

REF 300500 NeuMoDx™ HIV-1 Quant Test Strip

R only

FORSIKTIG: Bare til amerikansk eksport

IVD Til *in vitro*-diagnostikk med NeuMoDx 288 og NeuMoDx 96 Molecular Systems

 Oppdateringer finnes på: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Detaljerte anvisninger finnes i brukerhåndboken for NeuMoDx 288 Molecular System, art.nr. 40600108

Detaljerte anvisninger finnes i brukerhåndboken for NeuMoDx 96 Molecular System, art.nr. 40600317

TILTENKT BRUK

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, utført på NeuMoDx 96 Molecular System og NeuMoDx 288 Molecular System (NeuMoDx System(s)), er en automatisert, kvantitativ og kvalitativ *in vitro*-diagnostisk nukleinsyreampifikasjonstest beregnet på kvantifisering og deteksjon av humant immunsviktvirus type 1 (HIV-1)-RNA i humant plasma.

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay er beregnet til bruk i sammenheng med klinisk presentasjon og andre laboratoriemarkører for sykdomsprognose som hjelpemiddel ved klinisk håndtering av HIV-1-smittede pasienter og overvåking av effektene av antiretroviral behandling, som målt ved endringer i HIV-1-RNA-nivåer i plasma. Analysen kan kvantifisere HIV-1-RNA over området 34,2 til $5,0 \times 10^7$ IE/ml (1,5–7,7 \log_{10} IE/ml). NeuMoDx HIV-1 Quant Assay er validert for kvantifisering av RNA fra HIV-1-gruppe M (undertypene A, B, C, D, F, G, H, K, CRF01_AE, CRF02_AG) N, O og P.

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay er ment som et hjelpemiddel til diagnostisering av HIV-1-infeksjon, herunder akutt eller primær infeksjon. Forekomst av HIV-1-RNA i plasmaet hos pasienter uten antistoffer mot HIV-1 indikerer akutt eller primær HIV-1-infeksjon. NeuMoDx HIV-1 Quant Assay kan brukes som en ekstra test for prøver som har gjentatte reaktive resultater med godkjente HIV-immunanalyser og som en bekreftelse på HIV-1-infeksjon.

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay er ikke ment å brukes som giverscreeningstest for HIV-1 for forekomst av HIV-1 i blod eller blodprodukter.

SAMMENDRAG OG FORKLARING

Humant fullblod som samles i sterile blodprøvetakingsrør som inneholder enten etylenediaminetetraeddiksyre (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) eller syre-citratdektrose (Acid Citrate-Dextrose, ACD) som antikoaguleringsmidler eller i plasmaklargjøringsrør (Plasma Preparation Tubes, PPT), kan brukes til klargjøring av plasma. Som forberedelse til testing lastes plasma i et sekundærprøverør eller fraksjonert blod i et primært prøverør kompatibelt med NeuMoDx System på NeuMoDx System ved hjelp av en utpekt prøverørstransportør for å starte behandling. For hver prøve blandes en 600 μ l alikvot av plasmaprøven med NeuMoDx Lysis Buffer 3, og NeuMoDx System utfører automatisk alle trinnene som kreves for å ekstrahere målnukleinsyren, forberede det isolerte RNA-et for sanntidspolymerasekjedereaksjon med omvendt transkripsjon (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, RT-PCR), og hvis slikt er til stede, amplifisere og detektere amplifikasjonsproduktene (deler av HIV-1-genomet i konserverte regioner). NeuMoDx HIV-1 Quant Assay omfatter en RNA-prøveprosesskontroll (Sample Process Control, SPC2) for å overvåke forekomst av potensielle hemmende stoffer og NeuMoDx System- eller reagenssvikt som kan oppstå under ekstraksjons- og amplifikasjonsprosessen.

Humant immunsviktvirus (HIV) er det etiologiske stoffet bak ervervet immunsviktsyndrom (AIDS) og deles i to hovedtyper, hvorav den vanligste og patogene er HIV type 1 (HIV-1). HIV-1 kan overføres ved seksuell kontakt, eksponering for infisert blod eller infiserte blodprodukter eller fra en smittet mor til fosteret.¹⁻⁴ Akutt HIV-1-infeksjon, karakterisert ved influensalignende symptomer, utvikler seg 3 til 5 uker etter opprinnelig infeksjon og er assosiert med høye vireminivåer. HIV-1-spesifikk immunrespons kan detekteres innen 4 til 6 uker etter forekomst av symptomer.⁵⁻⁹

Ved serokonversjon går de fleste pasienter inn i en asymptomatisk fase som kan vare i flere år. Kvantitativ måling av HIV-1-RNA-nivåer i perifert blod har i høy grad bidratt til å forstå patogenesen av HIV-1-infeksjon og er funnet å være en vesentlig parameter ved prognostisering og håndtering av HIV-1-smittede personer.¹⁰⁻¹¹ Beslutninger om oppstart av eller endringer i antiretroviral behandling tas på grunnlag av overvåking av HIV-1-RNA-nivåer i plasma (virusmengde), CD4+ T-celletall og pasientens kliniske tilstand.¹²⁻¹⁷ Målet med antiretroviral behandling er å undertrykke HIV-1-replikasjon til under detekterbare nivåer i aktuelt tilgjengelige virusmengdetester. Virusnivåer i det perifere blodet kan kvantifiseres ved måling av HIV p24-antigenet i serum, ved kvantitativ dyrking av HIV fra plasma eller ved direkte måling av viralt RNA i plasma ved hjelp av nukleinsyreampifikasjons- eller signalampifikasjonsteknologier.⁹⁻¹¹ Molekylære teknikker som polymerasekjedereaksjon mediert av omvendt transkripsjon har vært mye brukt til å amplifisere nukleinsyrer.¹¹ NeuMoDx HIV-1 Quant Assay bruker RT-PCR-teknologi med homogen sanntids-fluorescensdeteksjon. Analysen omfatter dobbelt målampifikasjon og -deteksjon rettet mot to uavhengige regioner av HIV-1-genomet. Dessuten muliggjør degenerert analyseutforming deteksjon av forskjellige gruppe M-undertypene (A, B, C, D, F, G, H, K), herunder sirkulerende rekombinante former, og gruppe N-, O- og P-isolater. Analyseresultatene rapporteres i internasjonale enheter per ml (IE/ml).

PROSEDYREPRINSIPPER

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay kombinerer automatisert RNA-ekstraksjon og -ampifikasjon/-deteksjon ved sanntids-RT-PCR. Fullblodsprøver samles i EDTA-, ACD- eller PPT-rør for klargjøring av plasma. Den primære (fraksjonerte) blodprøven eller en plasmaaliquot i et kompatibelt sekundærprøverør merkes med strekkode og plasseres på NeuMoDx System. NeuMoDx System aspirerer automatisk en alikvot av plasmaet som blandes med NeuMoDx Lysis Buffer 3 og stoffene NeuMoDx Extraction Plate for å starte behandling. NeuMoDx System automatiserer og integrerer RNA-ekstraksjon og -konsentrasjon, reagensklargjøring og nukleinsyreampifikasjon/-deteksjon av målsekvensene ved hjelp av sanntids-RT-PCR. Den inkluderte prøveprosesskontrollen (Sample Process Control, SPC2) overvåker forekomst av hemmende stoffer og system-, prosess- eller reagenssvikt. Ingen operatørtiltak er nødvendige straks prøven er lastet inn på NeuMoDx System.

NeuMoDx System bruker en kombinasjon av varme, lytisk enzym og ekstraksjonsreagenser til automatisk å utføre lysring, RNA-ekstraksjon og fjerning av hemmere. De frisatte nukleinsyrene innfanges av paramagnetiske partikler. Partiklene, med bundet nukleinsyre, lastes inn i NeuMoDx Cartridge der de ubundne elementene vaskes vekk med NeuMoDx Wash Reagent. Det bundne RNA-et elueres deretter ved hjelp av NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx System bruker det eluerte RNA-et til å rehydrere egenutviklede NeuDry™ amplifikasjonsreagenser som inneholder alle elementene som kreves for amplifikasjon av HIV-1- og SPC2-målene. Dette muliggjør samtidig amplifikasjon og deteksjon av både mål- og kontroll-RNA-sekvenser. Etter rekonstitusjon av de tørkede RT-PCR-reagensene overfører NeuMoDx System den klargjorte RT-PCR-ferdigblandingen til ett PCR-kammer (per prøve) på NeuMoDx Cartridge. Omvendt transkripsjon, amplifikasjon og deteksjon av kontroll- og målsekvensene (hvis de er til stede) skjer i PCR-kammeret. NeuMoDx Cartridge er ment å inneholde amplikonet etter RT-PCR, noe som praktisk talt eliminerer risikoen for kontaminering etter amplifikasjon.

De amplifiserte målene detekteres i sanntid ved hjelp av hydrolyseprobenkemi (vanligvis kalt TaqMan®-kjemi) ved bruk av fluorogene oligonukleotidprobenmolekyler som er spesifikke for amplikonene for respektive mål. TaqMan-prober består av en fluorofor som er kovalent bundet til 5'-enden av oligonukleotidproben og en slukker i 3'-enden. Mens proben er intakt, er fluoroforen og slukkeren i nærheten, noe som fører til at slukermolekylet undertrykker fluorescensen sluppet ut av fluoroforen via Försters resonansenergioverføring (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan-prober er utformet slik at de hybridiserer innenfor en DNA-region amplifisert av et spesifikt sett primere. Etter hvert som Taq DNA-polymerase forlenger primeren og syntetiserer den nye tråden, bryter Taq DNA-polymerasens 5'-til 3'-eksonukleaseaktivitet ned proben som har hybridisert til malen. Degradering av proben frisetter fluoroforen og bryter nærheten til slukkeren, noe som dermed overkommer slukkingeffekten på grunn av FRET og tillater deteksjon av fluoroforen. Det resulterende fluorescenssignalet detektert i NeuMoDx System kvantitativ RT-PCR termosyklus er direkte proporsjonalt med den frisatte fluoroforen og kan korreleres til mengden mål som er til stede.

En TaqMan-probe merket med en fluorofor (magnetisering: 490 nm og stråling: 521 nm) i 5'-enden og en mørk slukker i 3'-enden brukes til å detektere HIV-1-RNA. For deteksjon av SPC2 er TaqMan-proben merket med et alternativt fluorescerende fargestoff (magnetisering: 535 nm og stråling: 556 nm) i 5'-enden og en mørk slukker i 3'-enden. NeuMoDx System-programvaren overvåker det fluorescerende signalet fra TaqMan-probene i slutten av hver amplifikasjonssyklus. Når amplifikasjon er fullført, analyserer NeuMoDx System-programvaren dataene og rapporterer et resultat (POSITIVE (Positivt) / NEGATIVE (Negativt) / INDETERMINATE (Ubestemt) / UNRESOLVED (Uløst)). Hvis et resultat er positivt og den beregnede konsentrasjonen er innenfor kvantifiseringsgrensene, gir NeuMoDx System-programvaren også en kvantitativ verdi knyttet til prøven.

REAGENSER/FORBRUKSARTIKLER

Medfølgende materiale

REF	Innhold	Tester per enhet	Tester per pakke
300500	NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip Tørkede RT-PCR-reagenser som inneholder HIV-1 og SPC2-spesifikke TaqMan-prober og -primere	16	96

Andre nødvendige materialer (fås separat)

REF	Innhold
100200	NeuMoDx Extraction Plate Tørkede paramagnetiske partikler, lytisk enzym og prøveprosesskontroller
800304	NeuMoDx HIV-1 Calibrators Sett med HIV-1 høy og lav kalibrator til engangsbruk for å fastsette standardkurvens gyldighet
900301	NeuMoDx HIV-1 External Controls Sett med HIV-1-positive og -negative kontroller til engangsbruk
400600	NeuMoDx Lysis Buffer 3
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (300 µl) med filtre
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (1000 µl) med filtre

Nødvendige instrumenter

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



ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip er kun til *in vitro*-diagnostisk bruk med NeuMoDx Molecular Systems.
- Bruk aldri reagensene eller forbruksartiklene etter angitt utløpsdato.
- Ikke bruk reagenser hvis sikkerhetsforseglingen er brutt, eller hvis emballasjen er skadet ved ankomst.
- Ikke bruk forbruksartikler eller reagenser hvis beskyttelsesposen er åpen eller brutt ved ankomst.
- En gyldig testkalibrering (generert ved å behandle høye og lave kalibratorer NeuMoDx HIV-1 Calibrators [REF 800304]) må avsluttes før testresultater kan genereres for kliniske prøver.
- Eksterne kontroller (NeuMoDx HIV-1 External Controls [REF 900301]) må behandles hver 24. time under hele testingen med NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.
- Minste prøvevolum av sekundære alikvoter er avhengig av prøverørstørrelsen/prøverørstransportøren som definert nedenfor. Volum under spesifisert minimum kan føre til feilen «Quantity Not Sufficient» (Mengde ikke tilstrekkelig).
- Bruk av prøver som er oppbevart ved feil temperatur eller lenger enn de angitte lagringstidene, kan gi ugyldige eller feilaktige resultater.
- Unngå mikrobe- og ribonuklease (RNase)-kontaminering av alle reagenser og forbruksartikler. Bruk av sterile, RNase-frie engangsoverføringspipetter anbefales når du bruker sekundærrør. Bruk en ny pipette for hver prøve.
- For å unngå kontaminering må du ikke håndtere eller bryte fra hverandre eventuell NeuMoDx Cartridge etter amplifikasjon. NeuMoDx Cartridges skal ikke hentes opp fra beholderen for biologisk farlig avfall (NeuMoDx 288 Molecular System) eller boksen for biologisk farlig avfall (NeuMoDx 96 Molecular System) under noen omstendigheter. NeuMoDx Cartridge er beregnet på å hindre kontaminering.
- I tilfeller der PCR-tester med åpne rør også blir gjennomført av laboratoriet, må det påses at NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, samt ytterligere forbruksartikler og reagenser som kreves for testing, personlig verneutstyr som hansker og laboratoriefrakker og NeuMoDx System ikke er kontaminert.
- Bruk rene, pulverfrie nitrilhansker ved håndtering av NeuMoDx-reagenser og -forbruksartikler. Sørg for ikke å berøre den øvre overflaten av NeuMoDx Cartridge, folieforseglingsoverflaten av NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip og NeuMoDx Extraction Plate eller den øvre overflaten av NeuMoDx Lysis Buffer 3. Forbruksartiklene og reagensene må håndteres kun ved å berøre sideoverflatene.
- Sikkerhetsdatablader (Safety Data Sheets, SDS) finnes for hvert reagens (hvis det er relevant) på www.qiagen.com/neumodx-ifu
- Vask hendene grundig når testen er fullført.
- Ikke pipetter gjennom munnen. Ikke røyk, drikk eller spis i områder der prøver eller reagenser blir håndtert.
- Håndter alltid prøver som om de er smittefarlige og i samsvar med sikre laboratorieprosedyrer som de som er beskrevet i *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁸ og i CLSI-dokument M29-A4.¹⁹
- Kasser ubrukte reagenser og avfall i samsvar med lokale, regionale og nasjonale bestemmelser.



PRODUKTLAGRING, -HÅNTERING OG -STABILITET

- NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strips er stabile i primæremballasjen innenfor angitt utløpsdato på produktetiketten når de lagres ved 15–23 °C.
- NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strips sendes i en isolert beholder som inneholder gelkjølemiddelpakker.
- Ikke bruk forbruksartikler og reagenser etter angitt utløpsdato.
- Ikke bruk testprodukt hvis primær- eller sekundæremballasjen er visuelt kompromittert.
- Ikke last inn igjen testprodukter som tidligere er lastet inn på et annet NeuMoDx System.
- Når NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip er lastet inn, kan den forbli på NeuMoDx System i sju (7) dager. Gjenværende holdbarhet for innlastede teststrimler spores av programvaren og rapporteres til brukeren i sanntid. Systemet varsler når en teststrimmel som har vært i bruk utover tillatt periode, må fjernes.
- Selv om NeuMoDx-kalibratorer og eksterne kontroller ikke er smittsomme, må de kasseres etter bruk i laboratoriets biologisk farlige avfall for å redusere risiko for kontaminering fra målnukleinsyren.

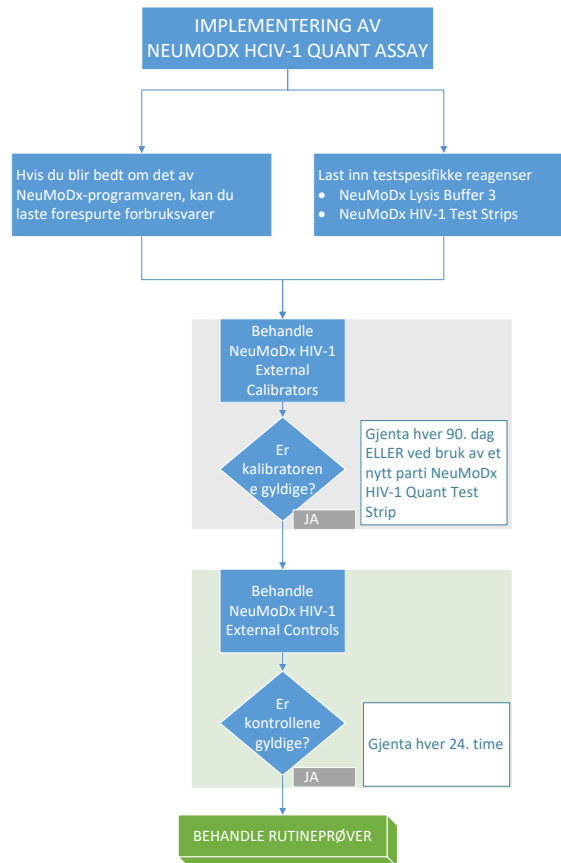


INNSAMLING, TRANSPORT OG OPPBEVARING AV PRØVE

1. Håndter alle prøver, kalibratorer og kontroller som om de vil kunne overføre smittefarlige stoffer.
2. Aldri frys fullblod eller prøver oppbevart i primærrør.
3. For å klargjøre plasmaprøver skal fullblod samles inn i sterile rør ved hjelp av EDTA eller ACD som antikoaguleringsmidler. Følg anvisningene fra produsenten av prøvetakingsrøret for klargjøring og lagring.
4. Prøver kan testes i primærprøvetakingsrør eller sekundærprøverør. Anbefalt for primærrørtesting: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD #368589) eller BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
5. Klargjorte plasmaprøver kan oppbevares på NeuMoDx System i opptil 8 timer før behandling. Hvis ytterligere lagringstid er nødvendig, anbefales det at prøvene enten nedkjøles eller fryses som sekundærplasmaalikvoter.

6. Klargjorte plasmaprøver skal lagres ved 2–8 °C i høyst 7 dager før testing og høyst 8 timer ved romtemperatur.
7. Klargjorte prøver kan oppbevares ved ≤ -20 °C i opptil 8 uker for plasma før behandling.
 - a. Hvis prøver fryses, må disse få tine fullstendig ved romtemperatur (15–30 °C). Roter for å generere en jevnt fordelt prøve.
 - b. Når fryste prøver tines, skal testing skje innen 8 timer.
 - c. Plasmaprøver må ikke utsettes for mer enn 4 fryse/tine-sykluser før bruk
8. Hvis prøver sendes, må de være pakket og merket i samsvar med gjeldende nasjonale og/eller internasjonale bestemmelser.
9. Merk prøver tydelig, og indiker at prøver er beregnet for HIV-1-testing.
10. Gå videre til avsnittet *Testklargjøring*.

Den samlede prosessen for implementering av NeuMoDx HIV-1-analysen er oppsummert nedenfor på *figur 1*.



Figur 1: Arbeidsflyt for implementering av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

BRUKSANVISNING

Testklargjøring

1. Sett prøvestrekkodeetiketten på et prøverør som er kompatibelt med NeuMoDx System. Primærblodprøvetakingsrøret kan merkes og plasseres direkte i en 24-rørs eller 32-rørs prøverørstransportør etter instruks fra produsenten. Eventuelt kan en aliquot av plasmaet overføres til et sekundærprøverør for behandling på NeuMoDx System.
2. Hvis prøven testes i primærprøvetakingsrøret, plasserer du røret med strekkode i en prøverørstransportør og sikrer at hetten tas av før røret lastes inn på NeuMoDx System.
3. Hvis du bruker et sekundærrør, overfører du en aliquot av plasma til prøverøret med strekkode som er kompatibelt med NeuMoDx System i henhold til volumene angitt nedenfor:
 - Prøverørstransportør (32-rørs): 11–14 mm i diameter og 60–120 mm i høyde, minste fyllevolum ≥ 750 µl
 - Prøverørstransportør (24-rørs): 14,5–18 mm i diameter og 60–120 mm i høyde, minste fyllevolum ≥ 1200 µl
 - Prøverørstransportør for lavt volum (32-rørs): 1,5 ml mikrosentrifugerør med konisk bunn; minste fyllevolum ≥ 700 µl

Bruk av NeuMoDx System

Detaljerte anvisninger finnes i brukerhåndbøkene for NeuMoDx 288 og 96 Molecular Systems (art.nr. 40600108 og 40600317)

1. Fyll opp én eller flere NeuMoDx System-teststrimmeltransportører med NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip(s), og bruk trykkskjermen til å laste teststrimmeltransportøren(e) inn i NeuMoDx System.
2. Hvis NeuMoDx System-programvaren ber deg om det, tilsetter du de nødvendige forbruksartiklene på NeuMoDx System-forbruksartikkeltransportører og bruker trykkskjermen til å laste transportørene inn i NeuMoDx System.
3. Hvis NeuMoDx System-programvaren ber om det, må du bytte NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, tømme primingavfall, beholderen for biologisk farlig avfall (kun NeuMoDx 288 Molecular System), beholderen for spissavfall (kun NeuMoDx 96 Molecular System) eller boksen for biologisk farlig avfall (kun NeuMoDx 96 Molecular System), avhengig av hva som er relevant.
4. Hvis du blir bedt om det av NeuMoDx System-programvaren, behandler du NeuMoDx HIV-1 Calibrators [REF 800304] og/eller NeuMoDx HIV-1 External Controls [REF 900301]. Du finner mer informasjon vedrørende kalibratorer og kontroller i avsnittet *Resultatbehandling*.
5. Last prøve-/kalibrator-/kontrollrør inn i en prøverørstransportør, og kontroller at hettene er tatt av alle rør.
6. Plasser prøverørstransportøren(e) på autoinnlasterhyllen, og bruk trykkskjermen til å laste transportøren(e) inn i NeuMoDx System. Dette starter behandling av de innlastede prøvene for de identifiserte testene, forutsatt at en gyldig testordre finnes på systemet.

BEGRENSNINGER

1. NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip kan kun brukes i NeuMoDx Molecular Systems.
2. Ytelsen til NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip har blitt etablert for plasmaprøver klargjort fra fullblod samlet inn med EDTA/ACD som antikoaguleringsmiddel. Bruk av NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip med andre kliniske kilder har ikke vært vurdert, og ytelsesegenskaper er ukjente for andre prøvetyper.
3. Ytelsen til NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip har blitt etablert for primærrørtesting ved hjelp av BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tube og BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube.
4. NeuMoDx HIV-1 Quant Assay må ikke brukes med prøver fra personer som behandles med heparin.
5. Siden deteksjon av HIV-1 er avhengig av antallet viruspartikler i prøven, er pålitelige resultater avhengig av korrekt prøvetaking, -håndtering og -lagring.
6. NeuMoDx HIV-1 Calibrators og NeuMoDx HIV-1 External Controls må behandles som anbefalt i pakningsvedleggene når du blir bedt om det av NeuMoDx System-programvare før rutinemessige kliniske prøver behandles.
7. Feilaktige resultater kan skyldes feil innsamling, håndtering og oppbevaring av prøven, teknisk feil eller prøverørsforveksling. I tillegg kan falskt negative resultater forekomme fordi antallet viruspartikler i prøven er under deteksjonsgrensen for NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.
8. Bruk av NeuMoDx System er begrenset til personell som har fått opplæring i bruk av NeuMoDx System.
9. Hvis både HIV-1-målet og SPC2-målet ikke amplifiseres, rapporteres det et ugyldig resultat (Indeterminate (Ubestemt) eller Unresolved (Uløst)), og testen bør gjentas.
10. Hvis NeuMoDx HIV-1 Quant Assay-resultatet er Positive (Positivt), men kvantifiseringsverdien er utenfor kvantifiseringsgrensene, vil NeuMoDx System rapportere om det detekterte HIV-1 var under nedre kvantifiseringsgrense (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) eller over øvre kvantifiseringsgrense (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
11. Hvis detektert HIV-1 var under LLoQ, kan NeuMoDx HIV-1 Quant Assay gjentas (hvis ønskelig) med en annen alikvot av prøven.
12. Hvis den detekterte HIV-1 er over ULoQ, kan NeuMoDx HIV-1 Quant Assay gjentas med en fortennet alikvot av den opprinnelige prøven. Det anbefales en 1:100 eller 1:1000 fortykning i HIV-1-negativt plasma eller Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Konsentrasjonen til den opprinnelige prøven kan beregnes på følgende måte:
$$\text{opprinnelig prøvekonsentrasjon} = \text{Log}_{10}(\text{fortynningsfaktor}) + \text{rapportert konsentrasjon av den fortyntede prøven}$$
13. Sporadisk forekomst av PCR-hemmere i plasma kan føre til systemkvantifiseringsfeil. Hvis dette forekommer, anbefales det at testen gjentas med samme prøve fortyntet i Basematrix ved 1:10 eller 1:100.
14. Et positivt resultat viser ikke nødvendigvis forekomst av levedyktig HIV-1. Et positivt resultat er imidlertid presumptivt for forekomst av HIV-1-RNA.
15. Delesjoner eller mutasjoner i de konserverte regionene som NeuMoDx HIV-1 Quant Assay har som mål, kan påvirke deteksjon og føre til et feilaktig resultat.
16. Resultater fra NeuMoDx HIV-1 Quant Assay bør brukes som et supplement til kliniske observasjoner og andre opplysninger som er tilgjengelige for legen.
17. God laboratoriepraksis, herunder skifte av hansker mellom håndtering av pasientprøver, anbefales for å unngå kontaminering.

RESULTATBEHANDLING

Tilgjengelige resultater kan vises eller skrives ut fra fanen «Results» (Resultater) i vinduet Results (Resultater) på trykkskjermen i NeuMoDx System.

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay-resultater genereres automatisk av NeuMoDx System-programvaren ved å bruke beslutningsalgoritmen og resultatbehandlingsparametrene spesifisert i NeuMoDx HIV-1 analysedefinisjonsfil (HIV-1-ADF). Et NeuMoDx HIV-1 Quant Assay-resultat kan rapporteres som Negative (Negativ), Positive (Positiv) med en rapportert HIV-1-konsentrasjon, Positive (Positiv) over ULoQ, Positive (Positiv) under LLoQ, Indeterminate (Ubestemt) eller Unresolved (Uløst) basert på amplifikasjonsstatus for målet og prøveprosesskontrollen. Resultater rapporteres basert på ADF-beslutningsalgoritmen, oppsummert nedenfor i *tabell 1*.

Tabell 1: Sammendrag av HIV-1 Quant Assay-beslutningsalgoritmen

RESULTAT*	HIV-1-mål	Prøveprosesskontroll (Sample Process Control, SPC2)
Positive (Positiv) med rapportert konsentrasjon	Amplified (Amplifisert), $1,5 \leq [\text{HIV-1}] \leq 7,7 \log_{10} \text{ IE/ml}$	Amplified (Amplifisert) eller Not Amplified (Ikke amplifisert)
Positive (Positiv), over ULoQ	Amplified (Amplifisert), $[\text{HIV-1}] > 7,7 \log_{10} \text{ IE/ml}$	Amplified (Amplifisert) eller Not Amplified (Ikke amplifisert)
Positive (Positiv), under LLoQ	Amplified (Amplifisert), $[\text{HIV-1}] < 1,5 \log_{10} \text{ IE/ml}$	Amplified (Amplifisert) eller Not Amplified (Ikke amplifisert)
Negative (Negativ)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Amplified (Amplifisert)
Indeterminate (Ubestemt)	Not Amplified, System Error Detected (Ikke amplifisert, systemfeil detektert)	
Unresolved (Uløst)	Not Amplified, No System Error Detected (Ikke amplifisert, ingen systemfeil detektert)	

*Kvantifiseringsområdet NeuMoDx HIV-1 Quant Assay er $1,5$ til $7,7 \log_{10} \text{ IE/ml}$. Et POSITIVE (Positivt) resultat angir at HIV-1-RNA er detektert, og bidrar til å diagnostisere HIV-1-infeksjon. Et NEGATIVE (Negativt) resultat angir enten at HIV-1-RNA mangler, eller at virusmengden er under deteksjonsgrensen, for falskt negative eller falskt lave virusmengderesultater kan skyldes feil prøvetaking eller -lagring. Resultatene må tolkes i sammenheng med relevante kliniske og laboratoriemessige funn.

Testberegning

- For prøver innenfor kvantifiseringsområdet for NeuMoDx HIV-1 Quant Assay beregnes konsentrasjonen av HIV-1-RNA i prøvene ved hjelp av den lagrede standardkurven i forbindelse med kalibreringskoeffisienten.
 - En kalibreringskoeffisient beregnes basert på resultatene fra NeuMoDx HIV-1 Calibrators behandlet for å etablere gyldighet av standardkurven, for et spesifikt parti med NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, på et spesifikt NeuMoDx System.
 - Kalibreringskoeffisienten er omfattet i den endelige bestemmelsen av konsentrasjonen av HIV-1-RNA.
- NeuMoDx HIV-1 Quant Assay-resultater rapporteres i $\log_{10} \text{ IE/ml}$. Konverteringsfaktoren for NeuMoDx HIV-1 Quant Assay er $0,75$ kopier/IE.
- Den resulterende kvantifiseringen av ukjente prøver kan spores til et kalibrert referansemateriale fra National Institute for Biological Standards and Control.

Testkalibrering

En gyldig kalibrering basert på standardkurven er nødvendig for å kvantifisere HIV-1-RNA i prøvene. For å generere gyldige resultater må en testkalibrering fullføres ved hjelp av kalibratorer levert av NeuMoDx Molecular, Inc.

Kalibratorer

- NeuMoDx HIV-1 Calibrators [REF 800304] inneholder ikke-infeksiøst, innkapslet HIV-1-mål klargjort i Basematrix.
- Et sett med HIV-1-kalibratorer må behandles med hvert nytt parti med NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strips, hvis en ny HIV-1-analysedefinisjonsfil blir lastet opp til NeuMoDx System, hvis det nåværende settet med kalibratorer har passert gyldighetsperioden (satt til 90 dager), eller hvis NeuMoDx System-programvaren er endret.
- NeuMoDx System-programvaren vil varsle brukeren om når kalibratorene må behandles. Et nytt parti med teststrimler kan ikke brukes til testing før kalibratorene er ferdig behandlet.
- Kalibreringsgyldighet etableres på følgende måte:
 - Et sett med to kalibratorer – én (1) høy og én (1) lav – må behandles for å fastslå gyldighet.
 - Minst to (2) av de tre (3) replikatene må gi resultater innen forhåndsdefinerte parametere. Det nominelle målet for lav kalibrator er $3 \log_{10} \text{ IE/ml}$, og det nominelle målet for høy kalibrator er $5 \log_{10} \text{ IE/ml}$.
 - En kalibreringskoeffisient beregnes til å representere forventet variasjon mellom teststrimmelpartier. Denne kalibreringskoeffisienten benyttes til bestemmelse av endelig HIV-1-konsentrasjon.

5. Hvis én av eller begge kalibratorene ikke består gyldighetskontrollen, må du gjenta behandlingen av de(n) ikke fullførte kalibratoren(e) ved hjelp av et nytt hetteglass. Hvis én kalibrator ikke består gyldighetskontrollen, er det mulig kun å gjenta den ikke fullførte kalibratoren siden systemet ikke krever at brukeren kjører begge igjen.
6. Hvis kalibratoren(e) ikke godkjennes i gyldighetskontrollen en etterfølgende gang, må du kontakte NeuMoDx Molecular, Inc.

Kvalitetskontroll

Ifølge lokale bestemmelser er laboratoriet vanligvis ansvarlig for kontrollprosedyrer som overvåker nøyaktighet og presisjon for hele den analytiske prosessen, og det må fastsette antall, type og frekvens av testkontrollmaterialer ved hjelp av kontrollerte ytelsesspesifikasjoner for et uendret, godkjent testsystem.

Eksterne kontroller

1. NeuMoDx HIV-1 External Controls [REF 900301] inneholder positive kontroller av ikke-infeksiøs, innkapslet HIV-1-mål kun klargjort i Basematrix og negative kontroller av kun Basematrix.
2. Positive og negative eksterne kontroller må behandles hver 24. time under hele testingen med NeuMoDx HIV-1 Quant Assay. Hvis det ikke finnes et sett med gyldige resultater av eksterne kontroller, vil NeuMoDx System-programvaren gi brukeren beskjed om at kontrollene må behandles før prøveresultater kan rapporteres.
3. Gyldigheten til eksterne kontroller vil vurderes av NeuMoDx System basert på det forventede resultatet. Den positive kontrollen bør gi et Positive (Positivt) HIV-1-resultat, og den negative kontrollen bør gi et Negative (Negativt) HIV-1-resultat.
4. Håndtering av uoverensstemmende resultater for eksterne kontroller skal utføres på følgende måte:
 - a) Testresultatet Positive (Positivt) rapportert for en negativ kontrollprøve angir et prøvekontamineringsproblem.
 - b) Testresultatet Negative (Negativt) rapportert for en positiv kontrollprøve kan indikere at det er et reagens- eller instrumentrelatert problem.
 - c) I hvert av de ovenstående tilfellene, eller ved et ubestemt (IND) resultat, må du gjenta NeuMoDx HIV-1 External Controls med nye hetteglass med kontrollen(e) som ikke besto gyldighetstesten.
 - d) Hvis positiv NeuMoDx HIV-1 External Control fortsetter å rapportere et Negative (Negativt) resultat, må du kontakte NeuMoDx' kundeservice.
 - e) Hvis negativ NeuMoDx HIV-1 External Control fortsetter å rapportere et Positive (Positivt) resultat, må du forsøke å eliminere alle kilder til potensiell kontaminering, herunder bytte alle reagenser før du kontakter NeuMoDx' kundeservice.

(Interne) prøveprosesskontroller

En eksogen prøveprosesskontroll (Sample Process Control, SPC2) er integrert i NeuMoDx Extraction Plate og gjennomgår hele prosessen av nukleinsyreekstraksjon og sanntids-RT-PCR-amplifikasjon med hver prøve. Primere og probe spesifikk for SPC2 er også inkludert i hver NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, noe som muliggjør deteksjon av SPC2 med mål-HIV-1-RNA (hvis slikt er til stede) via multiplaks RT-PCR. Deteksjon av SPC2-amplifikasjon gjør det mulig for NeuMoDx System-programvare å overvåke effekten av RNA-ekstraksjons- og RT-PCR-amplifikasjonsprosessene.

Ugyldige resultater

Hvis en NeuMoDx HIV-1 Quant Assay utført på NeuMoDx System ikke klarer å produsere et gyldig resultat, rapporteres det som enten Indeterminate (Ubestemt) (IND) eller Unresolved (Uløst) (UNR) basert på typen feil som oppsto.

Et ubestemt resultat (IND) rapporteres hvis det detekteres en NeuMoDx System-feil under prøvebehandlingen. Hvis et ubestemt resultat (IND) rapporteres, anbefales det å teste på nytt.

Et uløst resultat (UNR) rapporteres hvis ingen gyldig amplifikasjon av HIV-1-RNA eller SPC2 detekteres, noe som angir mulig reagenssvikt eller forekomst av hemmere. Hvis et uløst resultat (UNR) rapporteres, anbefales det å teste på nytt som et første trinn. Hvis en ny test underkjennes, kan en prøvefortynning brukes til å dempe effektene av eventuell prøvehemming.

YTELSESEGENSKAPER

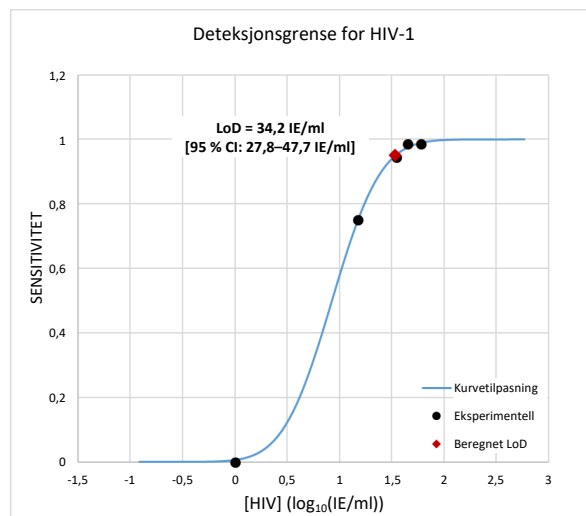
Analytisk sensitivitet – deteksjonsgrense

Den analytiske sensitiviteten til NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ble karakterisert ved testing av en fortyningsserie som kunne spores til WHO's 3. internasjonale standard for HIV-1 i screenet HIV-1-RNA-negativt EDTA-plasma for å bestemme deteksjonsgrensen (Limit of Detection, LoD) på NeuMoDx Systems. LoD-en er definert som det laveste målnivået som ble detektert ved en rate på ≥ 95 % som bestemt ved probit-analyse. Studien ble utført over tre (3) dager ved hjelp av flere systemer, operatører, kjøring og partier med NeuMoDx HIV-1 Quant Assay-reagenser. Hvert system behandlet 12 replikater ved hvert fortyningsnivå per dag. Deteksjonsrater vises i *tabell 2*.

Tabell 2: Positive deteksjonsrater for LoD-bestemmelse av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Målkonsentrasjon (IE/ml)	Målkonsentrasjon (log ₁₀ IE/ml)	Antall gyldige tester	Antall positive	Deteksjonsrate (%)
60	1,78	72	71	98,6 %
45	1,65	72	71	98,6 %
35	1,54	72	68	94,4 %
15	1,18	72	54	75,0 %
0	-	72	0	0 %

Gjennom probit-analyse ble LoD for NeuMoDx HIV-1 Quant Assay i plasma mellom alle genotyper bestemt til å være **34,2 IE/ml (1,5 log₁₀ IE/ml)** med 95 % konfidensintervall (Confidence Interval, CI) på 27,8 til 47,7 IE/ml (1,4–1,7 log₁₀ IE/ml) som testet på NeuMoDx 288 Molecular System [figur 2].


Figur 2: Probit-analyse av deteksjonsgrense for NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Analytisk sensitivitet – nedre kvantifiseringsgrense

Den nedre kvantifiseringsgrensen (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) er definert som det laveste målnivået der > 95 % deteksjon oppnås og total analytisk feil ≤ 1. For å bestemme LLoQ ble den totale analytiske feilen (Total Analytical Error, TAE) beregnet for hvert av HIV-1-målnivåene som en del av LoD-beregning. TAE er definert på følgende måte:

$$\text{TAE} = \text{skjevhet} + 2 \cdot \text{SD} \quad (\text{Westgard-statistikk})$$

der

skjevhet er den absolutte verdien av differansen mellom gjennomsnittet for beregnet konsentrasjon og forventet konsentrasjon
SD er standardavviket fra den kvantifiserte verdien av prøven

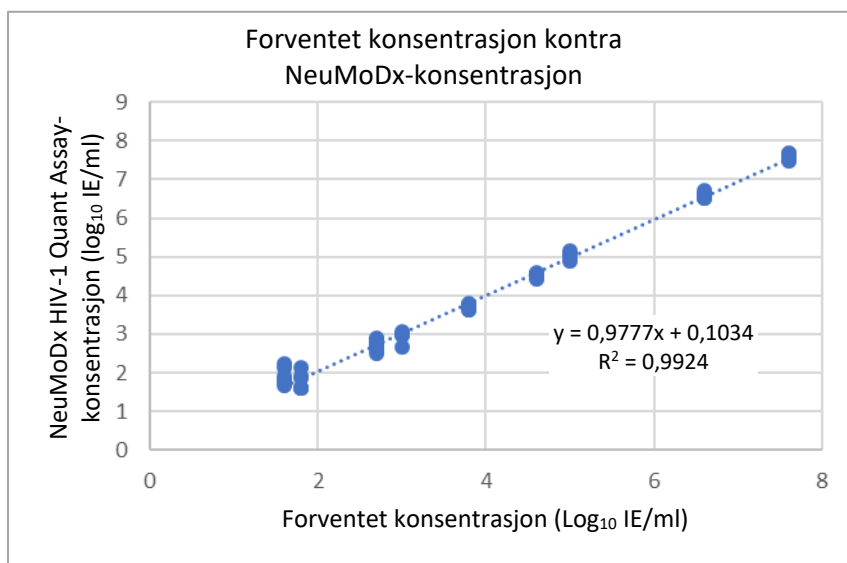
Samlede resultater for de fire (4) nivåene av HIV-1-plasmaprøver brukt i LLoQ-studien ved hjelp av undertype B vises i *tabell 3*. Siden beregnet TAE var ≤ 1 ved HIV-1-nivåer under LoD, viste NeuMoDx HIV-1 Quant Assay en nedre kvantifiseringsgrense tilsvarende deteksjonsgrensen: **34,2 IE/ml** (95 % CI 27,8–47,7 IE/ml) eller **1,5 log₁₀ IE/ml** (95 % CI 1,4–1,7 log₁₀ IE/ml).

Tabell 3: LLoQ for NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, med skjevhet og TAE

Målkons. (IE/ml)	Målkons. (log ₁₀ IE/ml)	Gjennomsnittlig kons. (log ₁₀ IE/ml)	Deteksjon (%)	SD	Skjevhet	TAE
60	1,78	1,76	99	0,28	0,02	0,59
45	1,65	1,82	99	0,30	0,17	0,78
35	1,54	1,69	94	0,39	0,15	0,93
15	1,18	1,52	75	0,54	0,34	1,44

Analytisk sensitivitet – linearitet og bestemmelse av øvre kvantifiseringsgrense

Linearitet og øvre kvantifiseringsgrense (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) til NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ble etablert ved å klargjøre en fortyningsserie av HIV-1 fra The External Quality Assurance Program Oversight Laboratory (Duke University, NC, USA), AccuPlex™ Recombinant HIV/HCV Control (Seracare, MA, USA) og HIV-1-RNA Working Reagent 2 for NAT-analyser (NIBSC). Et panel med ni medlemmer ble klargjort i gruppert HIV-1-RNA-negativt EDTA-plasma for å favne et konsentrasjonsområde på 7,70–1,70 log₁₀ IE/ml. NeuMoDx HIV-1 Quant Assay viste evne til å kvantifisere HIV-1 i 6 log₁₀-lineærområdet med en nøyaktighet på ±0,33 log₁₀ IE/ml basert på standardfeilen som beregnet av 95 % konfidensintervallet. Det fantes ingen vesentlig fordel ved å bruke 2.- eller 3.-ordrens regresjonstilpasninger. ULoQ ble bestemt ved hjelp av dataene fra denne studien til å være **7,7 Log₁₀ IE/ml**. HIV-1-analysekonsentrasjonene rapportert av NeuMoDx System sammenlignet med de forventede verdiene presenteres på figur 3.



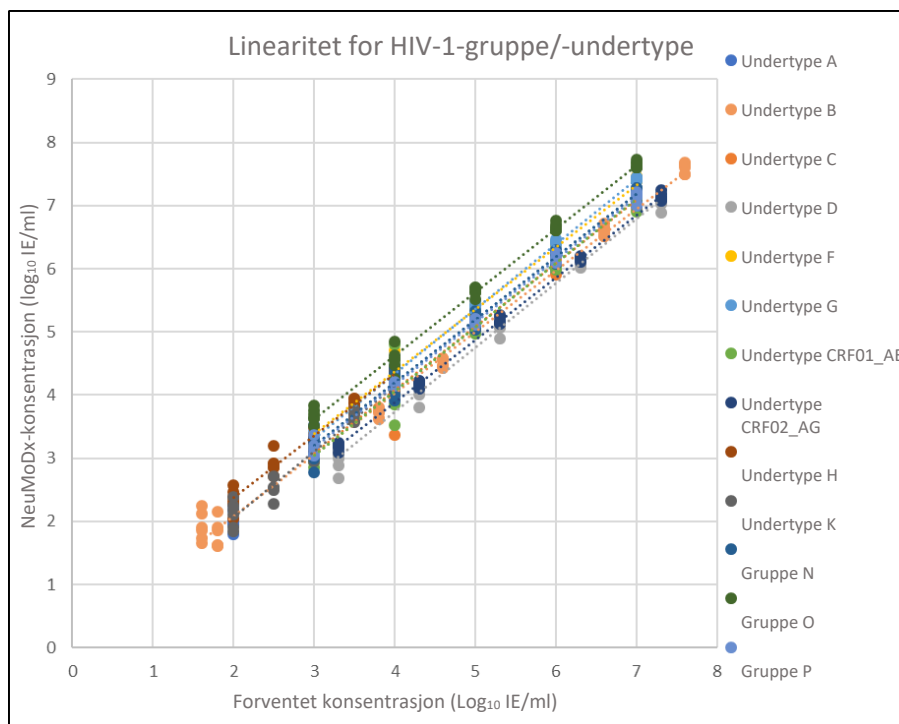
Figur 3: Lineært område av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Analytisk sensitivitet – linearitet mellom genotyper

Lineariteten til NeuMoDx HIV-1 Quant Assay mellom HIV-1-gruppe M (undertype A, B, C, D, F, G, H, K, CRF01_AE, CRF02_AG), N, O og P ble karakterisert ved testing av minst fem (5) forskjellige konsentrasjoner av hver gruppe/undertype av HIV-1 klargjort i gruppert HIV-1-RNA-negativt EDTA-plasma. Nivåene av HIV-1-mål testet i denne studien var avhengige av konsentrasjonen av kildeprøven og var derfor forskjellige mellom grupper/undertyper. Studien ble utført med hver gruppe/undertype ved hjelp av seks (6) replikater på hvert nivå. Linearitet ble demonstrert mellom de testede områdene og er presentert i tabell 4 og på figur 4.

Tabell 4: Linearitet for NeuMoDx HIV-1 Quant Assay mellom gruppene M, N, O og P

Gruppe	Undertype	Linearitetsligning	
		$y = \text{NeuMoDx HIV-1 Quant Assay-kvantifisering (log}_{10} \text{ IE/ml)}$	$x = \text{Forventet kvantifisering (log}_{10} \text{ IE/ml)}$
			R ²
M	A	$y = 1,0217x - 0,008$	0,9953
	B	$y = 0,9715x + 0,1442$	0,9933
	C	$y = 1,0055x + 0,0658$	0,9879
	D	$y = 1,0203x - 0,3554$	0,9941
	F	$y = 0,9872x + 0,4278$	0,9955
	G	$y = 1,0282x + 0,2223$	0,9970
	CRF01_AE	$y = 1,0163x - 0,0053$	0,9824
	CRF02_AG	$y = 0,99x - 0,0783$	0,9989
	H	$y = 0,9803x + 0,4187$	0,9730
	K	$y = 1,0441x - 0,0223$	0,9684
N		$y = 0,996x + 0,2117$	0,9876
O		$y = 1,0043x + 0,6167$	0,9942
P		$y = 0,9927x + 0,1903$	0,9974



Figur 4: Linearitet for NeuMoDx HIV-1 Quant Assay mellom undertyper

Analytisk spesifisitet – potensielt interfererende mikrobielle kontaminanter

Den analytiske spesifisiteten til NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ble evaluert ved testing av et panel med mikroorganismer (*tabell 5*) klargjort i HIV-1-RNA-negativt EDTA-plasma ved høye konsentrasjoner for kryssreaktivitet. Potensiell interferens ble vurdert ved hjelp av samme panel med mikroorganismer som ble klargjort i EDTA-plasma og tilsatt HIV-1 ved 2,02 log₁₀ IE/ml. Ingen kryssreaktivitet ble observert, og alle HIV-1-negative mikrobielle prøver ga negative resultater. Alle HIV-1-positive mikrobielle prøver ga positive resultater, og ingen signifikant interferens ble observert i disse prøvene som dokumentert ved minimalt avvik i rapportert HIV-1-kvantifisering fra kontrollprøver som inneholdt ingen potensielt interfererende mikroorganismer. Ytterligere potensiell kryssreaktivitet ble vurdert ved nukleotidsekvenssammenligning av NeuMoDx HIV Quant Assay-målsekvenser med de fullstendige genomene av 26 ytterligere patogener (*tabell 6*) ved hjelp av Basic Local Alignment Search Tool (BLASTn) gjort tilgjengelig av National Center for Biotechnology Information (NCBI). Sekvenssammenligningsanalysen viste ingen analogi mellom målsekvenser og de undersøkte genomene.

Tabell 5: Patogener testet for analytisk spesifisitet

Potensielt interfererende mikroorganisme
Hepatitt A-virus
Hepatitt B-virus
Hepatitt C-virus
Humant T-celleleukemivirus type 1 (HTLV-1)
Humant T-celleleukemivirus type 2 (HTLV-2)
Humant immunsviktivirus type 2 (HIV-2)
Simian immunsviktivirus (SIV)
Epstein-Barr-virus

Tabell 6: Mikroorganismer inkludert i BLASTn-sekvenssammenligningsanalyse

Mikroorganisme	Aksesjonsnummer/-numre	Mikroorganisme	Aksesjonsnummer/-numre
Adenovirus type 12	X73487.1	Humant herpesvirus 5	GQ221974.1 KR534211.1 GQ221975.1 NC_006273.2
BK-polyomvirus	AB369101.1 NC_001538.1 AB369092.1	Humant herpesvirus 7	AF037218.1 NC_001716.2
<i>Chlamydia trachomatis</i>	CP018052.1 CP017731.1	Humant herpesvirus 8	NC_009333.1
<i>Cutibacterium acnes</i>	NZ_CP006032.1	Humant papillomavirus type 18	NC_001357.1 MF288723.1
Denguevirus	KR919821.1 KR052012.1	Humant papillomavirus type 16	KY549222.1 KY549321.1
Herpes simplex-virus type 2	Z86099.2	Humant parvovirus B19	KX752821.1 MH201456.1
Humant adenovirus 2	J01917.1 AC_000007.1	Influenza A (alle segmenter)	MN253846.1 MH797924.1 MH842686.1 MN037420.1
Humant adenovirus 5	KX868466.2 AC_000008.1 AY601635.1	JC-virus	J02226.1 AB081030.1
Humant adenovirus C	AY339865.1	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	CP034022.1 CP041586.1
Humant betaherpesvirus 6A	NC_001664.4 X83413.2	<i>Propionibacterium acnes C1</i>	CP003877.1
Humant herpesvirus 1	X14112.1 JQ780693.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	AP017922.1
Humant herpesvirus 2	LT797626.1 JN561323.2	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	AP008934.1
Humant herpesvirus 3	DQ479962.1 KC847290.1	Vestnilvirus	M12294.2 MF797870.1

Analytisk spesifisitet – potensielt Interfererende endogene og eksogene stoffer

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ble evaluert for mottakelighet for interferens fra legemidler som ofte blir forskrevet til HIV-1-smittede personer, forhøyede nivåer av endogene stoffer og forekomst av autoimmune sykdommer. Screenet HIV-1-RNA-negativt EDTA-plasma ble tilsatt $3 \log_{10}$ IE/ml HIV-1 og albumin (120 mg/ml), bilirubin (0,03 mg/ml), hemoglobin (3,5 mg/ml), triglyserider (5,3 mg/ml) og legemiddelforbindelser (tabell 7) ved tre ganger C_{max} . Sykdomstilstandspasma for systemisk lupus erythematosus (SLE), antinukleært antistoff (ANA) og revmatoid artritt (RA) ble likeledes screenet negativt og tilsatt $3 \log_{10}$ IE/ml HIV-1 for testing. Ingen signifikant interferens ble observert. Resultatene av studien er oppsummert i tabell 8.

Tabell 7: Legemiddelforbindelser testet for interferens

Legemiddelklassifisering	Legemiddelnavn
Immunmodulator	Interferon alfa-2a, Interferon alfa-2b, ribavirin
CCR5-antagonist	Maraviroc
Farmakokinetisk forsterker	Kobicistat
Omvendt transkriptase-hemmer av ikke-nukleosidtype (Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor, NNRTI)	Doravirin, efavirenz, nevirapin, rilpivirin
Proteasehemmer (Protease Inhibitor, PI)	Darunavir, amprenavir, ritonavir, sakvinavir, simeprevir
Omvendt transkriptase-hemmer av nukleosidtype (Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor, NRTI) eller DNA-polymerasehemmer	Cidofovir, lamivudin, gansiklovir, tenofoviridisoprosil, zidovudin, valgansiklovir, abakavirsulfat, emtricitabin, entecavir, foskarnet, sofosbuvir
Integrasehemmer	Raltegravir, dolutegravir
Fusjonshemmer	Enfuvirtid
Behandling av opportunistisk infeksjon	Azitromycin, klaritromycin, flukonazol, sulfametoksazol, trimetoprim

Tabell 8. Sammendrag av interferenstesting – eksogene og endogene stoffer

Endogene	Gjennomsnitt [HIV-1] (\log_{10} IE/ml)	Skjevhet (\log_{10} IE/ml)
Albumin	3,03	-0,11
Bilirubin	3,04	-0,09
Hemoglobin	3,04	-0,09
Triglyserider	3,14	0,01
Eksogene (legemidler)	Gjennomsnitt [HIV-1] (\log_{10} IE/ml)	Skjevhet (\log_{10} IE/ml)
Gruppe 1: Interferon alfa-2a, interferon alfa-2b, ribavirin, maraviroc, kobicistat	3,06	-0,07
Gruppe 2: Raltegravir, dolutegravir, efavirenz, nevirapin, rilpivirin	3,04	-0,09
Gruppe 3: Doravirin, darunavir, amprenavir, ritonavir, sakvinavir	3,11	-0,02
Gruppe 4: Simeprevir, enfuvirtid, abakavirsulfat, emtricitabin, entecavir, foskarnet	3,12	-0,01
Gruppe 5: Cidofovir, lamivudin, gansiklovir, tenofoviridisoprosil, zidovudin, valgansiklovir	3,14	0,01
Gruppe 6: Sofosbuvir, azitromycin, klaritromycin, flukonazol, sulfametoksazol, trimetoprim	3,13	0
Sykdomsstatus	Gjennomsnitt [HIV-1] (\log_{10} IE/ml)	Skjevhet (\log_{10} IE/ml)
Systemisk lupus erythematosus (SLE)	3,00	-0,13
Antinukleært antistoff (ANA)	3,10	-0,03
Revmatoid artritt (RA)	3,25	0,12

Presisjon

Presisjonen til NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ble bestemt ved testing av et panel med fire medlemmer med HIV-1-prøver klargjort i HIV-1-negativt plasma (med både HIV-1 undertype B og gruppe O fra EQAPOL, Duke University) på tre (3) NeuMoDx Systems over seks (6) dager. I alt 12 kjøring ble utført på hvert system for hvert prøvenivå, noe som førte til 216 replikater per nivå for hele testingen. Presisjon innen kjøring, innen dag og innen system ble karakterisert, og det samlede standardavviket ble bestemt til å være $\leq 0,15 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$. Det ble ikke funnet noen signifikant forskjell i ytelse mellom systemer, dager eller kjøring slik det fremgår av *tabell 9*. Presisjon mellom operatører ble ikke karakterisert ettersom operatøren ikke spiller noen vesentlig rolle i behandlingen av prøver på NeuMoDx System.

Tabell 9: Presisjon innen laboratoriet – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay på NeuMoDx Systems

	Målkons. ($\log_{10} \text{ IE/ml}$)	Gjennomsnittlig kons. ($\log_{10} \text{ IE/ml}$)	SD innen system	Innen dag-SD	Innen kjøring- SD	(Samlet) SD innen laboratorium
Undertype B	5,7	5,62	0,09	0,09	0,09	0,10
	3,7	3,62	0,10	0,10	0,10	0,13
Gruppe O	4,7	4,65	0,09	0,09	0,09	0,12
	2,7	2,66	0,13	0,13	0,12	0,15

Variasjon fra parti til parti

Reproduserbarhet fra parti til parti for NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ble kontrollert med retrospektiv analyse av kvalitetstestdata for tre (3) forskjellige partier med kritiske reagenser. Disse dataene ble generert ved funksjonell testing av reagensene på et panel med tre medlemmer av HIV-mål (AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) i HIV-1-RNA-negativt plasma, sammen med negative plasmaprøver. Totalt 18 positive og 14 negative replikater ble behandlet per parti med NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip. Variasjonen innen og mellom partier ble analysert og presenteres i *tabell 10*. Total absolutt skjevhet overskred ikke $0,14 \log_{10} \text{ IE/ml}$, og totalt standardavvik falt under $0,25 \log_{10} \text{ IE/ml}$. Det ble ikke funnet noen vesentlig forskjell i ytelse mellom partier ettersom kvantifisering av alle panelmedlemmer var innenfor toleransespesifikasjon.

Tabell 10: Reproduserbarhet mellom partier – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Målkons. ($\log_{10} \text{ IE/ml}$)	Gjennomsnittlig kons. Samlet ($\log_{10} \text{ IE/ml}$)	Antall gyldige tester	Skjevhet ($\log_{10} \text{ IE/ml}$)	SD mellom partier	SD innen parti	Samlet SD
5,00	4,96	18	0,04	0,08	0,08	0,12
3,00	2,86	17	0,14	0,12	0,18	0,22
2,00	1,92	18	0,08	0,17	0,14	0,22

Effekt av kontroll

En prøveprosesskontroll (Sample Process Control, SPC2) er inkludert i NeuMoDx HIV-1 Quant Assay for å rapportere prosess- og/eller amplifikasjonsfeil. Effekt av denne internkontrollen ble testet på den analoge NeuMoDx HCV Quant Assay under betingelser representative for kritiske prosessrinnfeil som potensielt kan skje under prøvebehandling, og som kanskje ikke detekteres av sensorene som overvåker NeuMoDx System-ytelsen. Moderat positive og negative prøver ble kjørt for å utfordre internkontrollen med forekomst av reaksjonshemmere, ingen tilførsel av NeuMoDx Wash Reagent og ingen vaskeutblåsning. Vilkår som hadde en negativ effekt på måldeteksjon, ble gjenspeilt på samme måte i SPC2-deteksjon, oppsummert nedenfor i *tabell 11*. Alle scenarier som ble testet, viste at prøveprosesskontrollen kunne overvåke feil på en adekvat måte, eller at de ikke-detekterte feilene ikke hadde noen signifikant effekt på måldeteksjon og -kvantifisering.

Tabell 11: Sammendrag av effektstudie for prøveprosesskontroll

Simulert feilbetingelse	SPC2- amplifikasjonsstatus	Målampifikasjonsstatus	Analyseresultat
Presence of Inhibitor (Forekomst av hemmer)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Unresolved (Uløst)
No Wash Reagent Delivered (Intet vaskereagens levert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Unresolved (Uløst)
No Wash Blowout (Ingen vaskeutblåsning)	Amplified (Amplifisert)	Amplified (Amplifisert)	Positiv $\pm 0,3 \log_{10} \text{ IE/ml}$ kontroll

Krysskontaminering

Krysskontamineringsraten for NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ble bestemt ved testing av seks (6) kjøring av vekslende høye positive og negative HIV-1-prøver. I alt 36 negative replikater og 36 HIV-1-replikater med høy titer på $6,0 \log_{10} \text{ IE/ml}$ ble behandlet i en sjakkbrettkonfigurasjon. Alle replikater av de negative prøvene ble rapportert som negative, noe som viste at ingen krysskontaminering forekom under prøvebehandling på NeuMoDx System.

Prøvematriseekvivalens

Testing ble utført for å vise prøvematriseekvivalens mellom fullblod samlet inn i EDTA- og ACD-prøvetakingsrør for klargjøring av plasma. Ytterligere testing ble utført for å bestemme ekvivalens mellom ferske og frysede plasmaprøver (samlet inn i de to rørtyper). Ferske prøver ble oppbevart ved 2–4 °C før de ble tilsatt fire nivåer HIV-1 (herunder et negativt nivå) over det kvantitative området av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay og testet for ekvivalens. Deretter ble prøvene fryst i minst 24 timer ved ≤ -20 °C. Etter denne perioden med fryst oppbevaring ble prøvene tint og testet på nytt. Resultater fra EDTA kontra ACD og ferske kontra frysede plasmaprøver ble sammenlignet for ekvivalens ved regresjonsanalyse. Resultater av den lineære regresjonsdataanalysen viste ingen signifikant forskjell i rapporterte verdier mellom EDTA og ACD eller mellom ferske og frysede lagringsvilkår for plasma testet ved hjelp av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.

Ytterligere testing ble utført for å vise ekvivalent NeuMoDx HIV-1 Quant Assay-utløst på primærprøver kontra sekundærprøver. Paneler med HIV-1-negative giverprøver tilsatt HIV-1-mål (AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) og med HIV-1-positive giverprøver ble først behandlet fra primærprøverørene. Etter primærprøvebehandling ble gjenværende plasma fra hver prøve alikvotert i et sekundærprøverør og behandlet på nytt. Ingen signifikant forskjell ble funnet i rapporterte resultater mellom behandling av primær- og sekundærplasmaprøver.

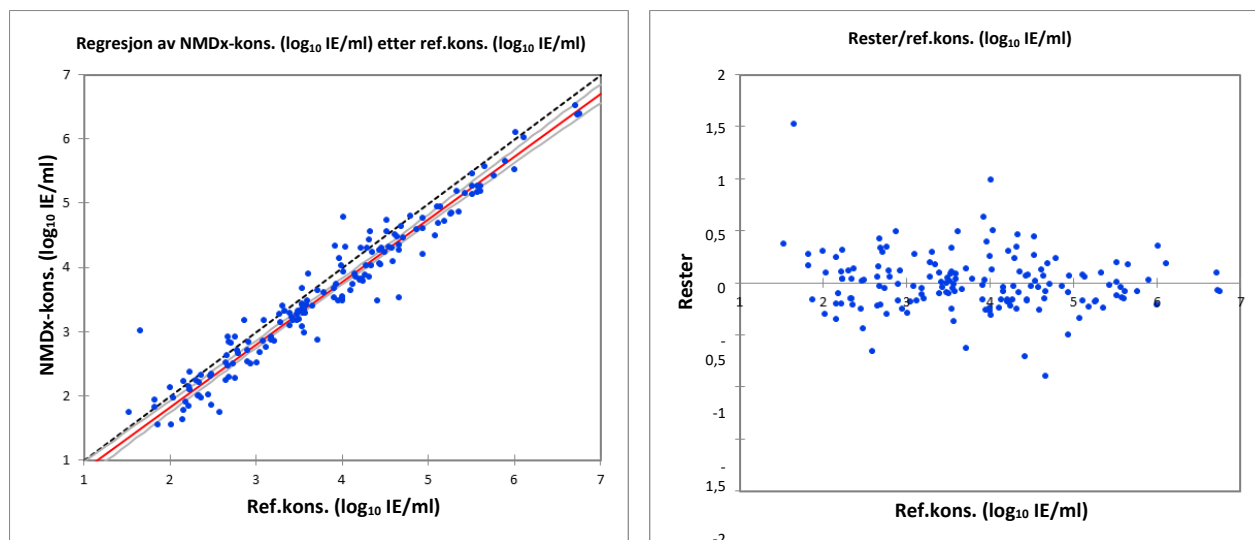
Klinisk metodesammenligning

Kvalitativ og kvantitativ ytelse ble sammenlignet mellom NeuMoDx HIV-1 Quant Assay og en FDA-/CE-IVD-godkjent komparatoranalyse. Intern testing ble utført ved en enkeltblindet studie av anonymiserte, resterende plasmaprøver fra en FDA-registrert leverandør. I alt 723 plasmaprøver ble behandlet ved hjelp av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay på flere NeuMoDx Systems. Alle prøver som først ga et ugyldig resultat, ble behandlet igjen med hell og ga gyldige resultater for alle prøver i denne studien.

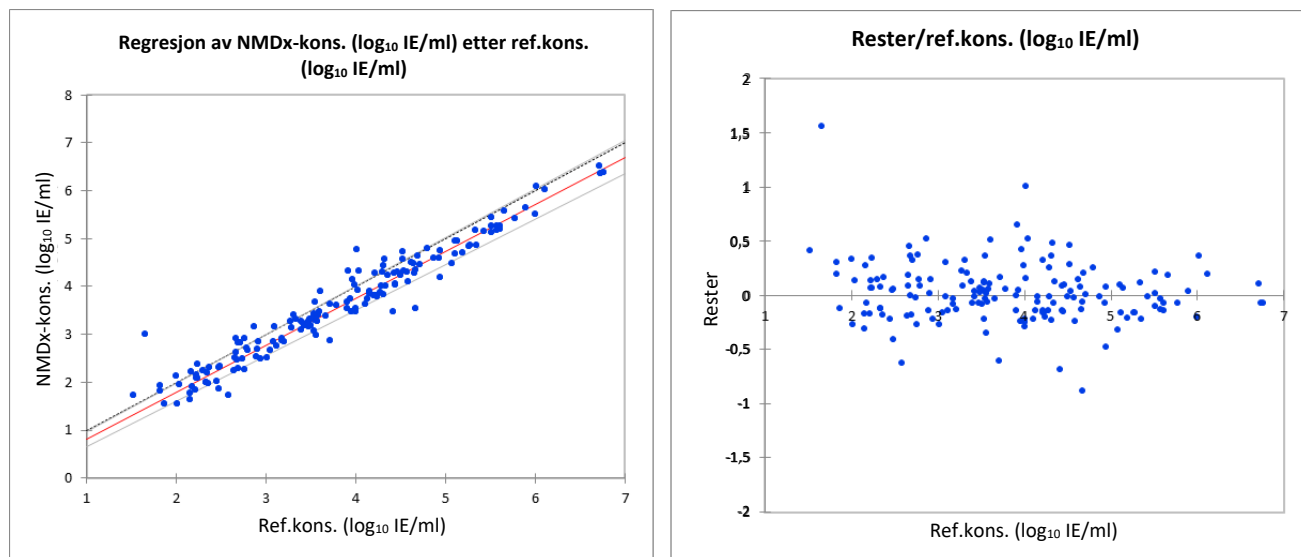
Det var minimalt med behandlings- og systemfeil under testing, og de var godt innenfor godkjenningsskriteriene. I alt tolv (12) ubestemte (IND) resultater og sju (7) uløste (UNR) resultater gir en rate av ubestemte resultater på 1,48 % (95 % CI: 0,85–2,57 %) og en rate av uløste resultater på 0,86 % (95 % CI: 0,42–1,77 %). Total gyldig resultatrate ble funnet å være 97,7 % (95 % CI: 96,4–98,5 %).

Av de 723 gyldige resultatene som ble oppnådd, ble 165 rapportert positive av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay med tilsvarende konsentrasjonsverdier tilordnet ved referansetesting. Deming- og Passing-Bablok-regresjonsanalyse ble produsert for å korrelere rapporterte konsentrasjonsverdier fra NeuMoDx HIV-1 Quant Assay med rapporterte verdier fra referansetestingen.

Regresjons- og restgrafer ble generert for å representere korrelasjonen mellom NeuMoDx HIV-1 Quant Assay-konsentrasjoner og referansetestens konsentrasjonsverdier for alle prøver som ble testet med konsentrasjoner tilordnet av begge. Grafer som er generert ved hjelp av Deming-metodeanalysen og Passing-Bablok-metoden, vises på henholdsvis figur 5 og 6. Kvaliteten på Deming-regresjonstilpasningen illustreres av en hellingskoeffisient på 0,975 (95 % CI: 0,939, 1,011) og et skjæringspunkt (skjevhet) på -0,121 (95 % CI: -0,276, 0,033), noe som viser at konsentrasjonsresultatene oppnådd fra NeuMoDx HIV-1 Quant Assay og referansetestene er svært korrelert med akseptabel skjevhet. Kvaliteten på Passing-Bablok-lineærtillpasningen illustreres av en hellingskoeffisient på 0,981 (95 % CI: 0,950, 1,012) og et skjæringspunkt (skjevhet) på -0,167 (95 % CI: -0,288, -0,036), noe som også viser at konsentrasjonsresultatene oppnådd fra NeuMoDx HIV-1 Quant Assay og referansetestene er svært korrelert med akseptabel skjevhet. Resultater av Deming- og Passing-Bablok-analysene er oppsummert nedenfor i tabell 12.



Figur 5: Grafer for ekvivalens (til venstre) og rest (til høyre) – kumulativ analyse av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay kontra referansetester – Deming-analyse



Figur 6: Grafer for ekvivalens (til venstre) og rest (til høyre) – kumulativ analyse av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay kontra referansetester – Passing-Bablok-analyse

Tabell 12: Sammendrag av Deming og Passing-Bablok lineær regresjonsanalyse

Deming-analyse		Passing-Bablok-analyse	
Skjæringspunkt	Hellingskoeffisient	Skjæringspunkt	Hellingskoeffisient
-0,121	0,975	-0,167	0,981
95 % CI (-0,276, 0,033)	95 % CI (0,939, 1,011)	95 % CI (-0,288, -0,036)	95 % CI (0,950, 1,012)

Av de 723 gyldige resultatene som ble oppnådd ved hjelp av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, ble 171 rapportert positive av referansetestene, og 552 ble rapportert negative. Sensitivitet og spesifisitet for NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ble beregnet mot referansetestene og er oppsummert nedenfor i *tabell 13*. Av de 171 positive prøvene som ble testet, ble 165 rapportert positive av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, og dette viser 96,5 % sensitivitet (95 % CI: 92,6–98,4 %). Av de 552 negative prøvene som ble testet, ble 551 rapportert negative av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, og dette viser 99,8 % sensitivitet (95 % CI: 99,0–100 %).

Tabell 13: Resultater fra kvalitativ metodesammenligning for NeuMoDx HIV-1 Quant Assay kontra referansetester

		Referansetest			
		HIV-1	Positive (Positiv)	Negative (Negativ)	Totalt
NeuMoDx	Positive (Positiv)		165	1	166
	Negative (Negativ)		6	551	557
	Totalt		171	552	723
Sensitivitet = 96,5 % (95 % CI 92,6–98,4 %)					
Spesifisitet = 99,8 % (95 % CI 99,0–100 %)					

Dessuten ble i alt 12 kommersielle serokonversjonspaneler, herunder 75 individuelle plasmaprøver, behandlet med NeuMoDx HIV-1 Quant Assay for å vise deteksjonen av HIV-1-RNA før antistoffer/antigener ved hjelp av kommersielt tilgjengelige tester. Pre-serokonversjons-, tidlig-serokonversjons- og serokonversjonspanelmedlemmer ble inkludert i analysen. Analyse ble utført for å sammenligne den første blodprøvetakingen der HIV-1-RNA detekteres av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, med den første blodprøvetakingen som var positiv for HIV-1-antistoff/-antigen (Ab/Ag) som rapportert med kommersielt tilgjengelige FDA-/CE-IVD-godkjente blodprøver. For alle paneler som ble testet, detekterte NeuMoDx HIV-1 Quant Assay HIV-1-RNA minst én blodprøvetaking tidligere enn blodprøvene for antistoff-/antigendeteksjon. Resultatene er oppsummert i *tabell 14*.

Tabell 14: Sammenligning av serokonversjonspaneler – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay kontra blodprøve for HIV-1 Ab/Ag

Panel-ID	Blodprøvetakingsdag med første positive resultat	
	NeuMoDx HIV-1 Quant Assay	HIV-1 Ab/Ag-blodprøve
PRB969	4	7
PRB968	5	7
0600-0230	2	4
0600-0270	2	3
0600-0258	2	3
0600-0244 (PRB962)	3	5
0600-0272	3	4
PRB967	2	4
PRB964	3	6
PRB963	4	6
0600-0263	5	7
PRB956	2	4

Ytterligere analyser ble utført for å sammenligne den første blodprøvetakingen der HIV-1-RNA detekteres av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, med den første blodprøvetakingen som var positiv for HIV-1-RNA som vist med kommersielt tilgjengelige FDA-/CE-IVD-godkjente NAT-tester. For alle paneler som ble testet, detekterte NeuMoDx HIV-1 Quant Assay HIV-1-RNA ved samme blodprøvetaking som de andre NAT-testene for HIV-1-RNA-deteksjon. I to paneler demonstrerte NeuMoDx HIV-1 Quant Assay HIV-1-RNA-deteksjon én blodprøvetaking tidligere enn andre NAT-tester. Resultatene er oppsummert i *tabell 15*.

Tabell 15: Sammenligning av serokonversjonspaneler – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay kontra NAT for HIV-1-RNA

Panel-ID	Blodprøvetakingsdag med første positive resultat	
	NeuMoDx HIV-1 Quant Assay	Referanse-NAT
PRB969	4	4
PRB968	5	5
0600-0230	2	2
0600-0270	2	2
0600-0258	2	2
0600-0244 (PRB962)	3	3
0600-0272	3	3
PRB967	2	2
PRB964	3	4
PRB963	4	5
0600-0263	5	5
PRB956	2	2

REFERANSER

1. Barré-sinoussi F, Ross AL, Delfraissy JF. Past, present and future: 30 years of HIV research. *Nat Rev Microbiol.* 2013;11(12):877-83.
2. Piot P, Plummer FA, Mhalu FS, Lamboray JL, Chin J, Mann JM. AIDS: an international perspective. *Science.* 1988;239(4840):573-9.
3. Acheson ED. AIDS: a challenge for the public health. *Lancet.* 1986;1(8482):662-6.
4. De Cock KM, Jaffe HW, Curran JW. The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS.* 2012;26(10):1205-13.
5. Gaines H, Von sydom MA, Von stedingk LV, et al. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS.* 1990;4(10):995-9.
6. Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. The immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 1993;328(5):327-35.
7. Daar ES, Moudgil T, Meyer RD, Ho DD. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med.* 1991;324(14):961-4.
8. Clark SJ, Saag MS, Decker WD, et al. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N Engl J Med.* 1991;324(14):954-60.
9. Coombs RW, Collier AC, Allain JP, et al. Plasma viremia in human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 1989;321(24):1626-31.
10. Horsburgh CR, Ou CY, Jason J, et al. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet.* 1989;2(8664):637-40.
11. Piatak M, Saag MS, Yang LC, et al. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science.* 1993;259(5102):1749-54.
12. Mellors JW, Margolick JB, Phair JP, et al. Prognostic value of HIV-1 RNA, CD4 cell count, and CD4 Cell count slope for progression to AIDS and death in untreated HIV-1 infection. *JAMA.* 2007;297(21):2349-50.
13. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV. Department of Health and Human Services. Available at <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>. Updated December 18, 2019.
14. Cohen MS, Chen YQ, Mccauley M, et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. *N Engl J Med.* 2011;365(6):493-505.
15. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature.* 1995;373(6510):123-6.
16. Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature.* 1995;373(6510):117-22.
17. Dimitrov DS, Martin MA. HIV results in the frame. CD4+ cell turnover. *Nature.* 1995;375(6528):194-5.
18. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

VAREMERKER

NeuMoDx™ og NeuDry™ er varemerker som tilhører NeuMoDx Molecular, Inc.

AccuPlex™ er et varemerke som tilhører SeraCare Life Sciences, Inc.










BD Vacutainer® er et registrert varemerke som tilhører Becton, Dickinson and Company

BD og PPT™ er varemerker som tilhører Becton, Dickinson and Company

TaqMan® er et registrert varemerke som tilhører Roche Molecular Systems, Inc.

Alle andre produktnavn, varemerker og registrerte varemerker som kan forekomme i dette dokumentet, tilhører respektive eiere.

SYMBOLER

SYMBOL	BETYDNING
R only	Reseptpliktig
	Produsent
IVD	Medisinsk utstyr til <i>in vitro</i> -diagnostikk
EC REP	Autorisert representant i EU
REF	Katalognummer
LOT	Partinummer
	Siste forbruksdato
	Temperaturbegrensning
	Fuktighetsbegrensning
	Må ikke gjenbrukes
	Inneholder nok til <n> tester
	Se bruksanvisningen
	Forsiktig
	Biologiske risikoer
CE	CE-merke

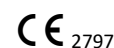


NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, USA

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



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



Teknisk støtte / overvåkingsrapportering: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents