regresijas konstantēm -0,001 un 0,053 plazmā un attiecīgi 1,024 un 1,018 ar regresijas konstantēm 0,095 un 0,070 serumā, kas pierāda, ka abiem apstrādājamajam parauga tilpumiem HBV kvantitatīvās noteikšanas atbilstība ir teicama. Salīdzinājums pēc Blenda un Altmēna metodes uzrādīja minimālu novirzi starp abām darbplūsmām. Turklāt 200 µl darbplūsmai paredzamās koncentrācijas un ziņotās koncentrācijas vienkāršās lineārās regresijas analīzēs virziena koeficients bija 1,047, un korelācijas koeficients bija 0,998 (plazma), un attiecīgi 1,113 un 0,992 (serums), kas papildus apliecina teicamo darbības efektivitāti, analīzei NeuMoDx HBV Quant Assay izmantojot 200 µl parauga materiāla tilpuma darbplūsmu. Šo pētījumu rezultāti ir apkopoti tālāk šeit: 10. attēls un 11. attēls.



**10. attēls:** Maza tilpuma ziņoto koncentrāciju un parauga materiālu standarttilpuma ziņoto koncentrāciju līdzvērtīguma diagrammas salīdzinājums. A) Passing-Babloka regresija B) Deminga regresija C) Blenda-Altmena izkliedes diagramma D) Blenda-Altmena starpības diagramma – plazmas parauga materiāli





**11. attēls:** Maza tilpuma ziņoto koncentrāciju un parauga materiālu standarttilpuma ziņoto koncentrāciju līdzvērtīguma diagrammas salīdzinājums. A) Passinga-Babloka regresija B) Deminga regresija C) Blenda-Altmena izkliedes diagramma D) Blenda-Altmena starpības diagramma – serumu parauga materiāli

### ATSAUCES


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.

### PREČU ZĪMES

NeuMoDx™ ir NeuMoDx Molecular, Inc. preču zīme.  
 NeuDry™ ir NeuMoDx Molecular, Inc. preču zīme.  
 TaqMan® ir Roche Molecular Systems, Inc. reģistrēta preču zīme.

Visi citi produktu nosaukumi, preču zīmes un reģistrētās preču zīmes, kas redzamas šajā dokumentā, pieder to attiecīgajiem īpašniekiem.

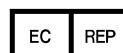
### SIMBOLU SKAIDROJUMS

<b>R only</b>	Lietošanai tikai ar recepti		Temperatūras robežvērtība
	Ražotājs		Nelietot atkārtoti
<b>IVD</b>	Medicīniska ierīce <i>in vitro</i> diagnostikai		Satur pietiekami daudz materiāla <n> testiem
<b>EC REP</b>	Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā		Skatīt lietošanas instrukciju
<b>REF</b>	Kataloga numurs		Uzmanību!
<b>LOT</b>	Partijas kods		Bioloģiskie riski
	Derīguma termiņš	<b>CE</b>	CE zīme



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

Sponsors (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

Tehniskais atbalsts/uzraudzības ziņojumiem: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

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