

REF 300300 NeuMoDx™ HCV Quant Test Strip

R only

FORSIGTIG: Kun til eksport fra USA

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

 Opdateringer til indlægssedler kan findes på: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Der står flere oplysninger i brugervejledningen til NeuMoDx 288 Molecular System, P/N 40600108

Der står flere oplysninger i brugervejledningen til NeuMoDx 96 Molecular System, P/N 40600317

TILSIGTET ANVENDELSE

NeuMoDx HCV Quant Assay er en automatiseret, *in vitro*-nukleinsyreamplifikation til kvantitering af hepatitis C-virus (HCV) RNA i humane plasma- og serumprøver til test for HCV-antistofpositiv genotype 1 til og med genotype 6 hos HCV-inficerede personer. NeuMoDx HCV Quant Assay er implementeret i NeuMoDx 288 Molecular System og NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)) og indeholder automatiseret RNA-ekstraktion for at isolere målnukleinsyren fra prøven og revers transkriptase-polymerasekædereaktion i realtid (RT-PCR) til målsøgning af de højt bevarede sekvenser i hepatitis C-viralt genom.

NeuMoDx HCV Quant Assay er beregnet til at blive anvendt som en hjælp til behandling af patienter med HCV-infektion. Resultaterne fra NeuMoDx HCV Quant Assay skal fortolkes i sammenhæng med alle relevante kliniske fund og laboratoriefund. NeuMoDx HCV Quant Assay er ikke beregnet til brug som screeningstest af blod eller blodprodukter eller til diagnosticering af den kliniske status af HCV-infektion.

OVERSIGT OG FORKLARING

Humant fuldblod opsamles i sterile blodprøvetagningsrør, der enten indeholder ethylendiaminetetra-eddikesyre (Ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) eller acid-citrate-dextrose (ACD) som antikoagulationsmiddel, eller i rør til klargøring af plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT), kan bruges til klargøring af plasma, mens serum skal opsamles i serumrør eller serumseparatorrør (Serum Separation Tubes, SST). For at forberede til testning sættes plasma i et rør til sekundære prøver eller fraktioneret blod i et rør til primære prøver, der er kompatibelt med NeuMoDx System, på NeuMoDx System ved hjælp af en dertil beregnet prøverørholder. Bland for hver prøve en alikvot af plasma-/serumprøven med NeuMoDx Lysis Buffer 3, og NeuMoDx System udfører automatisk alle de trin, der er nødvendige for at ekstrahere målnukleinsyren. Klargør det isolerede RNA til realtids-RT-PCR-amplifikation, og amplificer og påvis amplifikationsprodukterne, hvis de er til stede. NeuMoDx HCV Quant Assay er målrettet mod to højt bevarede regioner af HCV-genom for at øge robustheden af analysen. NeuMoDx HCV Quant Assay inkluderer også en RNA-prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC2) til hjælp til monitorering for forekomst af potentielle inhibitoriske stoffer såvel som NeuMoDx System- eller reagensfejl, der kan opstå under ekstraktions- og amplifikationsprocessen.

HCV er et enkeltstrengt, positivt ladet RNA-virus, der kan forårsage både akut og kronisk infektion.¹ Der er endnu ingen vaccine mod hepatitis C. Akut infektion er normalt asymptomatisk og er meget sjældent forbundet med livstruende sygdom, men mere end halvdelen af dem, der inficeres med HCV, kan muligvis udvikle en kronisk infektion. Hos dem med kronisk HCV-infektion er risikoen for levercirrose 15-30 % inden for 20 år. Globalt skønnes det, at 71 millioner mennesker formodes at have kronisk HCV-infektion, og en betydelig del af dem forventes at udvikle cirrose eller levercancer.²⁻⁴ Som en virus, der overføres med blod, er HCV primært blevet overført via blod og blodprodukter. En udbredt anvendelse af blodscreningstest har i høj grad nedsat forekomsten af infektioner fra doneret blod.¹

Påvisning af antistoffer mod HCV skelner ikke mellem aktive og tidligere infektioner. Derfor kræver algoritmer for HCV-laborietest diagnosticering af aktiv HCV-infektion hos antistofpositive personer gennem påvisning af HCV-RNA i plasma eller serum, inden behandling indledes (hvis den er nødvendig). Kvantitering af HCV-RNA (den virale belastning) anvendes nu rutinemæssigt til definition og monitorering af en vellykket HCV-behandling.

De aktuelle retningslinjer til håndtering og behandling af HCV-infektioner anbefaler kvantitativ HCV-RNA-testning, inden antiviral behandling indledes for at fastlægge baseline og 12 uger senere, efter at behandlingen er afsluttet. Nogle gange anbefales yderligere testtidspunkter. Målet for HCV-behandling er vedvarende virologisk respons (SVR), der defineres som manglende påvisning af HCV-RNA (med en analyse, der har en påvisningsgrænse på < 25 IE/ml) efter behandling.⁵⁻⁷ Nylige retningslinjer fra American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD (American Association for the Study of Liver Diseases) foreslår test for HCV-RNA ikke kun ved baseline, men også jævnligt i løbet af behandlingen (dvs. efter 4 uger) og efter 12 uger, når behandlingen er afsluttet. Test til påvisning af HCV-RNA bruges sammen med serologiske test til at identificere en aktiv HCV-infektion.⁶

PROCEDUREPRINCIPPER

NeuMoDx HCV Quant Assay kombinerer automatiseret RNA-ekstraktion, -amplifikation og -påvisning med realtids-RT-PCR. Prøver af fuldblod opsamles i EDTA-, ACD- eller PPT-rør til klargøring af plasma og/eller i SST-rør til klargøring af serum. Den primære (fraktionerede) blodprøve eller en plasma-/serumaliquot i et kompatibelt rør med sekundær prøve forsynes med strekcode og sættes på NeuMoDx System. NeuMoDx System aspirerer automatisk en alikvot af plasmaet/serummet til opblanding med NeuMoDx Lysis Buffer 3 og de reagenser, der er indeholdt i NeuMoDx Extraction Plate, for at starte behandlingen. NeuMoDx System automatiserer og integrerer RNA-ekstraktion og -koncentration, reagensklargøring og nukleinsyreamplifikation/påvisning af målsekvenser ved hjælp af realtids-PCR (RT-PCR). Den indeholdte prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC2) hjælper med at monitorere for forekomst af hæmmende stoffer og system-, proces- eller reagensfejl. Ingen operatørintervention er nødvendig, når prøven er isat i NeuMoDx System.

NeuMoDx System anvender en kombination af varme, lytisk enzym og ekstraktionsreagenser til automatisk at udføre lysis, RNA-ekstraktion og fjernelse af hæmmere. De frigivne nukleinsyrer fanges af paramagnetiske partikler. Partiklerne og bundet nukleinsyre sættes i NeuMoDx Cartridge, hvor de ubundne elementer vaskes væk med NeuMoDx Wash Reagent. Det bundne RNA elueres derefter med NeuMoDx Release Reagent.

NeuMoDx System anvender det eluerede RNA til at rehydrere egne NeuDry™-amplifikationsreagenser med alle de elementer, der er nødvendige for amplifikation af HCV- og SPC2-målene. Dette muliggør samtidig amplifikation og påvisning af både mål- og kontrol-RNA sekvenserne. Efter rekonstitution af de tørrede RT-PCR-reagenser dispenserer NeuMoDx System den klargjorte RT-PCR-klare blanding ind i ét PCR-kammer (pr. prøve) i NeuMoDx Cartridge. Revers transskription, amplifikation og påvisning af kontrollen og målsekvenserne (hvis disse findes) sker i PCR-kammeret. NeuMoDx Cartridge er designet til at indeholde amplikonet efter PCR, så risikoen for kontaminering efter amplifikation praktisk talt elimineres.

De amplificerede mål påvises i realtid med hydrolyseproteokemi (almindeligvis omtalt som TaqMan®-kemi) ved hjælp af fluorogene oligonukleotidproblemmolekyler, der er specifikke for amplikonerne for deres respektive mål. TaqMan-prober består af en fluorofor, der er kovalent sat på 5'-enden af oligonukleotidproben, og en quencher i 3'-enden. Mens proben er intakt, er fluoroforen og quencheren i nærheden af hinanden, hvilket gør quencher-molekylet i stand til at undertrykke den fluorescens, der udsendes af fluoroforen via Förster Resonance Energy Transfer (FRET).

TaqMan-prober er designet således, at de afhænder inden for en DNA-region, der er amplificeret af et specifikt sæt primere. Efterhånden som Taq DNA-polymerasen forlænger primeren og syntetiserer den nye streng, nedbryder Taq DNA-polymerasens 5' til 3'-eksonukleaseaktivitet den probe, der har afhæret til skabelonen. Nedbrydning af proben frigiver fluoroforen og bryder nærheden til quencheren, hvorved den quencheffekt, der skyldes FRET, ophæves, så det er muligt at påvise fluoroforen. Det resulterende fluorescerende signal, der registreres i NeuMoDx Systems kvantitative RT-PCR-termocycler, er direkte proportionelt med den frigivne fluorofor og kan korreleres til den mængde af målet, der er til stede.

En TaqMan-probe mærket med en fluorofor (Excitation: 490 nm og emission: 521 nm) ved 5'-enden og en mørk quencher ved 3'-enden anvendes til at påvise HCV RNA. Til påvisning af SPC2 mærkes TaqMan-proben med en anden fluorescerende farve (Excitation: 535 nm og emission: 556 nm) ved 5'-enden og en mørk quencher ved 3'-enden. NeuMoDx System-software monitorerer fluorescenssignalet, der udsendes af TaqMan-proberne ved slutningen af hver amplifikationscyklus. Når amplifikationen er færdig, analyserer NeuMoDx System-softwaren dataene og rapporterer et endeligt resultat (POSITIVE (positivt)/NEGATIVE (negativt)/INDETERMINATE (ubestemt)/UNRESOLVED (uafklaret)/NO RESULT (intet resultat)). Hvis et resultat er positivt, og den beregnede koncentration er inden for kvantiteringsgrænserne, viser NeuMoDx System-softwaren også en kvantitativ værdi, der er forbundet med prøven.

REAGENSER/FORBRUGSVARER

Medfølgende materiale

REF	Indhold	Enheder pr. pakke	Tests pr. enhed	Tests pr. pakke
300300	NeuMoDx HCV Quant Test Strip <i>Tørrede RT-PCR-reagenser med HCV- og SPC2-specifikke TaqMan-prober og primere</i>	6	16	96

Nødvendige materialer, der ikke medfølger (kan fås separat hos NeuMoDx)

REF	Indhold
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Tørrede paramagnetiske partikler, lytisk enzym og prøveproceskontroller</i>
800200 eller 800202	NeuMoDx HCV Calibrators <i>Høje og lave HCV-kalibratorsæt til engangsbrug til at fastlægge kalibreringskurvens gyldighed</i>
900201 eller 900202	NeuMoDx HCV External Controls <i>Positive og negative HCV-kontrolsæt til engangsbrug</i>
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 HCV Quant Test Strip er kun *in vitro*-diagnostisk brug med NeuMoDx Systems.
- Brug ikke reagenserne eller forbrugsvarerne efter den angivne udløbsdato.
- Brug ikke reagenserne, hvis sikkerhedsforseglingen er brudt, eller hvis emballagen er beskadiget ved modtagelsen.

- Anvend ikke forbrugsvarerne eller reagenserne, hvis den beskyttende pose er åben eller brudt ved modtagelsen.
- En gyldig testkalibrering (genereret ved at behandle høje og lave kalibratorer fra NeuMoDx HCV Calibrators) skal være tilgængelig, inden testresultaterne kan genereres for kliniske prøver.
- NeuMoDx HCV External Controls skal behandles med 24 timers mellemrum under testningen med NeuMoDx HCV Quant Assay.
- Mindste prøvevolumen af sekundære alikvoter afhænger af rørstørrelses-/prøverørsholder- og prøvevolumenbehandling som defineret nedenfor. Et volumen, der er lavere end den anførte minimumværdi, kan resultere i fejlen "Quantity Not Sufficient" (kvantitet ikke tilstrækkelig).
- Anvendelse af prøver, der har været opbevaret ved forkert temperatur eller i længere tid end den anførte opbevaringstid, kan resultere i ugyldige eller fejlbehæftede resultater.
- Undgå altid mikrobiel kontaminering og kontaminering med ribonuclease (RNase) af alle reagenser og forbrugsvarer. Det anbefales at bruge sterile RNase-fri overførselspipetter til engangsbrug, hvis der anvendes sekundære prøvetagningsrør. Anvend en ny pipette for hver prøve.
- Undgå at håndtere eller adskille en NeuMoDx Cartridge efter amplifikation for at undgå kontaminering. Opsaml under ingen omstændigheder NeuMoDx Cartridges fra opsamlingsbeholderen til biologisk farligt affald (NeuMoDx 288 Molecular System) eller beholderen til biologisk farligt affald (NeuMoDx 96 Molecular System). NeuMoDx Cartridge er designet til at forhindre kontaminering.
- I tilfælde, hvor laboratoriet også udfører PCR-tests på åbne rør, skal der udvises forsigtighed for at sikre, at NeuMoDx HCV Quant Test Strip, de yderligere forbrugsvarer og reagenser, der skal bruges til testning, personligt beskyttelsesudstyr som f.eks. handsker og laboratoriekitler og NeuMoDx System ikke er kontamineret.
- Der skal bruges rene, pulverfri nitrilhandsker ved håndtering af NeuMoDx-reagenser og -forbrugsvarer. Der skal udvises forsigtighed, så den øverste flade i NeuMoDx Cartridge, den folieforseglede flade i NeuMoDx HCV Quant Test Strip eller NeuMoDx Extraction Plate eller den øverste flade i NeuMoDx Lysis Buffer 3 ikke berøres. Håndtering af forbrugsvarerne og reagenserne må kun foregå ved at berøre sidefladerne.
- Sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) for hvert reagens (efter relevans) findes på www.qiagen.com/neumodx-ifu
- Vask hænderne grundigt, når testen er udført.
- Der må ikke pipetteres med munden. Der må ikke ryges, drikkes eller spises på områder, hvor der håndteres prøver eller reagenser.
- Prøver skal altid behandles som værende smittefarlige og i overensstemmelse med sikre laboratorieprocedurer som dem, der er beskrevet i *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁸ og i CLSI-dokument M29-A4.⁹
- Bortskaf ubrugte reagenser og affald i overensstemmelse med nationale, provinsielle, statslige og lokale bestemmelser.
- Må ikke genbruges.



PRODUKTOPBEVARING, -HÅNDTERING OG -STABILITET

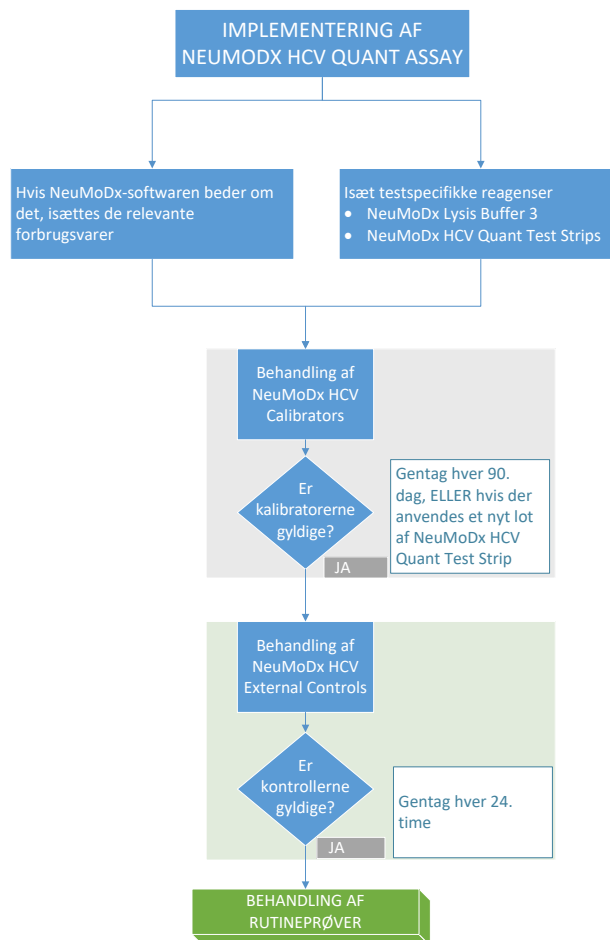
- NeuMoDx HCV Quant Test Strips er stabile i den primære emballage indtil den angivne udløbsdato på den umiddelbare produktetiket, når de opbevares ved 4-28 °C.
- Ingen forbrugsvarer og reagenser må anvendes efter den angivne udløbsdato.
- Et testprodukt må ikke anvendes, hvis den primære eller sekundære emballage er blevet synligt kompromitteret.
- Hvis et testprodukt tidligere har været sat i et andet NeuMoDx System, må produktet ikke anvendes igen.
- Når NeuMoDx HCV Quant Test Strip er isat, kan den forblive i NeuMoDx System i op til 14 dage. Den resterende holdbarhed for isatte teststrimler spores af softwaren og rapporteres til brugeren i realtid. Systemet beder brugeren om at fjerne en eventuel teststrimmel, der har været i brug ud over den tilladte periode.

PRØVEINDSAMLING, TRANSPORT OG OPBEVARING

1. Håndter alle prøver, kalibratorer og kontroller, som om de kan overføre smitstoffer.
2. Fuldblod eller prøver, der opbevares i primære rør, må ikke nedfryses.
3. Fuldblod skal opsamles i sterile rør, der indeholder EDTA eller ACD til antikoagulation, til klargøring af plasmaprøver, eller i rør til klargøring af plasma (Plasma Preparation Tubes, (PPT). Følg instruktionerne fra producenten af prøvetagningsrøret om klargøring og opbevaring.
4. Fuldblod skal opsamles i serumrør eller i SST-rør ved klargøring af serumprøver. Følg instruktionerne fra producenten af prøvetagningsrøret om klargøring og opbevaring.
5. Prøver kan testes i primære prøvetagningsrør eller sekundære prøverør. Anbefales ved testning af rør med primær prøve:
 - a. Plasmaprøver: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD #368589) eller BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
 - b. Serumprøver: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD #367820) eller BD Vacutainer SST™ Tube (BD #367988).
6. Klargjorte prøver kan opbevares i NeuMoDx System i op til 8 timer inden behandling. Hvis yderligere opbevaringstid er påkrævet, anbefales det, at prøverne enten nedkøles eller nedfryses i sekundære alikvoter.
7. Klargjorte prøver skal opbevares ved mellem 2-8 °C i maksimalt 7 dage før testning og i maksimalt 8 timer ved stuetemperatur.

8. Klargjorte prøver i sekundære rør kan opbevares ved $\leq -20^{\circ}\text{C}$ i op til 24 uger inden behandling. Frosne prøver må ikke udsættes for mere end to (2) cyklusser med frysning/optøning, inden de anvendes.
 - a. Plasmaprøver, som er frosne og gennemgår en (1) cyklus med frysning/optøning, kan opbevares i systemet i yderligere 8 timer.
 - b. Plasmaprøver, som er frosne og gennemgår to (2) cyklusser med frysning/optøning, må ikke opbevares i systemet i mere end 4 timer.
 - c. Serumprøver, som er frosne og gennemgår en (1) eller to (2) cyklusser med frysning/optøning, skal testes straks efter optøning.
 - d. Hvis prøverne fryses, skal de tøj helt op ved stuetemperatur ($15-30^{\circ}\text{C}$). Bland dem i vortexer for at få en ensartet fordeling i prøverne.
 - e. Det er ikke anbefalet at nedfryse plasma/serum i primære prøvetagningsrør.
9. Hvis prøverne sendes, skal de pakkes og mærkes i overensstemmelse med de gældende regler i landet og/eller internationale regler.
10. Mærk prøverne tydeligt, og angiv, at prøverne er til HCV-testning.
11. Fortsæt med afsnittet *Testklargøring*.

Den samlede proces for implementering af NeuMoDx HCV Quant Assay opsummeres nedenfor i *figur 1*.



Figur 1: Arbejdsgang for implementering af NeuMoDx HCV Quant Assay

BRUGSANVISNING

Testklargøring

NeuMoDx HCV Quant Assay kan køres direkte fra primære blodprøvetagningsrør eller fra prøvealiquoter i sekundære rør. Behandling kan foregå med et af to behandlingsworkflows for prøvevolumener – workflow for 550 μl prøvevolumen eller workflow for 200 μl prøvevolumen.

1. Sæt prøvestregkodeetiket på et prøverør, der er kompatibelt med NeuMoDx System. Det primære blodprøvetagningsrør kan forsynes med etiket og sættes direkte i en prøverørsholder med plads til 32 rør efterfulgt af centrifugering i henhold til producentens vejledning. Alternativt kan der overføres en aliquot af plasmaet til et sekundært rør med henblik på behandling på NeuMoDx System.

2. Hvis prøven skal testes i det primære prøvetagningsrør, skal du sætte røret med stregkode i en prøverørsholder og sørge for, at hæften er taget af, inden røret sættes i NeuMoDx System. Mindstevolumener **over** buffylag er defineret herunder og vil være opfyldt, hvis prøver opsamles og behandles i henhold til rørproducentens vejledning. Ydeevnen kan ikke garanteres for prøver, der er opsamlet ukorrekt.

Rørtype	Mindste nødvendige prøvevolumen	
	550 µl-workflow	200 µl-workflow
SST – 3,5 ml	1550 µl	1200 µl
PPT/SST – 5,0 ml	1800 µl	1450 µl
PPT/SST – 8,5 ml	2500 µl	2200 µl
K ₂ EDTA/serum – 4,0 ml	1050 µl	700 µl
K ₂ EDTA/serum – 6,0 ml	1250 µl	900 µl
K ₂ EDTA/serum – 10,0 ml	1600 µl	1250 µl

3. Ved anvendelse af et sekundært rør:
- Bland prøven forsigtigt i vortexer for at opnå en ensartet fordeling
 - Brug en ny overførselspipette til hver prøve, og overfør en alikvot af plasmatet eller serummet til et prøverør med stregkode, der er kompatibelt med NeuMoDx System, i henhold til nedenstående mængder:

Prøverørsholder	Rørstørrelse	Mindste nødvendige prøvevolumen	
		550 µl-workflow	200 µl-workflow
32-Tube Specimen Tube Carrier (prøverørsholder til 32 rør)	11-14 mm diameter gange 60-120 mm højde	700 µl	400 µl
24-Tube Specimen Tube Carrier (prøverørsholder til 24 rør)	14,5-18 mm diameter gange 60-120 mm højde	1100 µl	800 µl
Low Volume Specimen Tube Carrier (prøverørsholder med lavt volumen)	1,5 ml mikrocentrifugerør med konisk bund	650 µl	300 µl

- Der skal udvises forsigtighed, så eventuelle koaguler fra prøven ikke overføres til prøverøret.

Betjening af NeuMoDx System

Der står flere oplysninger i brugervejledningerne til NeuMoDx 288 og 96 Molecular System (P/N 40600108 og 40600317)

- Indtast testbestillingen i NeuMoDx System i henhold til det ønskede workflow for prøvevolumen og den ønskede type af prøverør.
 - 550 µl prøvevolumen testes ved at definere prøvetypen som "**Plasma**" eller "**Serum**"
 - 200 µl prøvevolumen testes ved at definere prøvetypen som "**Plasma2**" eller "**Serum2**"
 - Medmindre andet defineres i testbestillingen, bliver prøvetypen **Plasma** i et **Secondary Tube** (sekundært rør) anvendt som standard.
- Sæt NeuMoDx HCV Quant Test Strip(s) i ét eller flere NeuMoDx System Test Strip Carrier(s), og brug berøringskærmen til at sætte Test Strip Carrier(s) i NeuMoDx System.
- Hvis NeuMoDx System-softwaren beder om det, tilsættes de nødvendige påkrævede forbrugsvarer til NeuMoDx Systems holdere til forbrugsvarer, og berøringskærmen bruges til at sætte holderen/holderne i NeuMoDx System.
- Hvis NeuMoDx System-softwaren beder om det, skal du udskifte NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent. Primingaffaldet, opsamlingsbeholderen til biologisk farligt affald (kun NeuMoDx 288 Molecular System), beholderen til biologisk farligt spidsaffald (kun NeuMoDx 96 Molecular System) eller beholderen til biologisk farligt affald (kun NeuMoDx 96 Molecular System) tømmes efter behov.
- Hvis NeuMoDx System-softwaren beder om det, skal NeuMoDx HCV Calibrators og/eller NeuMoDx HCV External Controls behandles. Der er yderligere oplysninger vedrørende kalibratorer og kontroller i afsnittet *Resultatbehandling*.
- Sæt prøve-/kalibrator-/kontrolrør/-ne ind i en prøverørsholder, og sørg for, at hæfterne er taget af alle rør.
- Anbring prøverørsholderen/-ne på hylden til automatisk isætning, og brug berøringskærmen til at isætte holderen/-ne i NeuMoDx System. Derved startes behandlingen af de isatte prøver for de identificerede tests, forudsat at der er en gyldig testbestilling i systemet.

BEGRÆNSNINGER

1. NeuMoDx HCV Quant Test Strip kan kun anvendes i NeuMoDx Systems.
2. Ydeevnen for NeuMoDx HCV Quant Test Strip er blevet fastlagt for plasmaprøver, der blev klargjort med EDTA/ACD som antikoagulerende middel eller serumprøver, der blev klargjort i serumseparatorrør. Anvendelsen af NeuMoDx HCV Quant Test Strip sammen med andre kilder er ikke vurderet, og ydelseskarakteristika kendes ikke for andre prøvetyper.
3. Ydeevnen for NeuMoDx HCV Quant Test Strip er blevet fastlagt for testning af rør med primær prøve ved brug af BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tubes og BD PPT Plasma Preparation Tubes, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tubes og BD Vacutainer SST Tubes.
4. Prøvehåndtering uden for opbevaringsbetingelserne kan påvirke den kvantitative nøjagtighed hos NeuMoDx HCV Quant Assay negativt, men det er mindre sandsynligt, at det påvirker den kvalitative (positive/negative) udfaldsrate.
5. Opbevaring af serumprøver i system efter længere tids opbevaring i nedfrosset tilstand og gennemgang af to cyklusser med nedfrysning/optøning uden omgående test kan påvirke den kvantitative nøjagtighed hos NeuMoDx HCV Quant Assay negativt.
6. En svag stigning i påvisningsgrænsen og den laveste grænse for kvantitering af NeuMoDx HCV Quant Assay er blevet observeret, når workflowet for 200 µl prøvevolumen anvendes.
7. NeuMoDx HCV Quant Assay må ikke anvendes med prøver fra personer, der har fået blodfortyndende medicin.
8. Da påvisningen af HCV afhænger af antallet af virale mål-RNA-partikler, der er til stede i prøven, afhænger pålidelige resultater af korrekt prøveindsamling, håndtering og opbevaring.
9. NeuMoDx HCV Calibrators og NeuMoDx HCV External Controls skal behandles i henhold til anbefalingen i indlægssedlerne, når det angives af NeuMoDx System-softwaren, inden behandling af rutinemæssige kliniske prøver.
10. Der kan forekomme fejlbehæftede resultater fra forkert prøveindsamling, håndtering, opbevaring, tekniske fejl eller forveksling af prøverør. Desuden kan der forekomme falske negative resultater, fordi antallet af viruspartikler i prøven er lavere end påvisningsgrænsen i NeuMoDx HCV Quant Assay.
11. Kun personale, der er uddannet i brugen af NeuMoDx System, må betjene NeuMoDx System.
12. Hvis både HCV-målet og SPC2-målet ikke amplificeres, vil resultatet blive rapporteret som ugyldigt (Indeterminate (ubestemmeligt), No Result (intet resultat) eller Unresolved (uafklaret)), og testen skal gentages.
13. Hvis resultatet fra NeuMoDx HCV Quant Assay er Positive (positiv), men kvantiteringsværdien er under grænserne for kvantitering, vil NeuMoDx System rapportere, om det påviste HCV var *under* Lower Limit of Quantitation (LLoQ, nederste grænse for kvantitering) eller *over* Upper Limit of Quantitation (ULoQ, øverste grænse for kvantitering).
14. Hvis det påviste HCV var *under* LLoQ, kan NeuMoDx HCV Quant Assay gentages (hvis det ønskes) med en anden alikvot af prøven.
15. Hvis det påviste HCV var *over* ULoQ, skal NeuMoDx HCV Quant Assay gentages med en fortyndet alikvot af den oprindelige prøve. Det anbefales at anvende en fortynding på 1:100 eller 1:1000 i HCV-negativ plasma eller Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Koncentrationen af den oprindelige prøve beregnes som følger:

$$\text{koncentration af oprindelig prøve} = \log_{10}(\text{fortyndingsfaktor}) + \text{rapporteret koncentration af den fortyndede prøve}$$
16. Der kan af og til være en forekomst af PCR-hæmmere i plasma og serum, som kan føre til en kvantiteringsfejl i systemet. Hvis det sker, anbefales det at gentage testen med samme prøve fortyndet i Basematrix med 1:10 eller 1:100.
17. Et positivt resultat indikerer ikke nødvendigvis forekomsten af levedygtige organismer. Men et positivt resultat angiver, at det er sandsynligt, at der er hepatitis C-virus-RNA.
18. Deletion eller mutationer i de bevarede regioner, som NeuMoDx HCV Quant Assay er målrettet mod, kan få indflydelse på påvisningen eller føre til et fejlbehæftet resultat ved brug af NeuMoDx HCV Quant Test Strip.
19. Resultater fra NeuMoDx HCV Quant Assay skal anvendes som et supplement til kliniske observationer og andre oplysninger, der er tilgængelige for lægen. Testen er ikke beregnet til diagnosticering af infektion.
20. God laboratoriepraksis anbefales, herunder handskeskift mellem håndtering af patientprøver for at undgå kontaminering.

RESULTATBEHANDLING

Tilgængelige resultater kan vises eller udskrives fra fanen 'Results' (Resultater) i vinduet Results (Resultater) på NeuMoDx Systems berøringskærm. NeuMoDx HCV Quant Assay-resultater genereres automatisk af NeuMoDx System-softwaren ved hjælp af beslutningsalgoritmen og de parametre for resultatbehandling, der er angivet i NeuMoDx HCV Assay Definition File (HCV ADF). Et resultat kan rapporteres som Negative (negativt), Positive (positivt) med en rapporteret HCV-koncentration, Positive (positivt) over ULoQ, Positive (positivt) under LLoQ, Indeterminate (ubestemmeligt), No Result (intet resultat) eller Unresolved (uafklaret) baseret på målets og prøveproceskontrollens amplifikationsstatus. Resultater rapporteres ud fra ADF-beslutningsalgoritmen, som er opsummeret nedenfor i *Table 1*.

Table 1. Opsummering af beslutningsalgoritme for NeuMoDx HCV Quant Assay

RESULTAT	HCV-mål	Prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC2)	Fortolkning af resultat
Positive (positivt) med rapporteret koncentration	Amplified (amplificeret) $0,9 \leq [\text{HCV}] \leq 8,2 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (550 μl -workflow) $1,5 \leq [\text{HCV}] \leq 8,2 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (200 μl -workflow)	Amplified (amplificeret) eller Not Amplified (ikke amplificeret)	HCV-RNA påvist inden for kvantitativt område
Positive (positivt), over ULoQ	Amplified (amplificeret) $[\text{HCV}] > 8,2 \log_{10} \text{ IE/ml}$	Amplified (amplificeret) eller Not Amplified (ikke amplificeret)	HCV-RNA påvist over kvantitativt område
Positive (positivt), under LLoQ	Amplified (amplificeret) $[\text{HCV}] < 0,9 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (550 μl -workflow) $[\text{HCV}] < 1,5 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (200 μl -workflow)	Amplified (amplificeret) eller Not Amplified (ikke amplificeret)	HCV-RNA påvist under kvantitativt område
Negative (Negativt)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Amplified (amplificeret)	HCV RNA ikke påvist
Indeterminate (ubestemmeligt)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (ikke amplificeret, systemfejl registreret, prøvebehandling fuldført)		Alle målresultater var ugyldige – test prøven igen†
No Result* (Intet resultat)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (ikke amplificeret, systemfejl registreret, prøvebehandling afbrudt)		Prøvebehandlingen blev afbrudt – test prøven igen†
Unresolved (uafklaret)	Not Amplified, No System Error Detected (Ikke amplificeret, Ingen systemfejl registreret)		Alle målresultater var ugyldige – test prøven igen†

*Flagmarkeringen No Result (intet resultat) rapporteres kun på NeuMoDx System softwareversion 1.8 og højere.

†NeuMoDx System har en automatisk funktion til Rerun (ny kørsel)/Repeat (gentag), som slutbrugeren kan vælge for at sikre, at et IND (UBEST.)/UNR (UAFKL.)/NR (INTET RES.) resultat automatisk genbehandles for at sikre så hurtige resultater som muligt.

Testberegning

- For prøver, der ligger inden for kvantiteringsområdet for NeuMoDx HCV Quant Assay, beregnes koncentrationen af HCV-RNA i prøverne ved hjælp af den gemte standardkurve sammen med kalibreringskoefficienten og prøvevolumen.
 - Der beregnes en kalibreringskoefficient ud fra resultaterne fra de behandlede NeuMoDx HCV Calibrators for at fastlægge gyldigheden af standardkurven for et givet lot af NeuMoDx HCV Quant Test Strip på et bestemt NeuMoDx System.
 - Kalibreringskoefficient indgår i den endelige bestemmelse af koncentrationen af HCV-RNA.
 - NeuMoDx Software tager højde for anvendt prøvevolumen ved bestemmelse af koncentrationen af HCV-RNA pr. ml prøve.
- NeuMoDx HCV Quant Assay-resultaterne rapporteres i \log_{10} IE/ml.
- Den deraf følgende kvantitering af de ukendte prøver er sporbar i henhold til WHO 5th HCV International Standard.

Testkalibrering

En gyldig kalibrering baseret på standardkurven er nødvendig for at kvantitere HCV-RNA i prøverne. For at generere gyldige resultater skal der gennemføres en testkalibrering med de eksterne kalibratorer, der er leveret af NeuMoDx Molecular, Inc.

Kalibratorer

- Der skal behandles et sæt NeuMoDx HCV Calibrators med hvert nyt lot af NeuMoDx HCV Quant Test Strips, hvis en ny HCV Assay-definitionsfil uploades i NeuMoDx System, hvis det aktuelle kalibratorsæt har overskredet gyldighedstiden (i øjeblikket indstillet til 90 dage), eller hvis NeuMoDx System-softwaren ændres.
- NeuMoDx System-softwaren vil informere brugeren om, hvornår kalibratorerne skal behandles. Et nyt lot teststriper kan ikke bruges til testning, før behandlingen af kalibratorerne er gennemført.
- Kalibreringens gyldighed fastlægges efter følgende metode:
 - Et sæt med to kalibratorer – én (1) høj og én (1) lav – skal behandles for at fastlægge gyldigheden.

- b) Mindst to (2) ud af de tre (3) replikater skal give resultater inden for på forhånd definerede parametre. Det nominelle mål for den lave kalibrator er $3 \log_{10}$ IE/ml, og det nominelle mål for den høje kalibrator er $5 \log_{10}$ IE/ml.
 - c) Der beregnes en kalibreringskoefficient for at tage højde for forventet variation mellem teststrimmellot. Denne kalibreringskoefficient bruges til bestemmelse af den endelige HCV-koncentration.
4. Hvis gyldighedskontrollen ikke lykkes for den ene eller begge kalibratorer, skal behandlingen af den eller disse kalibrator(er) gentages med et nyt hætteglas. Hvis gyldigheden ikke er som ønsket for en kalibrator, er det muligt kun at gentage denne kalibrator, da systemet ikke kræver, at brugeren skal køre begge kalibratorer igen.
 5. Hvis gyldighedskontrollen gentagne gange i træk ikke lykkes for kalibratoren/kalibratorene, skal du kontakte NeuMoDx Molecular, Inc.

Kvalitetskontrol

Lokale bestemmelser angiver typisk, at laboratoriet er ansvarligt for kontrolprocedurer, der monitorerer nøjagtighed og præcision for hele den analytiske proces og skal dokumentere antal, type og hyppighed for testkontrolmaterialer ved hjælp af verificerede ydelsesspecifikationer for et umodificeret, godkendt testsystem.

Eksterne kontroller

1. Der skal behandles positive og negative eksterne kontroller med 24 timers mellemrum under testningen med NeuMoDx HCV Quant Assay. Hvis resultaterne for et sæt gyldige eksterne kontroller ikke findes, vil NeuMoDx System-softwaren bede brugeren om, at behandle kontroller, inden prøveresultaterne kan rapporteres.
2. Gyldigheden af eksterne kontroller vil blive vurderet af NeuMoDx System baseret på det forventede resultat. Den positive kontrol bør give et HCV-positivt resultat, og den negative kontrol bør give et HCV-negativt resultat.
3. Et afvigende resultat for eksterne kontroller håndteres som følger:
 - a) Et Positive (positivt) testresultat, der rapporteres for en negativ kontrolprøve, angiver et problem med kontamination af en prøve.
 - b) Et Negative (negativt) testresultat, der rapporteres for en positiv kontrolprøve, kan indikere, at der er et problem i forbindelse med et reagens eller et instrument.
 - c) I begge ovenstående tilfælde eller i tilfælde af et Indeterminate (IND) (ubestemmeligt) eller No Result (NR) (intet resultat) skal NeuMoDx HCV External Controls gentages med friske hætteglas for den/de kontrol(ler), hvor gyldighedstesten ikke lykkedes.
 - d) Hvis der fortsat rapporteres et Negative (negativt) resultat for en positiv NeuMoDx HCV External Control, skal du kontakte teknisk service hos NeuMoDx.
 - e) Hvis der fortsat rapporteres et Positive (positivt) resultat for en negativ NeuMoDx HCV External Control, skal du forsøge at eliminere alle kilder til en mulig kontaminering, herunder at udskifte alle reagenser, inden du kontakter teknisk service hos NeuMoDx.

(Interne) prøveproceskontroller

Der er indbygget en eksogen prøveproceskontrol (Sample Process Control, SPC2) i NeuMoDx Extraction Plate, og denne bliver udsat for hele processen med nukleinsyreekstraktion og RT-PCR-amplifikation i realtid sammen med hver prøve. Desuden indeholder hver NeuMoDx HCV Quant Test Strip primere og probe, der er specifikke for SPC2, så SPC2 kan påvises sammen med mål-HCV-RNA (hvis dette er til stede) via multiplex-RT-PCR i realtid. Påvisning af SPC2-amplifikation gør det muligt for NeuMoDx System-softwaren at monitorere effekten af RNA-ekstraktions- og RT-PCR-amplifikationsprocesserne.

Ugyldige resultater

Hvis en NeuMoDx HCV Quant Assay, der er udført i NeuMoDx System, ikke leverer et gyldigt resultat efter afsluttet prøvebehandling, rapporteres den som enten Indeterminate (IND) (ubestemmeligt), No Result (NR) (intet resultat) eller Unresolved (UNR) (uafklaret) baseret på den fejltipe, der fandt sted.

IND (ubestemmeligt) rapporteres som resultat, hvis der registreres en NeuMoDx System-fejl under prøvebehandling. Hvis IND (ubestemmeligt) rapporteres som resultat, anbefales en omtest.

UNR (uafklaret) vil blive rapporteret som resultat, hvis der ikke påvises en gyldig amplifikation af HCV-RNA eller SPC2, og der ikke samtidig er systemfejl, hvilket angiver en mulig reagensfejl eller forekomst af hæmmere. Hvis UNR (uafklaret) rapporteres som resultat, anbefales en omtest som første trin. Hvis omtesten ikke lykkes, kan der anvendes en fortyndet prøve for at dæmpe virkningen af en eventuel prøveinhibering.

Hvis en NeuMoDx HCV Quant Assay foretaget på NeuMoDx System ikke giver et gyldigt resultat, og prøvebehandlingen afbrydes inden færdiggørelse, rapporteres der et No Result (NR) (intet resultat). Hvis NR (intet resultat) rapporteres som resultat, anbefales en omtest.

YDELSESKARAKTERISTIKA

Analytisk sensitivitet – påvisningsgrænse i henhold til standarden fra WHO

Den analytiske sensitivitet i NeuMoDx HCV Quant Assay blev beskrevet gennem test af negative prøver og en fortyndingsserie af WHO 5th International Standard (genotype 1) i screenet negativt humant plasma og serum for at bestemme påvisningsgrænsen (Limit of Detection, LoD) i NeuMoDx System. LoD blev defineret som det laveste målniveau, der blev påvist ved 95 % som bestemt ved probitanalyse. Studiet blev foretaget i løbet af 3 dage i flere systemer med flere lot af NeuMoDx-reagenser. Hvert system (N288 og N96) behandlede 18 replikater på hvert fortyndingsniveau pr. dag. Påvisningsrater er afbildet i *tabel 2*. Et supplerende studie blev foretaget for at bestemme LoD for NeuMoDx HCV Quant Assay ved anvendelse af workflow for 200 µl prøvevolumen, og disse resultater kan ses i *tabel 3*.

Tabel 2. Positive påvisningsrater til LoD-bestemmelse af NeuMoDx HCV Quant Assay – workflow med 550 µl

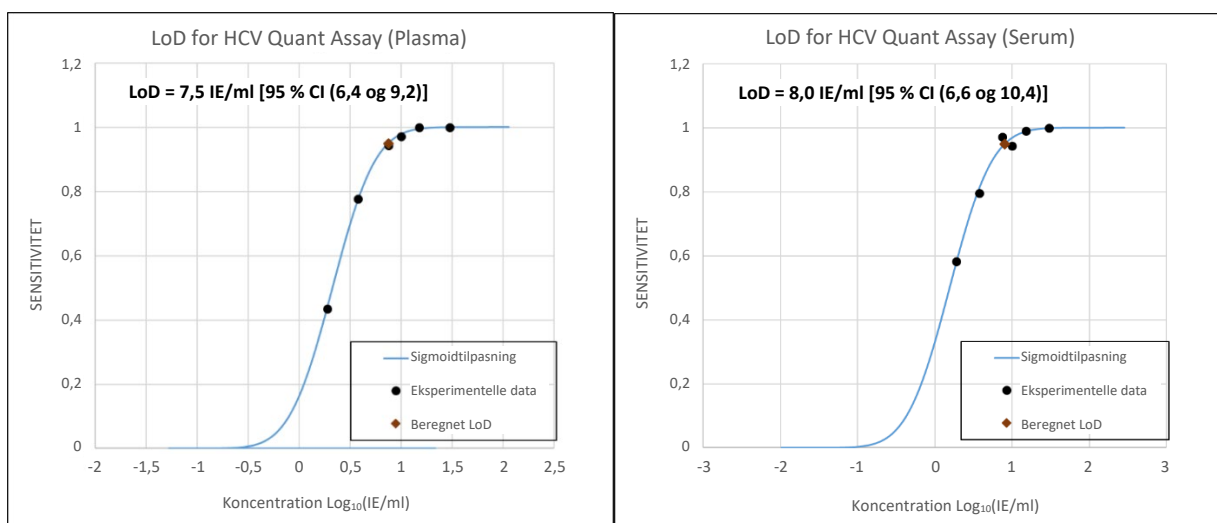
Målkonzentration [IE/ml]	Målkonzentration [\log_{10} IE/ml]	PLASMA			SERUM		
		Antal gyldige tests	Antal positive	Påvisningsrate	Antal gyldige tests	Antal positive	Påvisningsrate
30	1,48	108	108	100 %	108	108	100 %
15	1,18	108	108	100 %	108	107	99 %
10	1,00	108	105	97 %	108	102	94 %
7,5	0,88	108	102	94 %	108	105	97 %
3,75	0,57	108	84	78 %	108	86	80 %
1,875	0,27	108	47	44 %	108	63	58 %
NEG	0	108	0	0 %	107	1	0,93 %

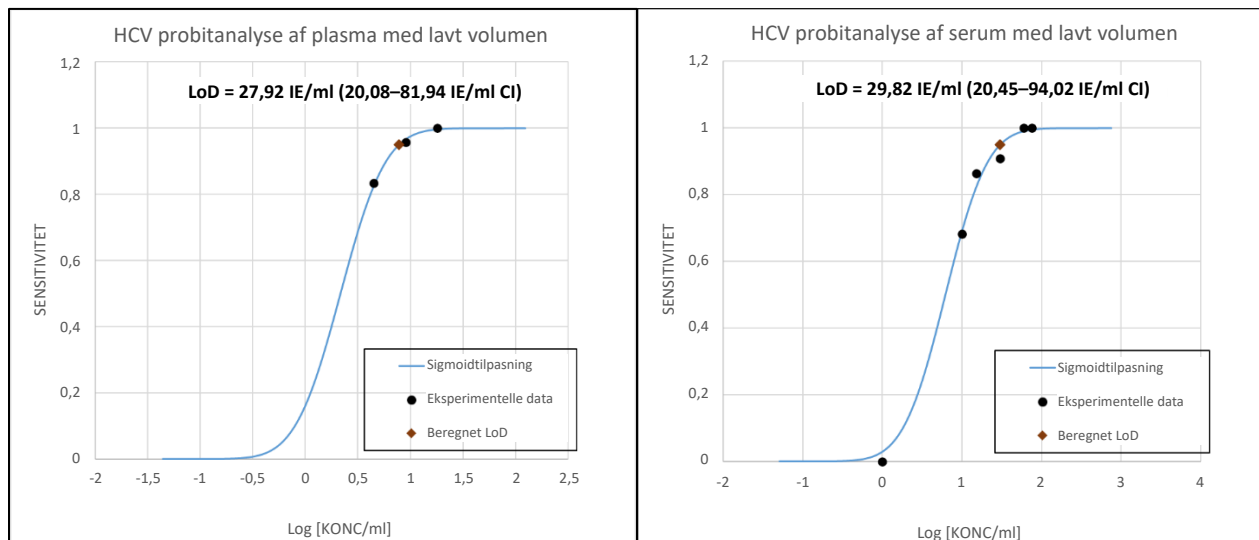
Tabel 3. Positive påvisningsrater til LoD-bestemmelse af NeuMoDx HCV Quant Assay – workflow med 200 µl

Målkonzentration [IE/ml]	Målkonzentration [\log_{10} IE/ml]	PLASMA			SERUM		
		Antal gyldige tests	Antal positive	Påvisningsrate	Antal gyldige tests	Antal positive	Påvisningsrate
75	1,88	ikke relevant	ikke relevant	ikke relevant	22	22	100 %
60	1,78	22	22	100 %	22	22	100 %
30	1,48	22	21	95,5 %	22	20	90,9 %
15	1,18	22	17	77,3 %	22	19	86,4 %
10	1,00	22	13	59,1 %	22	15	68,2 %
NEG	0	22	0	0 %	22	0	0 %

LoD for NeuMoDx HCV Quant Assay i plasma for alle genotyper blev bestemt til at være 7,5 IE/ml (95 % CI 6,4 til 9,2 IE/ml) [(0,9 \log_{10} IE/ml) (95 % CI 0,8 til 1,0 \log_{10} IE/ml)] som testet i NeuMoDx 288 Molecular System med brug af workflow for 550 µl prøvevolumen (*figur 2*). LoD for NeuMoDx HCV Quant Assay for serumprøver blev bestemt til at være 8,0 IE/ml (95 % CI 6,6 til 10,4 IE/ml) [(0,9 \log_{10} IE/ml) (95 % CI 0,8-1,0 \log_{10} IE/ml)] med brug af workflow for 550 µl prøvevolumen (*figur 2*); hævdet LoD for begge prøvetyper ved brug af workflow for 550 µl prøvevolumen er **8,0 IE/ml (0,9 \log_{10} IE/ml)**.

LoD for NeuMoDx HCV Quant Assay med brug af workflow for 200 µl prøvevolumen blev påvist at være 27,9 IE/ml (95 % CI 20,1-81,9) i plasmaprøver og 29,8 IE/ml (95 % CI 20,5-94,0) i serumprøver (*figur 3*); hævdet LoD for begge prøvetyper med brug af workflow for 200 µl prøvevolumen er **30,0 IE/ml (1,5 \log_{10} IE/ml)**.


Figur 2: Probitanalyse anvendt til bestemmelse af LoD for NeuMoDx HCV Quant Assay, plasma (venstre) og serum (højre) – workflow med 550 µl



Figur 3: Probitanalyse anvendt til bestemmelse af LoD for NeuMoDx HCV Quant Assay, plasma (venstre) og serum (højre) – workflow med 200 µl

Analytisk sensitivitet – kvantiteringsgrænse – nederste grænse for kvantitering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) i henhold til standarden fra WHO

Den nederste grænse for kvantitering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) defineres som det laveste målniveau, hvor >95 % påvisning opnås OG TAE ≤ 1,0. For at bestemme LLoQ blev analytiske fejl i alt (Total Analytical Error, TAE) beregnet for hver af de HCV-målniveauer, der var vist i rapporterne med > 95 % påvisning som en del af LoD-beregningen. TAE defineres som følger:

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

Biasen er den absolutte værdi af differencen mellem den beregnede koncentration og den forventede koncentration. SD refererer til standardafvigelsen af den kvantificerede værdi af prøven.

En samlet præsentation af resultaterne for de 6 niveauer af HCV-plasmaprøver og HCV-serumprøver, der blev testet i LLoQ-studiet ved hjælp af genotype 1 med brug af workflow for 550 µl prøvevolumen vises i *tabel 4*. Resultater fra yderligere testning med brug af workflow for 200 µl vises i *tabel 5*.

Tabel 4. NeuMoDx HCV Quant Assay LLoQ med bias og TAE – workflow på 550 µl

Målkonc. [IE/ml]	Målkonc. [log ₁₀ IE/ml]	Plasma					Serum				
		Gennemsnitlig konc. [log ₁₀ IE/ml]	Påvisning (%)	SD	Bias	TAE	Gennemsnitlig konc. [log ₁₀ IE/ml]	Påvisning (%)	SD	Bias	TAE
30,00	1,48	1,41	100	0,32	0,07	0,71	1,39	100	0,30	0,08	0,69
15,00	1,18	1,24	100	0,36	0,06	0,79	1,23	99	0,32	0,06	0,70
10,00	1,00	1,07	97	0,35	0,07	0,77	1,14	94	0,36	0,14	0,85
7,50	0,88	1,01	94	0,44	0,13	1,02	1,12	97	0,25	0,25	1,09
3,75	0,57	1,08	78	0,43	0,51	1,38	1,17	80	0,58	0,59	1,76
1,88	0,27	1,11	44	0,36	0,83	1,55	1,11	58	0,69	0,84	2,22

Tabel 5. NeuMoDx HCV Quant Assay LLoQ med bias og TAE – workflow på 200 µl

Målkonc. [IE/ml]	Målkonc. [log ₁₀ IE/ml]	Plasma					Serum				
		Gennemsnitlig konc. [log ₁₀ IE/ml]	Påvisning (%)	SD	Bias	TAE	Gennemsnitlig konc. [log ₁₀ IE/ml]	Påvisning (%)	SD	Bias	TAE
75	1,88	ikke relevant	ikke relevant	ikke relevant	ikke relevant	ikke relevant	1,56	100	0,23	0,32	0,78
60	1,78	1,93	100	0,39	0,15	0,93	1,56	100	0,27	0,22	0,76
30	1,48	1,35	96	0,44	0,11	0,99	1,45	91	0,41	0,03	0,85
15	1,18	1,37	77	0,42	0,18	1,03	1,36	86	0,53	0,18	1,25
10	1,00	1,26	59	0,56	0,25	1,36	1,15	68	0,53	0,15	1,21

LLOQ for NeuMoDx HCV Quant Assay er påvist at være 7,7 IE/ml (0,9 log₁₀ IE/ml) for plasma og 8,4 IE/ml, (0,9 log₁₀ IE/ml) for serum med brug af workflow for 550 µl prøvevolumen; LLOQ for både plasma og serum blev påvist at være 8,4 IE/ml (0,9 log₁₀ IE/ml) ved brug af workflow for 550 µl prøvevolumen. **8.4 IU/mL (0.9 log₁₀ IU/mL)** using the 550 µL specimen volume workflow.

LLOQ for NeuMoDx HCV Quant Assay i henhold til standarden fra WHO er påvist at være 30,0 IE/ml (1,5 log₁₀ IE/ml) for plasma og 29,8 IE/ml, (1,37 log₁₀ IE/ml) for serum med brug af workflow for 200 µl prøvevolumen; LLOQ for både plasma og serum er påvist at være **30,0 IE/ml (0.9 log₁₀ IE/ml)** med brug af workflow for 200 µl prøvevolumen.

Analytisk sensitivitet – LoD og LLOQ for alle HCV-genotyper

LoD blev først fastlagt for genotype 1 (5th WHO International Standard), og derefter blev der udført yderligere tests omkring den fastlagte LoD, hvor hver enkelt af de andre 5 genotyper blev anvendt. Seksogtredive (36) replikater på niveauer svarende til 2, 1 og 0,5 gange den øverste grænse med 95 % CI for LoD blev testet ved hjælp af NeuMoDx HCV Quant Assay med brug af workflow for 550 µl prøvevolumen. Den positive procentdel for hver genotype på hver af disse testede niveauer blev opstillet i tabeller og brugt til at beregne LoD ved hjælp af en probitanalyse.

Analytisk fejl i al på disse testede niveauer blev ligeledes beregnet. Det laveste niveau med 95 % positiv påvisning og beregnet TAE på ≤ 1,0 blev igen betragtet som LLOQ for genotypen. Disse resultater bekræfter, at NeuMoDx HCV Quant Assay har fremragende og lignende ydeevne ved påvisning hos alle seks genotyper inden for et område på 4,5 – 7,5 IE/ml, inklusive de resultater, der er opnået hos 5th WHO International Standard (genotype 1). Overordnet set blev LoD for NeuMoDx HCV Quant Assay hos alle genotyper påvist at være 7,5 IE/ml (0,88 log₁₀ IE/ml), og LLOQ blev påvist at være den højeste værdi, som er 7,7 IE/ml (0,9 log₁₀ IE/ml), som også blev rapporteret ved 5th WHO International Standard (genotype 1, ovenfor). I *tabel 6* vises LoD- og LLOQ-resultaterne for test i plasma fra alle HCV-genotyper.

Tabel 6. HCV-genotyper testet i plasma med brug af workflow for 550 µl prøvevolumen

GENOTYPE	LoD [IE/ml]	LLOQ [IE/ml]
1	7,5	7,7
2	4,5	5,2
3	7,5	7,5
4	6,0	6,0
5	4,8	5,5
6	4,5	6,7

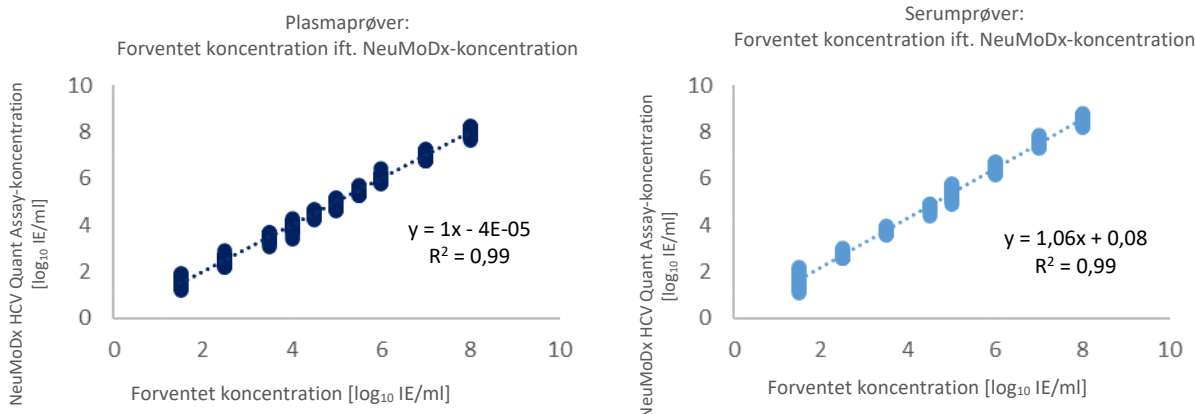
Baseret på resultatet af disse studier hævder NeuMoDx en **LoD på 8,0 IE/ml (0,9 log₁₀ IE/ml)** og en **LLOQ på 8,4 IE/ml (0,9 log₁₀ IE/ml)** for NeuMoDx HCV Quant Assay i **plasma og serum** med **workflow for 550 µl prøvevolumen**.

Den hævdede **LoD og LLOQ** for NeuMoDx HCV Quant Assay for **begge prøvetyper (plasma og serum)** med brug af workflow for 200 µl prøvevolumen blev påvist at være 30,0 IE/ml (1,5 log₁₀ IE/ml). **the 200 µL specimen volume workflow is 30.0 IU/mL (1.5 log₁₀ IU/mL).**

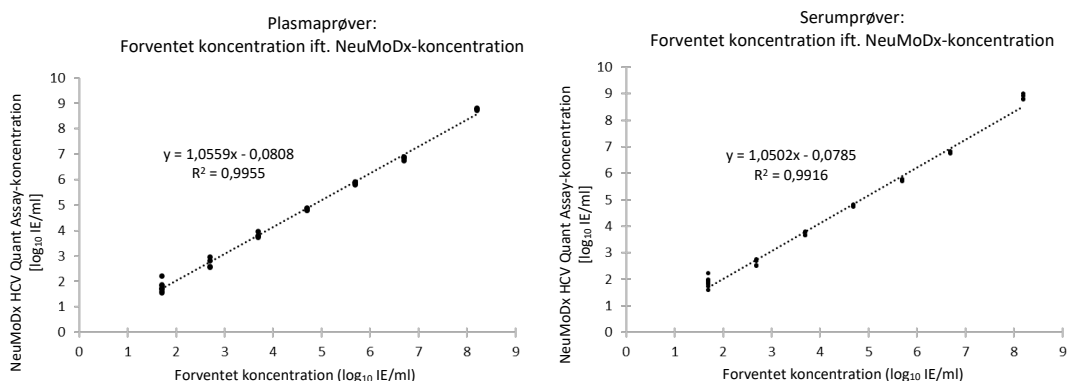
Analytisk sensitivitet – Linearitet og bestemmelse af øverste grænse for kvantitering (Upper Limit of Quantitation, ULOQ)

Lineariteten og den øvre kvantificeringsgrænse (ULOQ) i NeuMoDx HCV Quant Assay blev fastlagt i plasma ved at klargøre en fortyndingsserie ved hjælp af HCV Armored RNA® (Asuragen Inc., Austin, TX) og AcroMetrix™ High Control HCV (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) med en sporbarhed, der er fastsat i henhold til 5th WHO International Standard. Et panel med 11 elementer blev klargjort i poollet HCV-negativ plasma for at oprette et panel, der ville dække et koncentrationsområde på 8,2 – 1,5 log₁₀ IE/ml. NeuMoDx HCV Quant Assay påviste evnen til at kvantitere HCV for alle 8 log₁₀ lineære områder med en nøjagtighed på ±0,3 log₁₀ IE/ml baseret på standardfejlen beregnet med 95 % konfidensinterval. Der blev ikke opnået en fordel ved at bruge regressionstilpasninger i 2. og 3. række. ULOQ i plasma blev bestemt til at være 8,2 log₁₀ IE/ml. Et efterfølgende studie blev udført for at påvise matrixækvivalensen, og analysen sammenlignede de kvantitative resultater fra NeuMoDx HCV for prøver, der var klargjort i plasma og serum, ved hjælp af to forskellige regressionstilpasningsmodeller, blandt andet regressionsværktøjet i MS Excel og Passing-Bablok. Resultaterne viste en tydelig korrelation, der var angivet med hældnings- og interceptværdier, der lå meget tæt på henholdsvis 1,00 og 0,00, og en R²-værdi på 0,99 (regressionsværktøj i MS Excel) eller en p-værdi på 0,600 (Passing-Bablok). De HCV-analysekoncentrationer, der blev rapporteret fra NeuMoDx System, sammenlignet med de forventede værdier, er vist i *Figur 4*.

Linearitet og ULOQ blev derefter evalueret med brug af workflow for 200 µl prøvevolumen. Ækivalenssammenligninger blev udført mellem de koncentrationer, der blev rapporteret fra NeuMoDx Software for workflows for 200 µl og 550 µl. Deming- og Passing-Bablok-regressionsanalysen viste fremragende korrelation og en hældning tæt på 1 og mindsteskæringspunkter (bias) for de rapporterede koncentrationer af både plasma- og serumprøver i det lineære område. En Bland-Altman-sammenligning af den rapporterede koncentration for workflowet for 200 µl prøvevolumen med den rapporterede middelværdikoncentration for workflows for både 200 µl og 550 µl prøvevolumen viste minimal bias, idet nøjagtigheden tilskrives den anvendte algoritme til at generere resultater fra workflowet for 200 µl. Derudover havde en enkel lineær regression med sammenligning af den forventede koncentration med den rapporterede koncentration for workflowet for 200 µl en hældning tæt på 1, hvilket viser fremragende korrelation (*figur 5*). Samlet set viser disse sammenligninger nøjagtig kvantitering af HCV over det lineære område for NeuMoDx HCV Quant Assay med brug af workflowet for 200 µl prøvevolumen.



Figur 4: Lineært område for plasma i NeuMoDx HCV Quant Assay (venstre) og serum (højre) – workflow med 550 µl



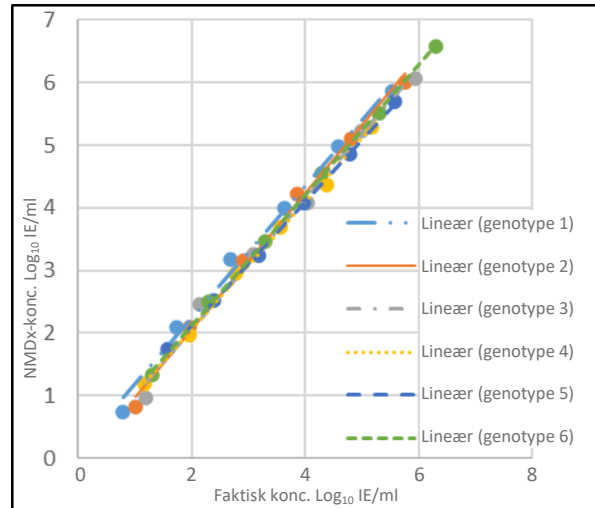
Figur 5: Lineært område for plasma i NeuMoDx HCV Quant Assay (venstre) og serum (højre) – workflow med 200 µl

Analytisk sensitivitet – Linearitet for alle genotyper

Lineariteten for NeuMoDx HCV Quant Assay i alle seks HCV-genotyper blev beskrevet gennem testning af mindst fire (4) forskellige koncentrationer af hver genotype af HCV, der var klargjort i poollet HCV-negativt plasma. De testede niveauer af HCV-målene, der blev testet i dette studie, afhang af koncentrationen af kildeprøven og varierede derfor for de forskellige genotyper. Studiet blev udført med hver genotype, hvor der blev brugt 6 replikater på hvert niveau. Lineariteten for alle seks HCV-genotyper er vist i *tabel 7* og *figur 6*.

Tabel 7. Linearitet for NeuMoDx HCV Quant Assay for alle genotyper

Genotype	Linearitetsligning y = kvantitering i NeuMoDx HCV Assay x = forventet kvantitering	R ²
1	y = 1,054x + 0,1325	0,979
2	y = 1,0792x - 0,0748	0,985
3	y = 1,0423x - 0,0439	0,981
4	y = 1,0158x + 0,0292	0,973
5	y = 0,9873x + 0,1524	0,994
6	y = 1,0393x + 0,0396	0,997



Figur 6: Linearitet for NeuMoDx HCV Quant Assay for alle genotyper

Analytisk specificitet – krydsreaktivitet

Der blev påvist analytisk specificitet gennem screening af 33 organismer, der er almindeligt forekommende i blod-/plasma prøver, samt arter, der fylogenetisk svarer til HCV med hensyn til krydsreaktivitet. Organismene blev klargjort i pools af 4 til 6 organismer hver og testet ved en høj koncentration. De testede organismer er vist i *tabel 8*. Der sås ingen krydsreaktivitet med nogen af de testede organismer, hvilket bekræfter 100 % analytisk specificitet for NeuMoDx HCV Quant Assay.

Tabel 8. Patogener, der blev anvendt til at påvise analytisk specificitet

Ikke-målorganismer						
Adenovirus 2	Dengue V1	Hepatitis A	Human immunodefektvirus-2	Humant T-lymfotrop virus 1	Propionibacterium acnes	Vestnilvirus
Adenovirus 5	Dengue V2	Hepatitis B	Humant papillomavirus 16	Humant T-lymfotrop virus 2	Rubella	Gul feber
Candida albicans	Dengue V3	Herpes simplex virus (HSV) 1	Humant papillomavirus 18	Influenza A	St. Louis-encefalitisvirus	Zikavirus
Chlamydia trachomatis	Dengue V4	Herpes simplex virus (HSV) 2	Humant herpesvirus 6b	Neisseria gonorrhoeae	Staphylococcus aureus	
Cytomegalovirus	Epstein-Barr-virus	Human immunodefektvirus-1	Humant herpesvirus 8	Parvovirus B19	Staphylococcus epidermidis	

Analytisk specificitet – interfererende stoffer, kommensale organismer

NeuMoDx HCV Quant Assay blev vurderet for interferens ved forekomst af ikke-målorganismer, hvor de samme organismepools blev brugt, som dem der var klargjort til test for krydsreaktivitet i listen ovenfor i *tabel 8*. Negativt HCV-plasma fik tilsat de organismer, der var poollet i grupper på 4-6, samt en HCV-positiv kontrol i en koncentration på 1,4 log₁₀ IE/ml. Der sås ingen signifikant interferens ved forekomst af disse kommensale organismer, som angivet i kraft af den minimale afvigelse i kvantiteringen i forhold til kontrolprøverne, som ikke indeholdt interfererende stoffer.

Analytisk specificitet – interfererende stoffer, endogene og eksogene stoffer

NeuMoDx HCV Quant Assay blev vurderet ved forekomst af de typiske eksogene og endogene interfererende stoffer, der findes i kliniske HCV-plasma prøver. Disse omfattede unormalt høje niveauer af blodkomponenter samt almindelige antivirale lægemidler, som blev klassificeret i *tabel 9*. Hvert stof blev tilføjet i screenet HCV-negativt humant plasma, der havde fået tilsat 1,7 log₁₀ IE/ml HCV, og prøverne blev analyseret for interferens. Desuden blev plasma i almindelige sygdomsstadier, der blev forbundet med hepatitis C-infektion, også testet for mulig interferens. Den gennemsnitlige koncentration og bias for alle testede stoffer rapporteres i *tabel 10*. Ingen af de eksogene og endogene stoffer påvirkede specificiteten i NeuMoDx HCV Quant Assay.

Tabel 9. Interferenstest – eksogene midler (klassificeret som lægemidler)

	Produkt	Klassifikation		Produkt	Klassifikation
Pool 1	Sofosbuvir	Direkte virkende HCV-antiviralt middel	Pool 2	Paritaprevir	HCV NS3/4A-proteasehæmmer
	Ledipasvir	HCV-hæmmer		Ombitasvir	HCV-antiviralt middel
	Velpatasvir	HCV NS5A-hæmmer		Ritonavir	HIV-proteasehæmmer
	Clarithromycin	Antibiotika		Abacavirsulfat	Revers transkriptasehæmmer
	Interferon alfa-2a	Immunmodulator		Ribavirin	Immunmodulator
Pool 3	Grazoprevir	HCV NS3/4A-proteasehæmmer	Pool 4	Efavirenz	Revers transkriptasehæmmer
	Elbasvir	HCV NS5A-hæmmer		Lopinavir	Proteasehæmmer
	Tenofoviridisoproxil	HBV/HIV-antiviralt middel		Azithromycin	Antibiotika
	Lamivudin	HBV/HIV-antiviralt middel		Dolutegravir	HIV-antiviralt middel
	Valganciclovir	CMV-antiviralt middel		Simeprevir	HCV NS3/4A-proteasehæmmer
Pool 5	Emtricitabin	HIV-antiviralt middel			
	Raltegravir	HIV-antiviralt middel			
	Amoxicillin	Antibiotika			
	Rilpivirin	HIV-antiviralt middel			
	Dasabuvir	Direkte virkende HCV-antiviralt middel			
	Glecaprevir	HCV NS3/4A-proteasehæmmer			

Tabel 10. Interferenstest – eksogene og endogene midler

Endogene	Gennemsnitlig konc. \log_{10} IE/ml	Bias \log_{10} IE/ml
Hæmoglobin	1,61	0,28
Triglycerider	1,31	-0,02
Bilirubin	1,47	0,14
Albumin	1,47	0,14
Eksogene (lægemidler)	Gennemsnitlig konc. \log_{10} IE/ml	Bias \log_{10} IE/ml
Pool 1: Zidovudin (ZDV), saquinavir, ritonavir, clarithromycin, interferon alfa-2a, interferon alfa-2b	1,48	0,15
Pool 2: Abacavirsulfat, amprenavir, ribavirin, entecavir, fluoxetin, valganciclovirhydrochlorid	1,40	0,07
Pool 3: Tenofoviridisoproxil, lamivudin, ganciclovir, valganciclovir, nevirapin	1,40	0,07
Pool 4: Efavirenz, lopinavir, enfuvirtid, ciprofloxacin, paroxetin	1,51	0,18
Pool 5: Adefovir (dipivoxil), azithromycin, indinavirsulfat, sertralin	1,40	0,07
Sygdomsstadie	Gennemsnitlig konc. \log_{10} IE/ml	Bias \log_{10} IE/ml
Antinukleært antistof (ANA)	1,53	0,18
Systemisk lupus erythematosus (SLE)	1,29	-0,06
Rheumatoid arthritis	1,39	0,04
HBV-antistoffer	1,45	0,10
Alkoholisk cirrose	1,43	0,08
Rheumatoid faktor	1,43	0,08
Ikke-alkoholisk steatohepatitis (Non-Alcoholic Steatohepatitis, NASH)	1,32	-0,03

Præcision i laboratoriet

Præcisionen for NeuMoDx HCV Quant Assay blev bestemt ved at teste et panel med 7 elementer med HCV-prøver, der er klargjort (dækker både HCV Armored RNA og AcroMetrix HCV Control), hvor tre NeuMoDx Systems blev anvendt over 12 dage. Præcisionen inden for samme analyse, inden for samme dag og med samme system blev beskrevet, og den samlede standardafvigelse blev bestemt til at være $\leq 0,26 \log_{10}$ IE/ml. Der blev ikke fundet nogen signifikant forskel i ydeevnen uanset valg af systemer, dage eller kørsler som vist i *Table 9*. Præcisionen fra operatør til operatør blev ikke beskrevet, da operatøren ikke har nogen særlig indflydelse på behandlingen af prøver i NeuMoDx System.

Table 11. Præcision af NeuMoDx HCV Quant Assay i NeuMoDx System på samme laboratorium

	Målkonc. [log ₁₀ IE/ml]	Gns. konc. [log ₁₀ IE/ml]	SD inden for systemet	SD i løbet af en dag	SD inden for kørsel	Standardafvigelse inden for laboratorium (samlet)
ARMORED	6	5,95	0,17	0,13	0,10	0,17
	5	4,87	0,20	0,14	0,12	0,20
	3	2,89	0,19	0,17	0,17	0,19
ACROMETRIX	4,4	4,45	0,12	0,10	0,08	0,13
	3,4	3,45	0,12	0,12	0,11	0,13
	2,4	2,41	0,17	0,15	0,15	0,17
	1,4	1,40	0,26	0,25	0,25	0,24

Lot til lot-reproducerbarhed

Reproducerbarheden fra lot til lot for NeuMoDx HCV Quant Assay blev bestemt ved at anvende tre forskellige lot med vigtige reagenser – NeuMoDx Lysis Buffer 3, NeuMoDx Extraction Plates og NeuMoDx HCV Quant Test Strips. Et HCV-panel med 7 elementer (hvori både HCV Armored RNA og AcroMetrix HCV Control indgik) blev anvendt til at vurdere ydeevnen. Der blev udført tests med tre reagenslot på tre systemer i løbet af 6 dage. Variationen inden for et lot og fra lot til blev analyseret, og resultaterne præsenteret i *table 12*. Maksimal samlet bias var $0,24 \log_{10}$ IE/ml, og maksimal samlet standardafvigelse var $0,33 \log_{10}$ IE/ml. Der blev ikke fundet nogen signifikant forskel i ydeevnen i alle lot, da kvantiteringen af alle panelelementer var inden for specifikationen for tolerancen.

Table 12. Reproducerbarhed fra lot til lot – NeuMoDx HCV Quant Assay

	Målkonc. [log ₁₀ IE/ml]	Middelværdi for konc. Samlet [log ₁₀ IE/ml]	n (Gyldige resultater pr. lot)	ABS. BIAS	Standardafvigelse fra lot til lot	Standardafvigelse inden for lot	Samlet standardafvigelse
ARMORED	6	5,76	36	0,24	0,35	0,13	0,37
	5	4,84	36	0,16	0,16	0,22	0,27
	3	2,81	36	0,19	0,31	0,16	0,35
ACROMETRIX	4,4	4,35	36	0,05	0,21	0,11	0,24
	3,4	3,31	36	0,09	0,17	0,11	0,20
	2,4	2,33	36	0,07	0,24	0,13	0,27
	1,4	1,38	36	0,02	0,23	0,13	0,33

Effektivitet for kontrol

SPC2 indgår i NeuMoDx HCV Quant Assay for at rapportere fejl i processtrin eller hæmning, der påvirker analysens resultater. Virkningen blev testet under forhold, der er repræsentative for kritiske processtrinfejl, der muligvis kunne opstå under prøvebehandlingen, og som *måske ikke blev påvist* af de sensorer, der monitorerer NeuMoDx Systems ydeevne. Positive ($3 \log_{10}$ IE/ml) og negative prøver blev udfordret med tilstedeværelse af en kontrol under følgende forhold: forekomst af hæmmer, intet vaskereagens og ingen vaskeudblæsning. Ineffektivitet i processen, der havde en negativ indvirkning på HCV-påvisningen/kvantiteringen af det virale mål, blev reflekteret i resultaterne for SPC2-målet som vist i *table 13*. I alle udgaver af testen blev det påvist, at enten monitorerede prøveproceskontrollen ikke ineffektivitet i processen og forekomsten af hæmmere tilstrækkeligt, eller den forventede ineffektivitet i processen havde hverken tilstrækkelig indvirkning på SPC2-påvisningen eller HCV-påvisningen og kvantiteringen. Derfor blev det fastslået, at SPC2 havde en tilfredsstillende effekt med hensyn til monitorering af analysens ydeevne i NeuMoDx System.

Tabel 13. Effekt af proceskontrol af prøve

Testet fejl i processtrin	Status for amplifikation af proceskontrol af prøve	Status for amplifikation af HCV-mål	Analyseresultat
Presence of Inhibitor (forekomst af hæmmer)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Unresolved (uafklaret)
No Wash Delivered (ingen vasketilsætning)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Not Amplified (ikke amplificeret)	Unresolved (uafklaret)
No Wash Blowout (ingen vaskeudblæsning)	Amplified (amplificeret)	Amplified (amplificeret)	Positive (positiv) med kvantificering inden for 0,3 log ₁₀ IE/ml af kontrol

Gyldige resultater i procent

En retrospektiv analyse af de data, der blev indhentet under vurderingen af ydeevnen af NeuMoDx HCV Quant Assay i NeuMoDx System blev brugt til at bestemme gyldige resultater i procent. Gyldige testresultater vil være angivet som Positive eller Negative. Ugyldige testresultater vil være rapporteret som enten Indeterminate (ubestemmelige) (IND) eller Unresolved (uafklarede) (UNR) baseret på målets og prøveproceskontrollens amplifikationsstatus. Et IND-kald forårsages typisk af en instrumentfejl og fører til en fejl i målet og/eller til amplifikation af en intern proceskontrol. Et UNR-kald tildeles prøverne, når amplifikation af både målet og den interne proceskontrol ikke lykkes, og der ikke er påvist et instrumentsvigt. Der indgik 1.962 individuelle NeuMoDx HCV Quant Assay-resultater i den retrospektive analyse, som omfattede data indhentet fra både serum og plasmaprøver på både NeuMoDx 288 System og NeuMoDx 96 System. Forekomsten af UNR blev bestemt til 0,61 %, (12 ud af 1962), og forekomsten af IND blev bestemt til 0,41 % (8 ud af 1962), hvilket opfylder godkendelseskriteriet for analysen. Derfor blev det konkluderet, at gyldige resultater i procent for NeuMoDx HCV Quant Assay for alle kliniske matricer og i alle NeuMoDx Systems var 99,0 % med 95 % CI (98,4-99,3).

Krydskontaminering

Krydskontamineringen for NeuMoDx HCV Quant Assay blev bestemt ved at teste tre sæt HCV-prøver, der havde skiftevis høje positive og negative prøver. I alt involverede dette test af 144 replikater af en HCV-negativ human prøve og 144 replikater af en HCV-prøve med høj titer på 8,2 Log₁₀ IE/ml. Alle 144 replikater af den negative prøve blev rapporteret som negative, hvilket viser at der ikke var nogen krydskontaminering under behandlingen af prøverne i NeuMoDx System.

Ækvivalens af prøvematrix

Testningen blev udført for at påvise ækvivalensen mellem prøvematrix og fuldblod opsamlet i både opsamlingsrør med ethylendiaminetetraeddikesyre (Ethylendiaminetetraacetic acid, EDTA) og opsamlingsrør med acid-citrate-dextrose (ACD) til klargøring af plasma. Der blev udført yderligere test for at bestemme ækvivalensen mellem friske og frosne plasmaprøver (opsamlet i de to typer af rør) samt mellem friske og frosne serumprøver. De friske prøver blev opbevaret ved 4 °C, indtil de fik tilsat fire niveauer af HCV og blev testet for ækvivalens. Derefter blev prøverne frosset ned i mindst 24 timer ved -20°C. Efter forløbet af denne tid med opbevaring i nedfrosset tilstand, blev prøverne tøet og omtestet. Resultaterne fra test med frisk vs. frosset serum og plasma samt fra EDTA- vs. ACD-plasmaprøver blev sammenlignet for at fastslå ækvivalens via en regressionsanalyse. Dataene viser, at der er fremragende ækvivalens mellem EDTA- og ACD-prøver, friske og frosne plasmaprøver og mellem friske og frosne serumprøver.

Der blev foretaget yderligere testning for at påvise ækvivalens af NeuMoDx HCV Quant Assay-ydeevnen med primære prøver vs. sekundære prøver. Først blev paneler bestående af HCV-negative donorprøver tilsat HCV-mål (AccuPlex™ Recombinant HCV Control) og HCV-positive donorprøver behandlet fra rørene med primær prøve. Efter behandling af rør med primær prøve blev det resterende plasma eller serum fra hver prøve overført til et rør til sekundær prøve og behandlet på ny. I de rapporterede resultater blev der ikke fundet nogen signifikant forskel mellem behandling af rør med hhv. primær og sekundær prøve.

Sammenligning af kliniske metoder

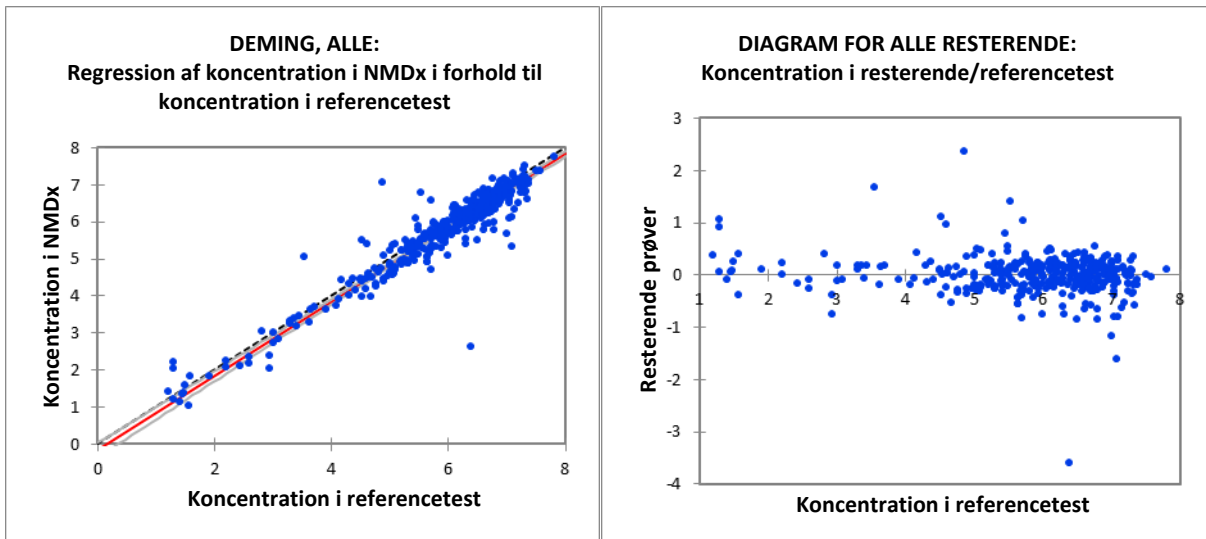
Den kvalitative og kvantitative ydeevne for NeuMoDx HCV Quant Assay blev vurderet i forhold til komparatoranalyser, der er godkendt af FDA/CE, ved at teste uforyndede kliniske prøver fra HCV-inficerede patienter. Testningen blev udført internt i NeuMoDx i et enkeltblindet studie af afidentificerede, resterende kliniske prøver, der blev indhentet fra seks eksterne referencelaboratorier. I alt blev 323 plasmaprøver og 336 serumprøver behandlet ved hjælp af NeuMoDx HCV Quant Assay i en (enkelt) blindet test på alle de forskellige NeuMoDx Molecular Systems. Af disse prøver blev 35 plasmaprøver og 13 serumprøver behandlet på BÅDE NeuMoDx 288 Molecular System og NeuMoDx 96 Molecular System. Nogle af de prøver, der gav resultatet INVALID (ugyldig) kunne ikke behandles igen, fordi der ikke var nok prøver til rådighed.

De behandlings- og systemfejl, der opstod i de forskellige NeuMoDx Molecular Systems, var minimale og opfyldte kriterierne. I starten var der i alt 4 resultater med angivelsen Indeterminate (ubestemmelig (ubestemmelig) (IND) for plasmaprøver og 4 IND-resultater for serumprøver, hvilket resulterede i, at i starten var der samlet set 1 % (95 % CI 0,5 %-3 %) IND-resultater for plasma og 1 % (95 % CI 0,4 %-3 %) for serum. I alt 3 resultater med angivelsen UNRESOLVED (uafklaret) (UNR) resultater blev først opnået for plasmaprøver, og 5 UNR blev opnået for serumprøver, hvilket gav en samlet rate på 1 % (95 % CI 0,2 %-3 %) for plasma og 1 % (95 % CI 0,6 %-4 %) for serum.

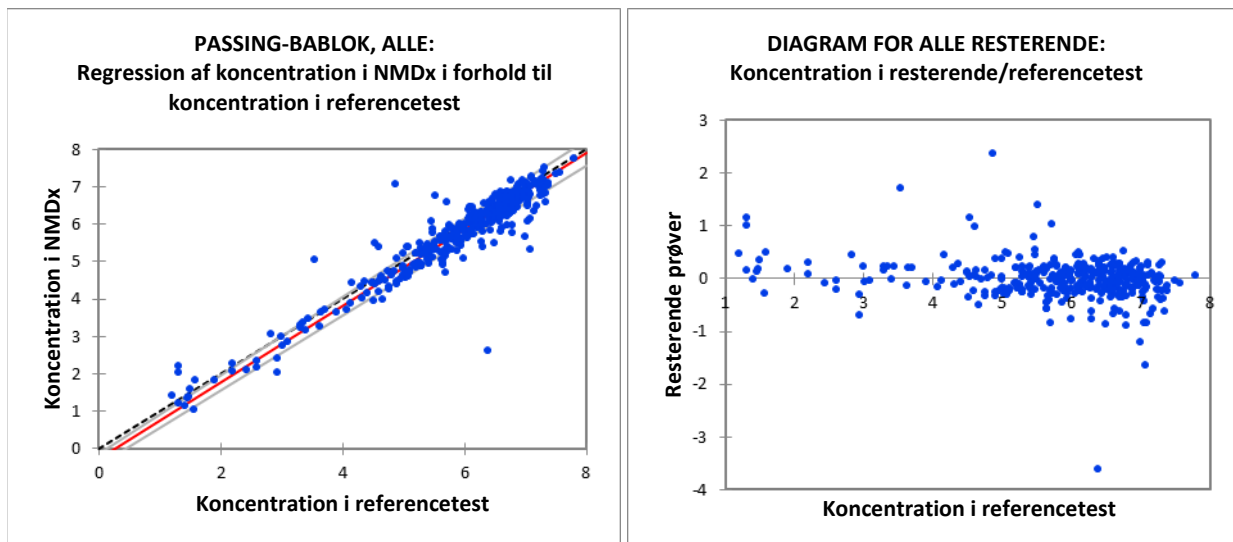
Testen blev gentaget for de prøver, der gav ugyldige resultater (IND/UNR) eller "Quantitation Error" (kvantiteringsfejl), når den resterende volumen var tilstrækkelig. Der blev udført et fortyndingstrin på nogle prøver for at give gyldige resultater. Af de 13 prøver, der havde tilstrækkelig volumen til at blive gentaget, (fortyndede ELLER rene) blev der opnået gyldige resultater.

Af de 321 gyldige resultater, der blev opnået for plasmaprøver, og de 334 gyldige resultater, der blev opnået for serumprøver, blev 206 plasmaprøver og 154 serumprøver rapporteret POSITIVE af NeuMoDx HCV Quant Assay, og tilsvarende koncentrationsværdier blev tildelt via referencetestene. Deming-regressionsanalyse og Passing-Bablok-regressionsanalyse blev anvendt til at fastslå korrelationen mellem koncentrationsværdierne fra NeuMoDx HCV Quant Assay og de værdier, der blev rapporteret fra referencetest for både plasma- og serumprøver.

Der blev genereret diagrammer over ækvivalensen for at vise korrelationen mellem NeuMoDx HCV Quant Assay-koncentrationer og referencetest-koncentrationsværdier for alle prøver, der blev testet ved hjælp af Deming-regressionstilpasning og Passing-Bablok-tilpasning, er vist i *figur 7* og *figur 8*. Kvaliteten af Deming-regressionstilpasningen illustreres med en hældningskoefficient på 1,00 med en 95 % CI (0,97, 1,03) og en intercept (bias) på -0,16 med en 95 % CI (-0,37, 0,06), hvilket viser, at de opnåede resultater for koncentrationen fra NeuMoDx HCV Quant Assay i forhold til referencetestene har en høj grad af korrelation og en acceptabel bias. Kvaliteten af den lineære tilpasning med Passing-Bablok illustreres med en hældningskoefficient på 1,02 med en 95 % CI (0,99, 1,05) og en intercept (bias) på -0,28 med en 95 % CI (-0,43,-0,14), hvilket viser, at de opnåede resultater for koncentrationen fra NeuMoDx HCV Quant Assay i forhold til referencetestene har en høj grad af korrelation og en acceptabel bias som vist i *tabel 14*.



Figur 7: Grafer for ækvivalens (til venstre) og rest (til højre – kumuleret analyse (for begge NeuMoDx Systems)) af resultater af NeuMoDx HCV Quant Assay sammenlignet med referencetestresultater for ALLE prøver, baseret på Deming-regressionsanalyse.



Figur 8: Grafer for ækvivalens (til venstre) og rest (til højre – kumuleret analyse (for begge NeuMoDx Systems)) af resultater af NeuMoDx HCV Quant Assay sammenlignet med referencetestresultater for ALLE prøver, baseret på Passing Bablok-regressionsanalyse.

Tabel 14. Oversigt over lineær regressionsanalyse med Deming og Passing-Bablok

	Deming-analyse		Passing-Bablok-analyse	
	Intercept	Hældningskoefficient	Intercept	Hældningskoefficient
KUMULERET (Alle plasma- + serumprøver)	- 0,16 95 % CI (-0,37,0,06)	1,00 95 % CI (0,97,1,03)	- 0,28 95 % CI (-0,43,-0,14)	1,02 95 % CI (0,99,1,05)

Af de 655 gyldige resultater, der blev opnået for plasma- og serumprøver ved hjælp af NeuMoDx HCV Quant Assay, blev 361 rapporteret som positive fra referencetestene for HCV, og 294 blev rapporteret som negative. Sensitiviteten og specificiteten for NeuMoDx HCV Quant Assay blev beregnet med dataene fra alle de kliniske prøver, der var gyldige i sammenligningen med referencetesten, og som præsenteres samlet i *tabel 15*. Af de 361 positive prøver, der blev testet, blev 360 også rapporteret som positive ved hjælp af NeuMoDx HCV Quant Assay, som gav en sensitivitet på 99,7 % med 95 % CI (98,2 %-100 %). Af de 294 negative prøver, der blev testet, blev 271 også rapporteret som negative ved hjælp af NeuMoDx HCV Quant Assay, som gav en sensitivitet på 92,2 % med 95 % CI (88,3 %-94,9 %).

Ækivalensen af NeuMoDx HCV Quant Assay blev påvist gennem resultater med en høj grad af korrelation i analysens ydeevne i NeuMoDx 288 Molecular System, NeuMoDx 96 Molecular System og referencetest af både plasma- og serumprøver.

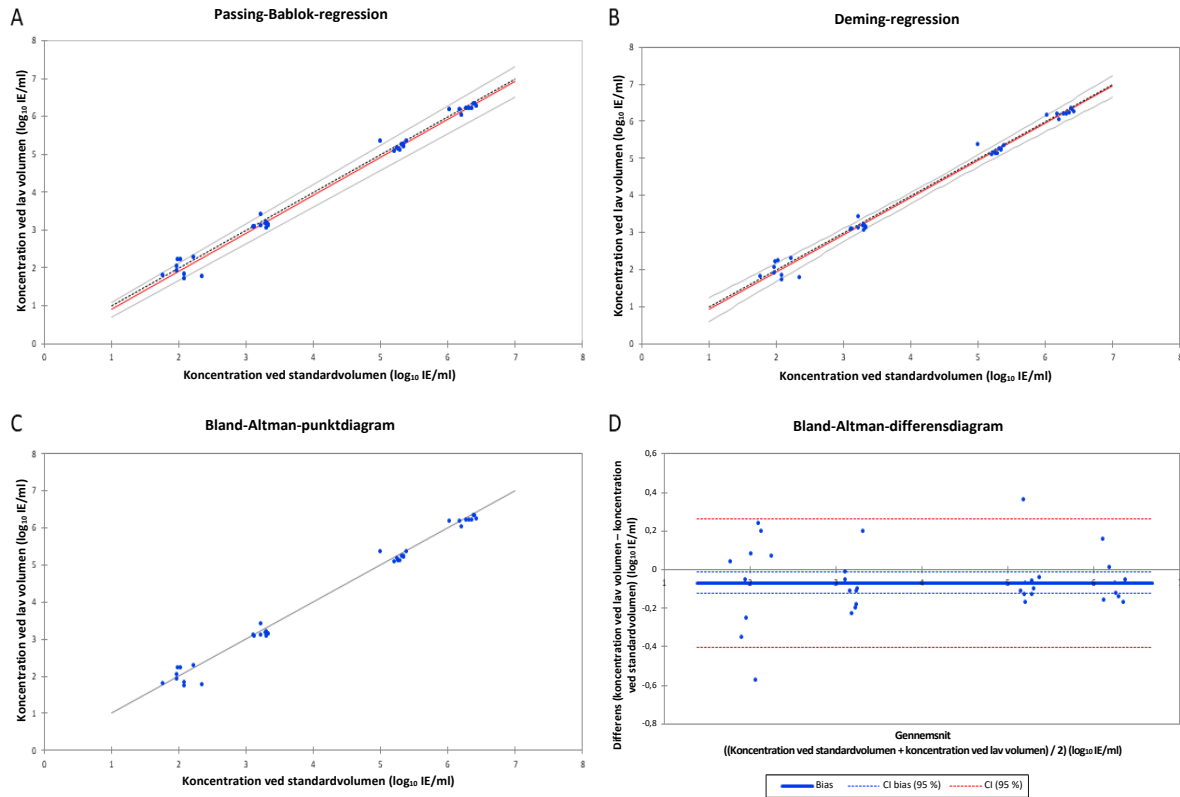
Tabel 15. Resultater af sammenligning af kvalitative metoder med NeuMoDx HCV Quant Assay sammenlignet med referencetest – plasma og serum

	Referenceanalyse (POS)	Referenceanalyse (NEG)	I ALT
NeuMoDx HCV Quant Assay (POS)	360	23	383
NeuMoDx HCV Quant Assay (NEG)	1	271	272
I ALT	361	294	655
SENSITIVITET = 99,7 % 95 % CI (98,2 %-100 %)			
SPECIFICITET = 92,2 % 95 % CI (88,3 %-94,9 %)			

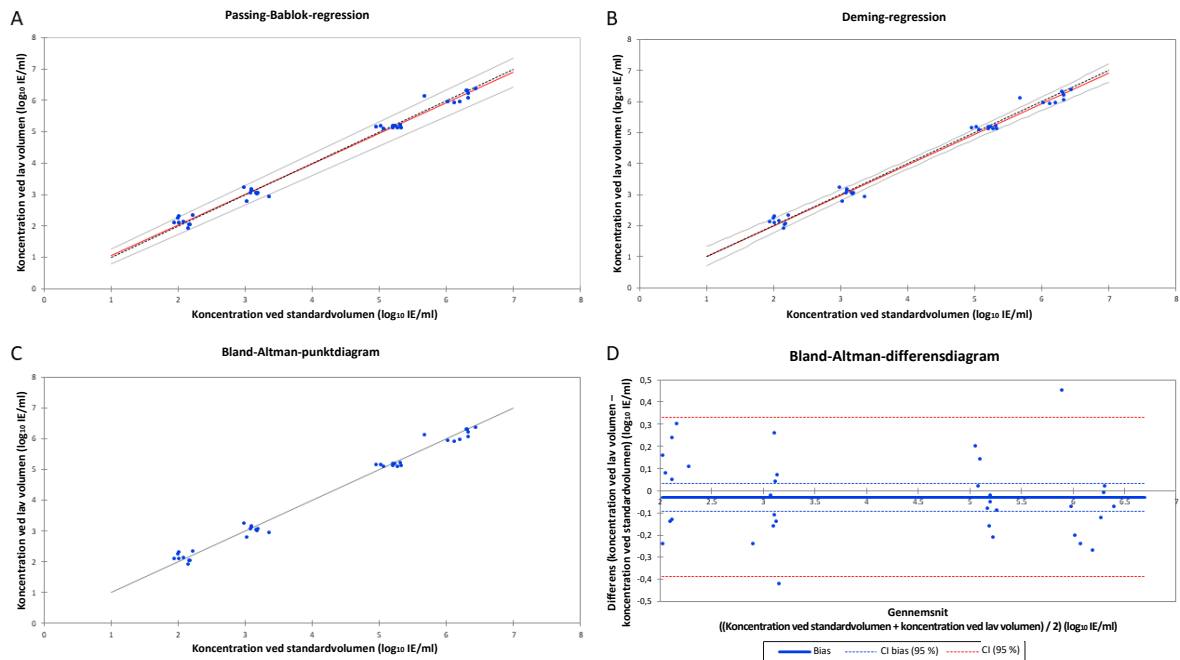
***BEMÆRK:** LLoQ for NeuMoDx HCV Quant Assay er 0,9 Log₁₀ IE/ml, hvilket er lavere end den komparatoranalyse, der blev brugt som referencetest. Bagefter blev der udført en analyse uden 9 prøver, hvor HCV var påvist i NeuMoDx, men var rapporteret som negative i komparatoranalysen. Når disse 9 prøver blev udelukket, blev specificiteten i NeuMoDx HCV Quant Assay genberegnet til at være 95,1 % med 95 % CI (91,7-97,2).

Test af konstruerede prøver – workflow med 200 µl prøvevolumen

Kvantitativ korrelation mellem workflow med hhv. 200 µl og 550 µl blev bekræftet ved hjælp af et panel bestående af individuelle HCV-negative plasma- og serumprøver tilsat fire kendte mængder Accuplex HCV-kontrolmateriale med sporbarhed til 5th WHO International Standard for HCV RNA for nukleinsyrestet. Disse individuelle plasma- og serumprøver blev behandlet med workflow for 550 µl og 200 µl prøvevolumen ved et samlet antal udførte test på 324. Ækivalenssammenligninger af de koncentrationer, som NeuMoDx Software rapporterede for workflow med 200 µl og 550 µl prøvevolumen med det konstruerede panel, blev foretaget på basis af individuelle prøver. Deming- og Passing-Bablok-regressionsanalysen viste en hældning på 1,003 og 1,000 med skæringspunkter ved -0,082 og -0,085 i plasma og 0,974 og 0,984 med skæringspunkter ved 0,086 og 0,037 i serum, hvilket viser fremragende konkordans for HCV-kvantificeringer mellem de to workflows for behandlingsvolumener. En Bland-Altman-sammenligning viste minimal bias mellem de to workflow. Enkle lineære regressionsanalyser med den forventede koncentration og den rapporterede koncentration for workflowet med 200 µl havde desuden en hældning på 1,0432 og en korrelationskoefficient på 0,994 (plasma) og 1,0007 og 0,993 (serum), hvilket yderligere understøtter den fremragende ydelse for workflowet med 200 µl prøvevolumen og NeuMoDx HCV Quant Assay. Resultaterne af disse studier er opsummeret herunder i *figur 9* og *figur 10*.



Figur 9: Sammenligninger af ækvivalensgrafer med rapporteret koncentration for workflowet for 200 µl prøvevolumen med rapporteret koncentration for workflowet for 550 µl prøvevolumen. A) Passing-Bablok-regression. B) Deming-regression. C) Bland-Altman-punktdiagram D) Bland-Altman-differensdiagram – plasma-prøver



Figur 10: Sammenligninger af ækvivalensgrafer med rapporteret koncentration for workflowet for 200 µl prøvevolumen med rapporteret koncentration for workflowet for 550 µl prøvevolumen. A) Passing-Bablok-regression. B) Deming-regression. C) Bland-Altman-punktdiagram D) Bland-Altman-differensdiagram – serumprøver

REFERENCER














1. Rachel H. Westbrook, Geoffrey Dusheiko. Natural history of hepatitis C. *Journal of Hepatology Update: Hepatitis C*, Volume 61, Issue 1, Supplement, November 2014, Pgs S58-S68.
2. Annual Epidemiological Report for 2016, Hepatitis C, European Centre for Disease Prevention and Control. *Hepatitis C*. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2016. Stockholm: ECDC; 2018. (<https://www.cdc.gov/hepatitis/statistics/2016surveillance/pdfs/2016HepSurveillanceRpt.pdf>)
3. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2017; 2: 161–76.
4. Surveillance for Viral Hepatitis – United States, 2016, CDC. <https://www.cdc.gov/hepatitis/statistics/2016surveillance/index.htm>
5. Diagnosis and management of hepatitis C virus-infected children. Javeri R. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2011;30(11):983 – 985.
6. American Association for the Study of Liver Disease (AASLD) and Infectious Disease Society of America (IDSA), HCV Guidance: Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C, Sept 21, 2017. (www.hcvguidelines.org)
7. Centers for Disease Control (CDC), Testing for HCV Infection: An Update of Guidance for Clinicians and Laboratorians Recommendations and Reports MMWR / Vol. 62 / May 7, 2013.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014


VAREMÆRKER

NeuMoDx™ og NeuDry™ er varemærker, der tilhører NeuMoDx Molecular, Inc.
 AcroMatrix™ er et varemærke, der tilhører Thermo Fisher Scientific.
 Armored RNA® er et registreret varemærke, der tilhører Asuragen, Inc.
 BD Vacutainer® er et registreret varemærke, der tilhører Becton, Dickinson and Company
 BD, PPT™ og SST™ er varemærker, der tilhører Becton, Dickinson and Company
 TaqMan® er et registreret varemærke, der tilhører Roche Molecular Systems, Inc.


Alle andre produktnavne, varemærker og registrerede varemærker, der eventuelt vises i dette dokument, tilhører deres respektive ejere.

SYMBOLFORKLARING

R only Receptpligtig	 Temperaturbegrænsning
 Producent	 Må ikke genbruges
 Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik	 Indholdet er tilstrækkeligt til <n> tests
 Autoriseret repræsentant i EU	 Læs brugsanvisningen
 Katalognummer	 Forsigtig
 Batchkode	 Biologiske risici
 Anvendes inden	 CE-mærke

 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.
 Westervoortseijk 60
 6827 AT Arnhem
 The Netherlands


 2797

Teknisk support/indberetning af bivirkninger og uønskede hændelser: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents