

REF 300500 NeuMoDx™ HIV-1 Quant Test Strip**R only**

ATTENZIONE: solo per l'esportazione negli Stati Uniti

IVD Per uso diagnostico *in vitro* con NeuMoDx 288 e NeuMoDx 96 Molecular SystemPer gli aggiornamenti dei fogli illustrativi, andare su: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Per istruzioni dettagliate, fare riferimento al Manuale dell'operatore del NeuMoDx 288 Molecular System; P/N 40600108

Per istruzioni dettagliate fare riferimento al Manuale dell'operatore del NeuMoDx 96 Molecular System; P/N 40600317

USO PREVISTO

Il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, eseguito sul NeuMoDx 96 Molecular System e sul NeuMoDx 288 Molecular System (NeuMoDx System), è un test diagnostico *in vitro* automatizzato, quantitativo e qualitativo di amplificazione dell'acido nucleico progettato per la quantificazione e la rilevazione dell'RNA del virus di tipo 1 dell'immunodeficienza umana (HIV-1) nel plasma umano.

Il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay è destinato a essere utilizzato insieme alla presentazione clinica e ad altri marker di laboratorio per la prognosi delle malattie come supporto nella gestione clinica dei pazienti infetti da HIV-1 e nel monitoraggio degli effetti del trattamento antiretrovirale, misurati con le variazioni dei livelli di RNA HIV-1 del plasma. L'esame può quantificare l'RNA HIV-1 al di sopra dell'intervallo tra 34,2 e 5,0 x 10⁷ IU/mL (1,5-7,7 log₁₀ IU/mL). Il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay è approvato per la quantificazione dell'RNA dal gruppo M dell'HIV-1 (sottotipi A, B, C, D, F, G, H, K, CRF01_AE, CRF02_AG) N, O e P.

Il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay è destinato a fornire supporto nella diagnosi dell'infezione da HIV-1, inclusa l'infezione acuta o primaria. La presenza dell'RNA HIV-1 nel plasma dei pazienti senza anticorpi per l'HIV-1 è indicativa dell'infezione da HIV-1 acuta o primaria. Il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay può essere utilizzato come test supplementare per i campioni con risultati reattivi ripetuti, con immunodosaggi HIV approvati e come conferma dell'infezione da HIV-1.

Il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay non deve essere usato come test di screening dei donatori per rilevare la presenza di HIV-1 nel sangue o nei suoi derivati.

SOMMARIO E SPIEGAZIONI

Per la preparazione del plasma è possibile utilizzare sangue umano intero raccolto in provette sterili contenenti acido etilendiamminicotetratecico (EDTA) o acido citrato destrosio (ACD) come agenti anticoagulanti o in provette per la preparazione del plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT). Per la preparazione del test, il plasma in una provetta per campioni secondaria o il sangue frazionato in una provetta per campioni primaria compatibile con il NeuMoDx System viene caricato sul NeuMoDx System utilizzando un portaprovette per campioni per avviare l'elaborazione. Per ciascun campione, viene miscelata un'aliquota di 600 µL di campione di plasma con NeuMoDx Lysis Buffer 3 e il NeuMoDx System esegue automaticamente tutti i passaggi necessari per estrarre l'acido nucleico target, preparare l'RNA isolato per la reazione a catena della polimerasi real-time con trascrittasi inversa (RT-PCR) e, se presenti, amplificare e rilevare i prodotti di amplificazione (sezioni del genoma HIV-1 nelle regioni conservate). Il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay include un Controllo di elaborazione dei campioni dell'RNA (Sample Process Control, SPC2) per aiutare a monitorare la presenza di potenziali sostanze inibitorie, nonché gli errori relativi al NeuMoDx System o ai reagenti, che si possono verificare durante i processi di estrazione e di amplificazione.

L'HIV (Human Immunodeficiency Virus, virus dell'immunodeficienza umana) è l'agente eziologico dell'AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome, sindrome dell'immunodeficienza acquisita) ed è suddiviso in due tipologie principali, di cui il tipo 1 (HIV-1) è il più comune e il più patogeno. L'HIV-1 può essere trasmesso tramite contatto sessuale, esposizione a sangue o prodotti del sangue infetti o da una madre infetta al feto.¹⁻⁴ L'infezione acuta da HIV-1, caratterizzata da sintomi simili a quelli dell'influenza, si sviluppa in un periodo che va da 3 a 5 settimane dopo l'infezione iniziale ed è associata a livelli di viremia elevati. La risposta immunologica specifica dell'HIV-1 è rilevabile entro 4 - 6 settimane dalla comparsa dei sintomi.⁵⁻⁹

Al momento della sierconversione, la maggior parte di pazienti entra in una fase asintomatica che può durare per anni. La misurazione quantitativa dei livelli di RNA dell'HIV-1 nel sangue periferico ha contribuito notevolmente alla comprensione della patogenesi dell'infezione da HIV-1 e si è dimostrata un parametro essenziale nella prognosi e nella gestione delle persone con infezione da HIV-1.¹⁰⁻¹¹ Le decisioni relative all'avvio o alle modifiche nella terapia antiretrovirale sono guidate dal monitoraggio dei livelli di RNA dell'HIV-1 nel plasma (carico virale), dalla conta delle cellule T CD4+ e dalle condizioni cliniche del paziente.¹²⁻¹⁷ L'obiettivo della terapia antivirale è di sopprimere la replica dell'HIV-1 al di sotto dei livelli rilevabili dei test di carico virale attualmente disponibili. I livelli di virus nel sangue periferico possono essere quantificati attraverso la misurazione dell'antigene HIV p24 nel siero, mediante la coltura quantitativa di HIV dal plasma o tramite la misurazione diretta dell'RNA virale nel plasma utilizzando tecnologie di amplificazione dell'acido nucleico o di amplificazione del segnale.⁹⁻¹¹ Tecniche molecolari come la reazione a catena della polimerasi con trascrittasi inversa sono state ampiamente utilizzate per amplificare gli acidi nucleici.¹¹ Il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay usa la tecnologia RT-PCR con la rilevazione omogenea real-time della fluorescenza. L'esame include l'amplificazione e la rilevazione a doppio target, diretta verso due regioni indipendenti del genoma dell'HIV-1. Inoltre, il design degenerato dell'esame consente di rilevare diversi sottotipi del gruppo M (A, B, C, D, F, G, H, K), incluse le forme di ricombinanti in circolazione e gli isolati N, O e P del gruppo. I risultati dell'esame vengono riportati in per unità internazionali per mL (IU/mL).

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay combina l'estrazione automatizzata, l'amplificazione e la rilevazione dell'RNA tramite RT-PCR real-time. I campioni di sangue intero vengono raccolti in provette con EDTA, ACD o PPT per la preparazione del plasma. Il campione di sangue principale (frazionato) o un'aliquota di plasma in una provetta per campioni secondaria compatibile viene etichettata con codice a barre e collocata sul NeuMoDx System. Il NeuMoDx System aspira automaticamente un'aliquota del plasma per miscelarlo con NeuMoDx Lysis Buffer 3 e gli agenti contenuti nella NeuMoDx Extraction Plate per iniziare l'elaborazione. Il NeuMoDx System automatizza e integra l'estrazione e la concentrazione dell'RNA, la preparazione dei reagenti, l'amplificazione e la rilevazione dell'acido nucleico delle sequenze target mediante RT-PCR real-time. Il controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control, SPC2) incluso consente di monitorare la presenza di potenziali sostanze inibitorie nonché gli errori di sistema, processo o reagente. Una volta caricato il campione sul NeuMoDx System non è necessario alcun intervento dell'operatore.

Il NeuMoDx System utilizza una combinazione di calore, enzima litico e reagenti di estrazione per eseguire automaticamente la lisi, l'estrazione dell'RNA e l'eliminazione degli inibitori. Gli acidi nucleici rilasciati vengono catturati da microsferi paramagnetiche. Le particelle, con l'acido nucleico legato, sono caricate nella NeuMoDx Cartridge, dove gli elementi non legati vengono rimossi tramite lavaggio con NeuMoDx Wash Reagent. L'RNA legato viene quindi eluito utilizzando il NeuMoDx Release Reagent. Il NeuMoDx System utilizza quindi l'RNA eluito per reidratare i reagenti di amplificazione di proprietà NeuDry™ contenenti tutti gli elementi necessari per l'amplificazione dei target di HIV-1 e per l'SPC2. Ciò consente l'amplificazione e la rilevazione simultanee dei target e delle sequenze di RNA di controllo. Dopo la ricostituzione dei reagenti RT-PCR essiccati, il NeuMoDx System dispensa la miscela pronta per RT-PCR in una camera PCR (per campioni) della NeuMoDx Cartridge. Trascrittasi inversa, amplificazione e rilevazione delle sequenze di controllo e target (se presenti) si verificano nella camera PCR. Il NeuMoDx Cartridge è progettato per contenere l'amplicone dopo la RT-PCR, praticamente eliminando il rischio della contaminazione post-amplificazione.

I target amplificati vengono rilevati in tempo reale utilizzando la chimica delle sonde a idrolisi (comunemente nota come chimica TaqMan®) che si avvale di molecole di sonde oligonucleotidiche fluorogeniche specifiche per gli ampliconi dei rispettivi target. Le sonde TaqMan sono costituite da un fluoroforo legato covalentemente all'estremità 5' della sonda oligonucleotidica e da un quencher all'estremità 3'. Mentre la sonda è intatta, il fluoroforo e il quencher sono in prossimità, consentendo alla molecola quencher di sopprimere la fluorescenza emessa dal fluoroforo tramite FRET (Förster Resonance Energy Transfer).

Le sonde TaqMan sono progettate in modo tale da eseguire l'annealing all'interno di una regione del DNA amplificata da un set specifico di primer. Quando la Taq DNA polimerasi estende il primer e sintetizza il nuovo filamento, l'attività di esonucleasi 5'-3' della Taq DNA polimerasi degrada la sonda che ha eseguito l'annealing allo stampo. La degradazione della sonda rilascia il fluoroforo e spezza la prossimità con il quencher, superando quindi l'effetto di smorzamento dovuto al FRET e consentendo la rilevazione del fluoroforo. Il segnale di fluorescenza risultante rilevato nel termociclatore del NeuMoDx System per RT-PCR quantitativa è direttamente proporzionale al fluoroforo rilasciato e può essere correlato alla quantità di target presente.

Una sonda TaqMan contrassegnata da un fluoroforo (Eccitazione: 490 nm ed Emissione: 521 nm) all'estremità 5' e un quencher scuro all'estremità 3' vengono utilizzati per rilevare l'RNA dell'HIV-1. Per il rilevamento dell'SPC2, la sonda TaqMan è contrassegnata con un colorante fluorescente alternativo (Eccitazione: 535 nm ed Emissione: 556 nm) all'estremità 5' e un quencher scuro all'estremità 3'. Il software del NeuMoDx System monitora il segnale fluorescente emesso dalle sonde TaqMan alla fine di ogni ciclo di amplificazione. Quando l'amplificazione è completa, il software del NeuMoDx System analizza i dati e riporta un risultato (POSITIVE (POSITIVO)/NEGATIVE (NEGATIVO)/INDETERMINATE (INDETERMINATO)/UNRESOLVED (IRRISOLTO)). Se un risultato è positivo e la concentrazione calcolata rientra nei limiti della quantificazione, il software del NeuMoDx System fornisce anche un valore quantitativo associato al campione.

REAGENTI/MATERIALI DI CONSUMO

Materiali in dotazione

| REF | Contenuto | Test per unità | Test per confezione |
|--------|---|----------------|---------------------|
| 300500 | NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip <i>Reagenti RT-PCR essiccati contenenti sonda e primer TaqMan specifici per HIV-1 e SPC2</i> | 16 | 96 |

Ulteriori materiali necessari (disponibili separatamente)

| REF | Contenuto |
|--------|---|
| 100200 | NeuMoDx Extraction Plate <i>Particelle paramagnetiche, enzima litico e controlli di elaborazione dei campioni essiccati</i> |
| 800304 | NeuMoDx HIV-1 Calibrator <i>Set monouso di calibratori HIV-1 alto e basso per stabilire la validità della curva di standard</i> |
| 900301 | NeuMoDx HIV-1 External Control <i>Set monouso di controlli HIV-1 positivi e negativi</i> |
| 400600 | NeuMoDx Lysis Buffer 3 |
| 400100 | NeuMoDx Wash Reagent |
| 400200 | NeuMoDx Release Reagent |
| 100100 | NeuMoDx Cartridge |
| 235903 | Puntali Hamilton CO-RE/CO-RE II (300 µL) con filtri |
| 235905 | Puntali Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µL) con filtri |

Strumentazione richiesta

NeuMoDx 288 Molecular System [RIF 500100] o NeuMoDx 96 Molecular System [RIF 500200]



AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- La NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip è per uso diagnostico *in vitro* solo con i NeuMoDx Molecular System.
- Non utilizzare i reagenti o i materiali di consumo dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare alcun reagente se il sigillo di sicurezza è rotto o se la confezione risulta danneggiata all'arrivo.
- Non utilizzare i materiali di consumo o i reagenti se il sacchetto di protezione appare aperto o rotto all'arrivo.
- Prima di poter generare i risultati dei test per i campioni clinici, occorre avere a disposizione una calibrazione di test valida (generata elaborando i calibratori alto e basso dai NeuMoDx HIV-1 Calibrator [RIF 800304]).
- È necessario elaborare i controlli esterni (dai NeuMoDx HIV-1 External Control [RIF 900301]) ogni 24 ore per tutta la fase di test con il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.
- Il volume minimo del campione dell'aliquota secondaria dipende dalle dimensioni della provetta/dal portaprovette per campioni come definiti di seguito. Un volume al di sotto del minimo specificato può generare un errore "Quantity Not Sufficient" (Quantità non sufficiente).
- L'uso di campioni conservati a temperature non corrette oppure oltre i tempi di stoccaggio specificati può produrre risultati non validi o errati.
- Evitare la contaminazione microbica e da ribonucleasi (RNasi) di tutti i reagenti e i materiali di consumo. In caso di utilizzo di una provetta secondaria, si raccomanda l'uso di pipette di trasferimento monouso sterili prive di RNasi. Utilizzare una nuova pipetta per ciascun campione.
- Per evitare la contaminazione, non manipolare o spezzare nessuna NeuMoDx Cartridge dopo l'amplificazione. In nessun caso recuperare le NeuMoDx Cartridge dal contenitore dei materiali di scarto a rischio biologico (NeuMoDx 288 Molecular System) o dal recipiente materiali di scarto a rischio biologico (NeuMoDx 96 Molecular System). La cartuccia NeuMoDx Cartridge è stata progettata in modo da prevenire la contaminazione.
- Nei casi in cui dal laboratorio siano condotti anche test per PCR in provetta aperta, è necessario assicurarsi che NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, i materiali di consumo e i reagenti aggiuntivi necessari per i test, i dispositivi di protezione individuale come guanti e camici da laboratorio e il NeuMoDx System non siano contaminati.
- Durante la manipolazione dei reagenti e dei materiali di consumo NeuMoDx, è necessario indossare guanti in nitrile, puliti e privi di polvere. Prestare attenzione a non toccare la superficie superiore della NeuMoDx Cartridge, la superficie della pellicola sigillante della NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip e della piastra NeuMoDx Extraction Plate o la superficie superiore del NeuMoDx Lysis Buffer 3; i materiali di consumo e i reagenti devono essere maneggiati toccando solo le superfici laterali.
- Per ogni reagente vengono fornite le schede di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) (se applicabile) su www.qiagen.com/neumodx-ifu
- Lavarsi bene le mani dopo avere eseguito il test.
- Non pipettare con la bocca. Non fumare, mangiare o bere nelle aree in cui vengono manipolati i campioni o i reagenti.
- Maneggiare sempre i campioni come se fossero infettivi e in conformità con procedure di laboratorio sicure, come quelle descritte in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁸ e nel Documento M29-A4¹⁹ del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).
- Smaltire i reagenti inutilizzati e i materiali di scarto in conformità alle normative nazionali, federali, provinciali, regionali e locali.



STOCCAGGIO, MANIPOLAZIONE E STABILITÀ DEL PRODOTTO

- Le NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip sono stabili nell'imballaggio primario fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta esterna del prodotto, se conservate a una temperatura compresa tra 15 e 23 °C.
- Le NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip vengono spedite in un contenitore isolato che contiene pacchetti di refrigerante in gel.
- Non utilizzare i materiali di consumo e i reagenti dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare alcun prodotto di test se la confezione primaria o quella secondaria è stata visivamente compromessa.
- Non ricaricare alcun prodotto di test che sia stato caricato in precedenza su un altro NeuMoDx System.
- Una volta caricata, la NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip può restare a bordo del NeuMoDx System per sette (7) giorni. Il periodo di validità residuo delle strisce reattive caricate è tracciato dal software e segnalato all'utente in tempo reale. La rimozione di una striscia reattiva utilizzata oltre il periodo consentito sarà richiesta dal sistema.
- Anche se non infettivi, smaltire i calibratori NeuMoDx e i controlli esterni nei materiali di scarto a rischio biologico dopo l'uso, per ridurre il rischio di contaminazione da parte dell'acido nucleico target contenuto.

PRELIEVO, TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI



1. Trattare tutti i campioni, i calibratori e i controlli come se fossero potenziali mezzi di trasmissione di agenti infettivi.
2. Non congelare sangue intero né altri campioni conservati in provette primarie.
3. Per preparare di campioni di plasma, è necessario raccogliere il sangue intero in provette sterili utilizzando EDTA o ACD come anticoagulante. Seguire le istruzioni del produttore per la preparazione e la conservazione di provette per la raccolta di campioni.
4. I campioni possono essere testati in provette per la raccolta primarie o in provette per campioni secondarie. Provette consigliate per il test con provette primarie: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD n. 368589) o BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD n. 362799).

5. I campioni di plasma preparati possono essere conservati sul NeuMoDx System per un massimo di 8 ore prima dell'elaborazione. Se è necessario un tempo di conservazione maggiore, si raccomanda di mettere i campioni in frigorifero o di congelarli come aliquote di plasma secondarie.
6. I campioni di plasma preparati devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C per non più di 7 giorni prima del test e per un massimo di 8 ore a temperatura ambiente.
7. I campioni preparati possono essere conservati a $\leq -20^{\circ}\text{C}$ per un massimo di 8 settimane per il plasma prima dell'elaborazione.
 - a. Se i campioni vengono congelati, farli scongelare completamente a temperatura ambiente (15-30 °C); agitare con movimenti rotatori per ottenere un campione distribuito uniformemente.
 - b. Una volta scongelati i campioni congelati, l'analisi deve essere eseguita entro 8 ore.
 - c. I campioni di plasma non devono essere sottoposti a più di 4 cicli di congelamento/scongelamento prima dell'uso
8. Se i campioni vengono spediti, devono essere imballati ed etichettati in conformità alle normative locali e/o internazionali applicabili.
9. Etichettare i campioni in modo chiaro e indicare che i campioni sono per il test dell'HIV-1.
10. Procedere con la sezione *Preparazione del test*.

Il processo complessivo per l'implementazione dell'esame NeuMoDx HIV-1 è riepilogato di seguito nella *Figura 1*.

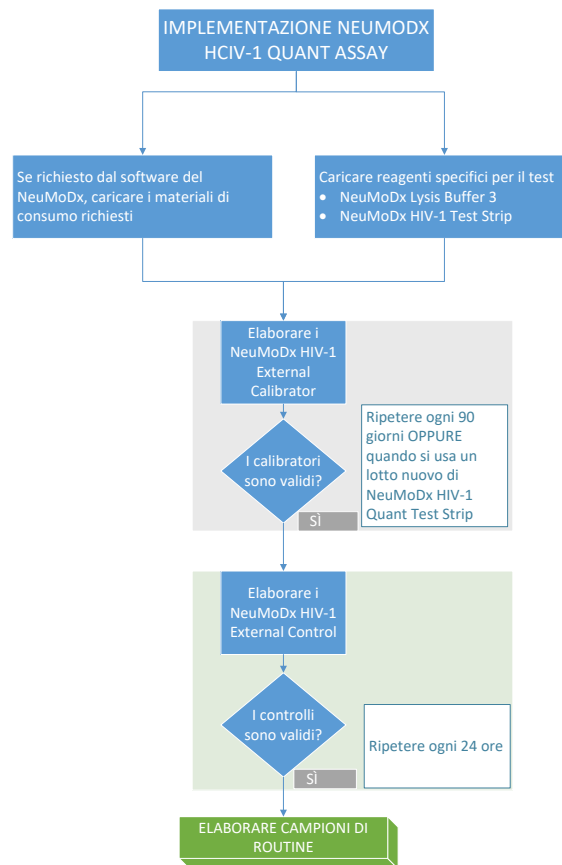


Figura 1: Flusso di lavoro di implementazione del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

ISTRUZIONI PER L'USO

Preparazione del test

1. Applicare l'etichetta con codice a barre del campione su una provetta per campioni compatibile con NeuMoDx System. La provetta di raccolta primaria del sangue deve essere etichettata e collocata direttamente in un portaprovette per campioni da 24 o da 32 provette dopo la centrifugazione come indicato dal produttore. In alternativa, è possibile trasferire un'aliquota del plasma in una provetta secondaria, per l'elaborazione sul NeuMoDx System.
2. Se il test del campione viene eseguito nella provetta di raccolta primaria, collocare la provetta con codice a barre in un portaprovette per campioni e accertarsi che il tappo venga rimosso prima del caricamento sul NeuMoDx System.

- Se si utilizza una provetta secondaria, trasferire un'aliquota del plasma nella provetta per campioni con codice a barre compatibile con il NeuMoDx System secondo i volumi definiti di seguito:
 - Portaprovette per campioni (32 provette): 11-14 mm di diametro e 60-120 mm di altezza; volume di riempimento minimo $\geq 750 \mu\text{L}$
 - Portaprovette per campioni (24 provette): 14,5-18 mm di diametro e 60-120 mm di altezza; volume di riempimento minimo $\geq 1200 \mu\text{L}$
 - Portaprovette per campioni a volume ridotto (32 provette): provetta per microcentrifuga a fondo conico da 1,5 mL; volume di riempimento minimo $\geq 700 \mu\text{L}$

Funzionamento del NeuMoDx System

Per istruzioni dettagliate, fare riferimento ai Manuali dell'operatore del NeuMoDx 288 e del 96 Molecular System (p/n 40600108 e 40600317)

- Inserire una o più NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip in uno o più supporti per NeuMoDx System Test Strip e usare il touchscreen per caricare tali supporti nel NeuMoDx System.
- Se richiesto dal software del NeuMoDx System, aggiungere i materiali di consumo necessari ai supporti dei materiali di consumo del NeuMoDx System e utilizzare il touchscreen per caricare i supporti nel NeuMoDx System.
- Se richiesto dal software del NeuMoDx System, sostituire NeuMoDx Wash Reagent e NeuMoDx Release Reagent, svuotare il contenitore dei rifiuti di adescamento, dei materiali di scarto a rischio biologico (solo NeuMoDx 288 Molecular System), il recipiente dei puntali di scarto (solo NeuMoDx 96 Molecular System) o il recipiente dei materiali di scarto a rischio biologico (solo NeuMoDx 96 Molecular System), secondo necessità.
- Se richiesto dal software del NeuMoDx System, elaborare i NeuMoDx HIV-1 Calibrator [RIF 800304] e/o i NeuMoDx HIV-1 External Control [RIF 900301]. È possibile trovare ulteriori informazioni sui calibratori e sui controlli nella sezione *Elaborazione dei risultati*.
- Caricare le provette per campioni/calibratori/controlli in un portaprovette per campioni standard e assicurarsi che da tutte le provette siano stati rimossi i tappi.
- Posizionare i portaprovette sul ripiano del caricatore automatico e utilizzare il touchscreen per caricare il o i portaprovette nel NeuMoDx System. In tal modo verrà avviata l'elaborazione dei campioni caricati per i test identificati, a condizione che nel sistema sia presente un ordine di test valido.

LIMITAZIONI

- La NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip può essere utilizzata solo sui NeuMoDx Molecular System.
- Le prestazioni della NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip sono state stabilite per campioni di plasma preparati da sangue intero prelevato con EDTA/ACD come anticoagulante. L'uso della NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip con altre fonti non è stato valutato e le caratteristiche delle prestazioni non sono note per altri tipi di campioni.
- Le prestazioni della NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip sono state definite per il test con provette primarie utilizzando BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tubes e BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube.
- Il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay non deve essere utilizzato con campioni umani eparinizzati.
- Poiché il rilevamento dell'HIV-1 dipende dal numero di particelle virali presenti nel campione, l'affidabilità dei risultati dipende dalla correttezza delle operazioni di prelievo, trattamento e conservazione dei campioni.
- I NeuMoDx HIV-1 Calibrator e i NeuMoDx HIV-1 External Control devono essere elaborati secondo le indicazioni contenute nei foglietti illustrativi presenti nella confezione e richiesti dal software del NeuMoDx System prima di elaborare i campioni clinici di routine.
- Eventuali risultati errati potrebbero essere dovuti a operazioni di prelievo, manipolazione o conservazione dei campioni non corrette, a errori tecnici o a scambi di provette per campioni. Inoltre, potrebbero verificarsi falsi negativi se il numero di particelle virali nel campione è al di sotto del limite di rilevazione del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.
- Il NeuMoDx System è destinato a essere utilizzato esclusivamente da personale addestrato all'uso del sistema.
- Se non si amplificano sia il target HIV-1 che il target SPC2, si otterrà un risultato non valido (Indeterminate (Indeterminato) o Unresolved (Irrisolto)) e si dovrà ripetere il test.
- Se il risultato del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay è Positive (Positivo), ma il valore di quantificazione è oltre i limiti di quantificazione, il NeuMoDx System indicherà se l'HIV-1 rilevato era al di sotto del limite di quantificazione inferiore (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) o al di sopra del limite di quantificazione superiore (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Nel caso in cui l'HIV-1 rilevato fosse al di sotto del LLoQ, è possibile ripetere il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay (se si desidera) con un'altra aliquota del campione.
- Nel caso in cui l'HIV-1 rilevato fosse al di sopra dell'ULoQ, è possibile ripetere il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay con un'aliquota diluita del campione originale. Si consiglia una diluizione di 1:100 o 1:1000 nel plasma HIV-1-negativo o diluente Basematrix 53 (Basematrix, SeraCare, Milford, MA). La concentrazione di campione originale può essere calcolata come indicato di seguito:

$$\text{concentrazione del campione originale} = \log_{10}(\text{fattore di diluizione}) + \text{concentrazione segnalata del campione diluito}$$

13. La presenza occasionale di inibitori della PCR nel plasma può dare luogo a un errore di quantificazione del sistema. Se si verifica tale condizione, è consigliabile ripetere il test con lo stesso campione diluito in Basematrix in un rapporto di 1:10 o 1:100.
14. Un risultato positivo non indica necessariamente la presenza di HIV-1 vitale. Piuttosto, un risultato positivo è indice di possibile presenza di RNA dell'HIV-1.
15. Eventuali cancellazioni o mutazioni nelle regioni target del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay conservate possono influire sul rilevamento e portare a un risultato errato.
16. I risultati del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay dovranno essere impiegati in aggiunta alle osservazioni cliniche e ad altre informazioni disponibili al medico.
17. Si raccomandano buone pratiche di laboratorio, compreso il cambio di guanti tra una manipolazione dei campioni dei pazienti e quella successiva, per evitare la contaminazione.

ELABORAZIONE DEI RISULTATI

I risultati disponibili possono essere visualizzati o stampati dalla scheda "Results" (Risultati) nella finestra Results (Risultati) sul touchscreen del NeuMoDx System.

I risultati del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay vengono generati automaticamente dal software del NeuMoDx System utilizzando l'algoritmo decisionale e i parametri di elaborazione dei risultati sono specificati nel file di definizione del test NeuMoDx HIV-1 (HIV-1 ADF). Il risultato del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay può essere: Negative (Negativo), Positive (Positivo) con indicazione di una concentrazione di HIV-1, Positive (Positivo) al di sopra del limite di quantificazione superiore), Positive (Positivo) al di sotto del limite di quantificazione inferiore), Indeterminate (Indeterminato) o Unresolved (Irrisolto), a seconda dello stato di amplificazione del controllo target e del controllo di elaborazione dei campioni. I risultati sono riportati nell'algoritmo decisionale dell'ADF, riepilogato nella *Tabella 1* di seguito.

Tabella 1: Riepilogo dell'algoritmo decisionale dell'HIV-1 Quant Assay

| RISULTATO* | Target HIV-1 | Controllo elaborazione campioni (Sample Process Control, SPC2) |
|---|--|--|
| Positive (Positivo) con indicazione della concentrazione | Amplified (Amplificato), $1,5 \leq [\text{HIV-1}] \leq 7,7 \log_{10} \text{ IU/mL}$ | Amplified (Amplificato) o Not Amplified (Non amplificato) |
| Positive (Positivo), al di sopra dell'ULOQ | Amplified (Amplificato), $[\text{HIV-1}] > 7,7 \log_{10} \text{ IU/mL}$ | Amplified (Amplificato) o Not Amplified (Non amplificato) |
| Positive (Positivo), al di sotto dell'LLOQ | Amplified (Amplificato), $[\text{HIV-1}] < 1,5 \log_{10} \text{ IU/mL}$ | Amplified (Amplificato) o Not Amplified (Non amplificato) |
| Negative (Negativo) | Not Amplified (Non amplificato) | Amplified (Amplificato) |
| Indeterminate (Indeterminato) | Not Amplified, System Error Detected (Non amplificato, Rilevato errore di sistema) | |
| Unresolved (Irrisolto) | Not Amplified, No System Error Detected (Non amplificato, Nessun errore di sistema rilevato) | |

*L'intervallo di quantificazione del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay è compreso tra 1,5 e 7,7 \log_{10} IU/mL. Un risultato POSITIVE (POSITIVO) indica che è stato rilevato l'RNA dell'HIV-1 e aiuta nella diagnosi dell'infezione da HIV-1. Un risultato NEGATIVE (NEGATIVO) indica l'assenza di RNA HIV-1 o un carico virale sotto il limite di rilevazione. Risultati di carico virale falsi negativi o falsamente bassi possono essere causati dalla raccolta o dalla conservazione non corrette dei campioni. I risultati devono essere interpretati nel contesto dei risultati clinici e di laboratorio pertinenti.

Calcolo del test

1. Per i campioni che rientrano nell'intervallo di quantificazione del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, la concentrazione di RNA dell'HIV-1 presente nei campioni viene calcolata tramite la curva di standard memorizzata in combinazione con il coefficiente di calibrazione.
 - a. In base ai risultati dei NeuMoDx HIV-1 Calibrator elaborati per stabilire la validità della curva di standard, si calcola anche un coefficiente di calibrazione per ogni lotto di NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, su uno specifico NeuMoDx System.
 - b. Il coefficiente di calibrazione viene inserito automaticamente nella determinazione finale della concentrazione di RNA dell'HIV-1.
2. I risultati del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay sono espressi in \log_{10} IU/mL. Il fattore di conversione per il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay è di 0,75 copia/IU.
3. La quantificazione risultante di campioni sconosciuti è tracciabile secondo un materiale di riferimento calibrato ottenuto dal National Institute for Biological Standards and Control (Istituto nazionale per il controllo e gli standard biologici).

Calibrazione del test

Per quantificare l'RNA dell'HIV-1 presente nei campioni, è necessaria una calibrazione valida, basata sulla curva di standard. Per generare risultati validi, è necessario completare la calibrazione del test tramite i calibratori forniti da NeuMoDx Molecular, Inc.

Calibratori

1. I NeuMoDx HIV-1 Calibrator [RIF 800304] contengono HIV-1 target non infettivo incapsulato preparato in Basematrix.
2. È necessario elaborare un set di calibratori HIV-1 con ogni nuovo lotto di NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, quando si carica un nuovo file di definizione del test HIV-1 nel NeuMoDx System, oppure quando il set attuale di calibratori ha superato il periodo di validità (impostato attualmente a 90 giorni) o quando viene modificato il software del NeuMoDx System.
3. Il software del NeuMoDx System notificherà l'utente quando è necessario elaborare i calibratori. Non è possibile utilizzare per i test un nuovo lotto di strisce reattive finché i calibratori non sono stati elaborati correttamente.
4. La validità della calibrazione viene stabilita come segue:
 - a) Per stabilire la validità è necessario elaborare un set di due calibratori: uno (1) alto e uno (1) basso.
 - b) Almeno due (2) replicati su tre (3) devono dare risultati che rientrino nei parametri predefiniti. Il target nominale del calibratore basso è di $3 \log_{10}$ IU/mL e il target nominale del calibratore alto è di $5 \log_{10}$ IU/mL.
 - c) Viene calcolato un coefficiente di calibrazione per tenere conto dalla variazione attesa tra i lotti di strisce reattive. Tale coefficiente di calibrazione viene utilizzato per la determinazione della concentrazione finale di HIV-1.
5. Se uno o entrambi i calibratori non superano il controllo di validità, ripetere l'elaborazione dei calibratori che non hanno superato il controllo utilizzando una fiala nuova. Nel caso in cui un calibratore non superi il controllo di validità, è possibile ripetere l'elaborazione solo di quel calibratore, dato che il sistema non richiede all'utente di elaborare nuovamente entrambi i calibratori.
6. Se i calibratori non superano il controllo di validità consecutivamente, contattare NeuMoDx Molecular, Inc.

Controllo qualità

Le normative locali in genere specificano che il laboratorio è responsabile delle procedure di controllo che monitorano l'accuratezza e la precisione dell'intero processo analitico e devono stabilire il numero, il tipo e la frequenza di test dei materiali di controllo utilizzando specifiche di prestazione verificate per un sistema di test approvato e non modificato.

Controlli esterni

1. I NeuMoDx HIV-1 External Control [RIF 900301] contengono controlli positivi di HIV-1 target non infettivo incapsulato preparato in Basematrix e controlli negativi solo di Basematrix.
2. È necessario elaborare i controlli esterni positivi e negativi ogni 24 ore per tutta la fase di test con il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay. Se non esiste un set di controlli esterni validi, il software del NeuMoDx System richiederà all'utente di elaborare questi controlli prima di poter riportare i risultati del campione.
3. La validità dei controlli esterni sarà valutata dal NeuMoDx System in base al risultato atteso. Il controllo positivo deve fornire un risultato all'HIV-1 Positive (Positivo) e il controllo negativo deve fornire un risultato all'HIV-1 Negative (Negativo).
4. Risultati discrepanti per i controlli esterni devono essere gestiti come segue:
 - a) Un risultato del test Positive (Positivo) riportato per un campione di controllo negativo indica un problema di contaminazione del campione.
 - b) Un risultato del test Negative (Negativo) riportato per un campione di controllo positivo potrebbe indicare l'esistenza di un problema riguardante un reagente o uno strumento.
 - c) In entrambi i casi sopra illustrati o in caso di un risultato indeterminato (IND) ripetere i NeuMoDx HIV-1 External Control con fiale fresche dei controlli che non hanno superato il test di validità.
 - d) Se il NeuMoDx HIV-1 External Control positivo continua a dare un risultato Negative (Negativo), contattare l'assistenza tecnica di NeuMoDx.
 - e) Se il NeuMoDx HIV-1 External Control negativo continua a dare un risultato Positive (Positivo), cercare di eliminare tutte le fonti di potenziale contaminazione, anche sostituendo tutti i reagenti prima di contattare l'assistenza tecnica di NeuMoDx.

Controlli (interni) di elaborazione dei campioni

Nella NeuMoDx Extraction Plate è incorporato un Controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control, SPC2) esogeno, che si sottopone all'intero processo di estrazione dell'acido nucleico e amplificazione mediante RT-PCR real-time con ogni campione. In ogni NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip sono inclusi anche primer e sonda specifici per SPC2, consentendo il rilevamento della presenza dell'SPC2 insieme all'RNA dell'HIV-1 target (se presente) tramite PCR multiplex real-time. La rilevazione dell'amplificazione di SPC2 consente al software del NeuMoDx System di monitorare l'efficacia dei processi di estrazione e di amplificazione dell'RNA mediante PCR real-time.

Risultati non validi

Se un NeuMoDx HIV-1 Quant Assay eseguito sul NeuMoDx System non è in grado di produrre un risultato valido, sarà riportato come Indeterminate (Indeterminato, IND) o Unresolved (Irrisolto, UNR) in base al tipo di errore che si è verificato.

Il risultato sarà IND se viene rilevato un errore del NeuMoDx System durante l'elaborazione del campione. Se viene riportato un risultato IND, si consiglia di ripetere il test.

Il risultato sarà UNR (Irrisolto) quando non viene rilevata alcuna amplificazione valida dell'RNA dell'HIV-1 o dell'SPC2, cosa che indica un possibile errore dovuto al reagente o la presenza di inibitori. Se viene riportato un risultato UNR, si consiglia in primo luogo di ripetere il test. Se ancora non si ottiene un risultato valido, è possibile usare un campione diluito per mitigare gli effetti di un'eventuale inibizione del campione.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Sensibilità analitica – Limite di rilevazione

La sensibilità analitica del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay è stata caratterizzata testando una serie di diluizioni tracciabili secondo il 3° Standard Internazionale dell'OMS sull'HIV-1 nel plasma EDTA negativo all'RNA dell'HIV-1 per determinare il limite di rilevazione (Limit of Detection, LoD) sui NeuMoDx System. Il LoD è stato definito come il livello target più basso rilevato a una percentuale di $\geq 95\%$ in base a un'analisi con modello Probit. Lo studio è stato eseguito nel corso di tre (3) giorni utilizzando più sistemi, operatori, cicli e lotti di reagenti NeuMoDx HIV-1 Quant Assay. Ogni sistema ha elaborato 12 replicati in ciascun livello di diluizione al giorno. I tassi di rilevazione sono illustrati nella *Tabella 2*.

Tabella 2: Tassi di rilevazione positivi per la determinazione LoD del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

| Concentrazione target (IU/mL) | Concentrazione target (\log_{10} IU/mL) | Numero di test validi | Numero di positivi | Tasso di rilevazione (%) |
|-------------------------------|--|-----------------------|--------------------|--------------------------|
| 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% |

Attraverso l'analisi Probit, il valore del LoD del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay nel plasma in tutti i genotipi è stato determinato in **34,2 IU/mL** (**1,5 \log_{10} IU/mL**) con un intervallo di confidenza (IC) del 95% tra il 27,8 e il 47,7 IU/mL (1,4-1,7 \log_{10} IU/mL) testato sul NeuMoDx 288 Molecular System [Figura 2].

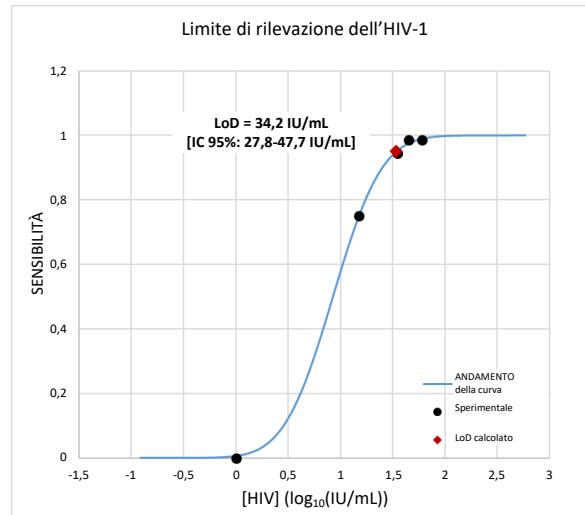


Figura 2: Analisi Probit del Limite di rilevamento del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.

Sensibilità analitica – Limite di quantificazione inferiore

Il limite di quantificazione inferiore (Lower limit of quantitation, LLoQ) si definisce come il livello target più basso a cui si ottiene un rilevamento $> 95\%$ e un errore analitico totale ≤ 1 . Per determinare il valore LLoQ, l'errore analitico totale (Total Analytical Error, TAE) è stato calcolato per ciascuno dei livelli di HIV-1 target come parte del calcolo del valore di LoD. Il TAE è definito come segue:

$$\text{TAE} = \text{deviazione} + 2 \cdot \text{DS} \quad (\text{Statistica Westgard})$$

dove

deviazione è il valore assoluto della differenza tra la media della concentrazione calcolata e la concentrazione attesa.

DS si riferisce alla deviazione standard del valore quantificato del campione.

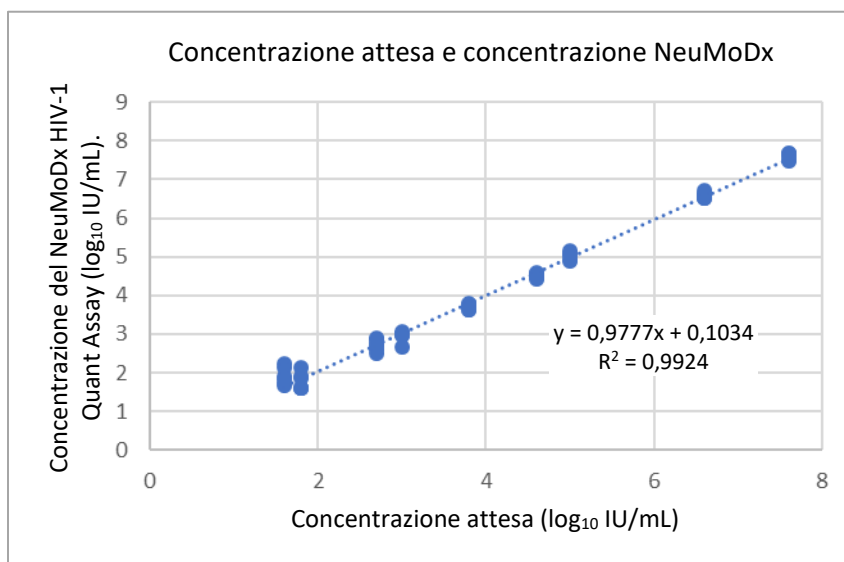
I risultati compilati per i quattro (4) livelli di campioni di plasma HIV-1 utilizzati nello studio LLoQ mediante il sottotipo B sono mostrati nella *Tabella 3*. Poiché il TAE calcolato è stato ≤ 1 a livelli di HIV-1 al di sotto del valore LoD, il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ha mostrato un limite inferiore di quantificazione equivalente al limite di rilevazione: **34,2 IU/mL** (IC 95% 27,8-47,7 IU/mL) o **1,5 \log_{10} IU/mL** (IC 95% 1,4-1,7 \log_{10} IU/mL).

Tabella 3: LLoQ di NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, con deviazione e TAE

| Conc. target (IU/mL) | Conc. target (log ₁₀ IU/mL) | Conc. media (log ₁₀ IU/mL) | Rilevazione (%) | DS | Deviazione | 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 |

Sensibilità analitica – Linearità e determinazione del limite di quantificazione superiore

La linearità e il limite di quantificazione superiore (Upper limit of quantitation, ULoQ) del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay sono state stabilite preparando una serie di diluizioni di HIV-1 proveniente dall'External Quality Assurance Program Oversight Laboratory (Duke University, NC, USA), AccuPlex™ Recombinant HIV/HCV Control (Seracare, MA, USA) e di HIV-1 RNA Working Reagent 2 per esami NAT (NIBSC). È stato preparato un pannello di nove componenti in plasma HIV-1 EDTA-negativo all'RNA dell'HIV-1 raggruppato che coprisse un intervallo di concentrazione di 7,70–1,70 log₁₀ IU/mL. Il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay si è dimostrato in grado di quantificare l'HIV-1 nell'intervallo lineare di 6 log₁₀ con una precisione di ± 0,33 log₁₀ IU/mL sulla base dell'errore standard calcolato mediante l'intervallo di confidenza del 95%. Utilizzando i modelli di regressione del 2° o del 3° ordine non sono stati ottenuti vantaggi significativi. Utilizzando i dati di questo studio il valore di ULoQ è stato determinato in **7,7 log₁₀ IU/mL**. Le concentrazioni dell'esame HIV-1 riportate dal NeuMoDx System rispetto ai valori attesi sono presentate nella *Figura 3*.

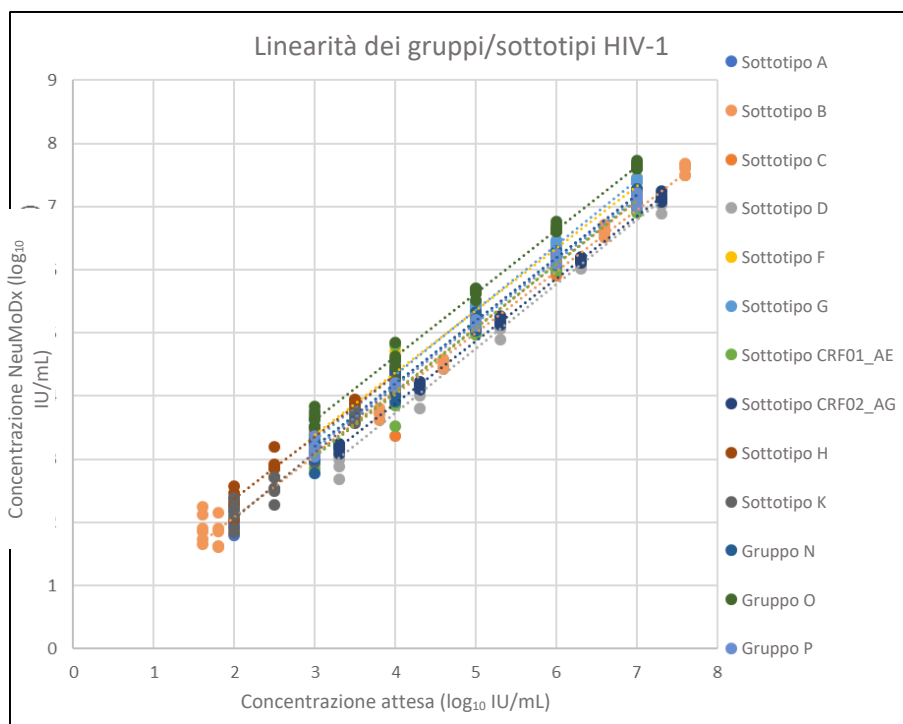

Figura 3: Intervallo lineare del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Sensibilità analitica – Linearità tra genotipi

La linearità del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay tra gruppi M HIV-1 M (sottotipi A, B, C, D, F, G, H, K, CRF01_AE, CRF02_AG), N, O e P è stata caratterizzata testando almeno cinque (5) concentrazioni diverse di ciascun gruppo/sottotipo di HIV-1 preparato in plasma EDTA negativo all'RNA dell'HIV-1 raggruppato. I livelli di HIV-1 target testati in questo studio sono dipesi dalla concentrazione del campione di origine, pertanto sono stati diversi tra gruppi/sottotipo. Lo studio è stato eseguito con ciascun gruppo/sottotipo utilizzando sei (6) replicati a ciascun livello. La linearità è stata dimostrata tra gli intervalli testati ed è presentata nella *Tabella 4* e nella *Figura 4*.

Tabella 4: Linearità del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay tra i gruppi M, N, O e P

| Gruppo | Sottotipo | Equazione della linearità | | R ² |
|--------|-----------|---|---|----------------|
| | | $y = \text{quantificazione del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay}$ (log ₁₀ IU/mL) | $x = \text{quantificazione attesa}$ (log ₁₀ IU/mL) | |
| 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 |


Figura 4: Linearità del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay tra sottotipi

Specificità analitica – Contaminanti microbici potenzialmente interferenti

La specificità analitica del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay è stata valutata testando un gruppo di microorganismi (*Tabella 5*) preparati in plasma EDTA negativo all'RNA HIV-1 ad alte concentrazioni per reattività crociata. L'interferenza potenziale è stata valutata utilizzando lo stesso gruppo di microorganismi preparati in plasma EDTA e arricchiti con HIV-1 a 2,02 log₁₀ IU/mL. Non è stata osservata alcuna reattività crociata, con tutti i campioni microbici HIV-1 negativi che hanno dato risultati negativi. Tutti i campioni microbici positivi all'HIV-1 hanno dato risultati positivi e non è stata osservata alcuna interferenza significativa nei campioni, come evidenziato dalla deviazione minima nella quantificazione dell'HIV-1 segnalata dato che i campioni di controllo non contenevano microorganismi potenzialmente interferenti. L'ulteriore reattività crociata potenziale è stata valutata mediante il confronto delle sequenze di nucleotidi delle sequenze target NeuMoDx HIV Quant Assay con i genomi completi di altri 26 patogeni (*Tabella 6*) utilizzando lo Strumento di ricerca di base di allineamento locale (Basic Local Alignment Search Tool, BLASTn) reso disponibile dal National Center for Biotechnology Information (NCBI). L'analisi del confronto delle sequenze non ha mostrato analogie tra le sequenze target e i genomi esaminati.

Tabella 5: Patogeni testati per la specificità analitica

| Microorganismi potenzialmente interferenti |
|--|
| Virus dell'epatite A |
| Virus dell'epatite B |
| Virus dell'epatite C |
| Virus della leucemia a cellule T dell'uomo tipo 1 (HTLV-1) |
| Virus della leucemia a cellule T dell'uomo tipo 2 (HTLV-2) |
| Virus dell'immunodeficienza tipo 2 (HIV-2) |
| Virus dell'immunodeficienza delle scimmie |
| Virus di Epstein-Barr |

Tabella 6: Microorganismi inclusi nell'analisi dell'allineamento delle sequenze BLASTn

| Microorganismo | Numeri di accesso | Microorganismo | Numeri di accesso |
|----------------------------------|---|-------------------------------------|---|
| Adenovirus tipo 12 | X73487.1 | Virus dell'herpes umano 5 | GQ221974.1 KR534211.1 GQ221975.1 NC_006273.2 |
| Polyomavirus BK | AB369101.1 NC_001538.1 AB369092.1 | Virus dell'herpes umano 7 | AF037218.1 NC_001716.2 |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | CP018052.1 CP017731.1 | Virus dell'herpes umano 8 | NC_009333.1 |
| <i>Cutibacterium acnes</i> | NZ_CP006032.1 | Papillomavirus umano tipo 18 | NC_001357.1 MF288723.1 |
| Virus Dengue | KR919821.1 KR052012.1 | Papillomavirus umano tipo 16 | KY549222.1 KY549321.1 |
| Virus dell'herpes simplex tipo 2 | Z86099.2 | Parvovirus umano B19 | KX752821.1 MH201456.1 |
| Adenovirus umano 2 | J01917.1 AC_000007.1 | Influenza A (tutti i segmenti) | MN253846.1 MH797924.1 MH842686.1 MN037420.1 |
| Adenovirus umano 5 | KX868466.2 AC_000008.1 AY601635.1 | Virus JC | J02226.1 AB081030.1 |
| Adenovirus umano C | AY339865.1 | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | CP034022.1 CP041586.1 |
| Herpes virus beta umano 6A | NC_001664.4 X83413.2 | <i>Propionibacterium acnes C1</i> | CP003877.1 |
| Virus dell'herpes umano 1 | X14112.1 JQ780693.1 | <i>Staphylococcus aureus</i> | AP017922.1 |
| Virus dell'herpes umano 2 | LT797626.1 JN561323.2 | <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | AP008934.1 |
| Virus dell'herpes umano 3 | DQ479962.1 KC847290.1 | Virus del Nilo occidentale | M12294.2 MF797870.1 |

Specificità analitica – Sostanze endogene ed esogene potenzialmente interferenti

Il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay è stato valutato per la suscettibilità all'interferenza dovuta ai farmaci prescritti comunemente ai soggetti infetti da HIV-1, livelli elevati di sostanze endogene e alla presenza di malattie autoimmuni. Il plasma EDTA negativo all'RNA dell'HIV-1 è stato arricchito con $3 \log_{10}$ IU/mL di HIV-1 e con albumina (120 mg/mL), bilirubina (0,03 mg/mL), emoglobina (3,5 mg/mL), trigliceridi (5,3 mg/mL) e composti di farmaci (Tabella 7) a tre volte il valore C_{max} . In modo simile il plasma nello stadio di malattia per Lupus eritematoso sistemico (LES), l'anticorpo anti-nucleo (Antinuclear Antibody, ANA) e l'artrite reumatoide (AR) sono risultati negativi allo screening e arricchiti con $3 \log_{10}$ IU/mL di HIV-1 per i test. Non sono state osservate interferenze significative. I risultati degli studi sono riepilogati nella Tabella 8.

Tabella 7: Composti di farmaci testati per l'interferenza

| Classificazione farmaco | Nome farmaco |
|---|---|
| Immunomodulatore | Interferone alfa-2a, interferone alfa-2b, ribavirina |
| CCR5 antagonista | Maraviroc |
| Potenziatore farmacocinetico | Cobicistat |
| Inibitore non nucleosidico della trascrittasi inversa (Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor, NNRTI) | Doravirina, efavirenz, nevirapina, rilpivirina |
| Inibitore della proteasi (IP) | Darunavir, amprenavir, ritonavir, saquinavir, simeprevir |
| Inibitore nucleosidico della trascrittasi inversa (Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor, NRTI) o inibitore della DNA polimerasi | cidofovir, lamivudina, ganciclovir, tenofovir disoproxil, zidovudina, valganciclovir, abacavir solfato, emtricitabina, entecavir, foscarnet, sofosbuvir |
| Inibitore dell'integrasi | Raltegravir, dolutegravir |
| Inibitore della fusione | Enfuvirtide |
| Trattamento delle infezioni opportunistiche | Azitromicina, claritromicina, fluconazolo, sulfametoxazolo, trimetoprim |

Tabella 8: Riepilogo dei test di interferenza - Agenti esogeni ed endogeni

| Endogena | Media [HIV-1] (\log_{10} IU/mL) | Deviazione (\log_{10} IU/mL) |
|--|------------------------------------|---------------------------------|
| Albumina | 3,03 | -0,11 |
| Bilirubina | 3,04 | -0,09 |
| Emoglobina | 3,04 | -0,09 |
| Trigliceridi | 3,14 | 0,01 |
| Esogene (farmaci) | Media [HIV-1] (\log_{10} IU/mL) | Deviazione (\log_{10} IU/mL) |
| Pool 1: Interferone alfa-2a, interferone alfa-2b, ribavirina maraviroc, cobicistat | 3,06 | -0,07 |
| Pool 2: Raltegravir, dolutegravir, efavirenz, nevirapina, rilpivirina | 3,04 | -0,09 |
| Pool 3: Doravirina, darunavir, amprenavir, ritonavir, saquinavir | 3,11 | -0,02 |
| Pool 4: Simeprevir, enfuvirtide, abacavir solfato, emtricitabina, entecavir, foscarnet | 3,12 | -0,01 |
| Pool 5: Cidofovir, lamivudina, ganciclovir, tenofovir disoproxil, zidovudina, valganciclovir | 3,14 | 0,01 |
| Pool 6: Sofosbuvir, azitromicina, claritromicina, fluconazolo, sulfametoxazolo, trimetoprim | 3,13 | 0 |
| Stato della malattia | Media [HIV-1] (\log_{10} IU/mL) | Deviazione (\log_{10} IU/mL) |
| Lupus eritematoso sistemico (LES) | 3,00 | -0,13 |
| Anticorpo anti-nucleo (Antinuclear Antibody, ANA) | 3,10 | -0,03 |
| Artrite reumatoide (AR) | 3,25 | 0,12 |

Precisione

La precisione del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay è stata determinata testando un gruppo di quattro membri di campioni di HIV-1 preparati in plasma negativo all'HIV-1 (incorporando sia il sottotipo B dell'HIV-1 sia il gruppo O da EQAPOL, Duke University) su tre (3) NeuMoDx System in sei (6) giorni. Su ciascun sistema è stato eseguito un totale di 12 cicli per ogni livello di campione, ottenendo 216 replicati per livello per la durata dei test. Sono state caratterizzate le precisioni intra-sessione, intra-giornata e intra-sistema ed è stata determinata la deviazione complessiva standard come $\leq 0,15 \log_{10}$ IU/mL. Non è stata trovata alcuna differenza significativa nelle prestazioni tra i sistemi, i giorni o le sessioni, come mostrato nella Tabella 9. La precisione fra operatori non è stata caratterizzata, in quanto l'operatore non riveste un ruolo significativo nell'elaborazione dei campioni con l'uso del NeuMoDx System.

Tabella 9: Precisione intra-laboratorio – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay su NeuMoDx System

| | Conc. target (log ₁₀ IU/mL) | Conc. media (log ₁₀ IU/mL) | DS intra- sistema | DS intra- giornata | DS intra- sessione | DS intra- laboratorio (complessiva) |
|--------------------|---|--|----------------------|-----------------------|-----------------------|---|
| Sottotipo 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 |
| Gruppo 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 |

Variazione da lotto a lotto

La riproducibilità tra lotti del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay è stata verificata mediante l'analisi retrospettiva dei dati del test di qualità per tre (3) lotti separati di reagenti critici. Tali dati sono stati generati tramite test funzionali dei reagenti su un gruppo di tre membri di HIV target (AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) nel plasma negativo all'RNA dell'HIV-1, insieme ai campioni di plasma negativi. Un totale di 18 replicati positivi e 14 negativi sono stati elaborati per lotto di NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip. La variazione all'interno e fra lotti è stata analizzata e presentata nella *Tabella 10*. La deviazione assoluta complessiva non ha superato lo 0,14 log₁₀ IU/mL e la deviazione standard complessiva è scesa al di sotto dello 0,25 log₁₀ IU/mL. Non sono state trovate differenze significative fra i lotti in quanto la quantificazione di tutti i componenti del pannello è rientrata nella specifica di tolleranza.

Tabella 10: Riproducibilità lotto a lotto – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

| Conc. target (log ₁₀ IU/mL) | Conc. media complessiva (log ₁₀ IU/mL) | Numero di test validi | Deviazione (log ₁₀ IU/mL) | DS fra lotti | DS intra- lotto | DS complessiva |
|---|---|--------------------------|--|--------------|--------------------|-------------------|
| 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 |

Efficacia del controllo

Un Controllo di elaborazione dei campioni (Sample Process Control, SPC2) è incluso nel NeuMoDx HIV-1 Quant Assay per segnalare errori di processo e/o amplificazione. L'efficacia di questo controllo interno è stata testata sul NeuMoDx HCV Quant Assay analogo in condizioni rappresentative di errori critici delle fasi di elaborazione, che si potrebbero verificare durante l'elaborazione dei campioni e che potrebbero non essere rilevati dai sensori di monitoraggio delle prestazioni del NeuMoDx System. Sono stati elaborati i campioni moderatamente positivi e negativi per mettere alla prova il controllo interno con la presenza degli inibitori di reazione, nessuna erogazione di NeuMoDx Wash Reagent e nessun blow-out di lavaggio. Le condizioni che hanno avuto un effetto negativo sulla rilevazione del target si sono riflesse in modo simile nella rilevazione dell'SPC2, riepilogata di seguito nella *Tabella 11*. Tutti gli scenari testati hanno dimostrato la capacità del Controllo di elaborazione dei campioni di monitorare gli errori in modo adeguato o che gli errori non rilevati non hanno avuto un effetto significativo sulla rilevazione del target e la quantificazione.

Tabella 11: Riepilogo dello studio dell'efficacia del controllo di elaborazione dei campioni

| Condizione di errore simulata | Stato di amplificazione dell'SPC2 | Stato di amplificazione del target | Risultato dell'esame |
|--|--------------------------------------|---------------------------------------|--|
| Presence of Inhibitor (Presenza di inibitore) | Not Amplified (Non amplificato) | Not Amplified (Non amplificato) | Unresolved (Irrisolto) |
| No Wash Reagent Delivered (Nessun reagente di lavaggio erogato) | Not Amplified (Non amplificato) | Not Amplified (Non amplificato) | Unresolved (Irrisolto) |
| No Wash Blowout (Nessun blow-out di lavaggio) | Amplified (Amplificato) | Amplified (Amplificato) | Positive, ± 0.3 log ₁₀ IU/mL of Control (Positivo, ± 0,3 log ₁₀ IU/mL di controllo) |

Contaminazione crociata

Il tasso di contaminazione crociata per il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay è stato determinato testando sei (6) cicli di campioni alternati altamente positivi e altamente negativi di HIV-1. È stato elaborato un totale di 36 replicati negativi e di 36 replicati di HIV-1 con titolo elevato a 6,0 log₁₀ IU/mL in una configurazione a scacchiera. Tutti i replicati dei campioni negativi sono stati indicati come negativi, dimostrando che non si è verificata contaminazione crociata durante l'elaborazione dei campioni sul NeuMoDx System.

Equivalenza delle matrici di campioni

I test sono stati eseguiti per dimostrare l'equivalenza delle matrici di campioni tra il sangue intero raccolto nelle provette di raccolta EDTA e ACD per la preparazione del plasma. Sono stati eseguiti ulteriori test per determinare l'equivalenza tra campioni di plasma fresco e congelato (raccolti nei due tipi di provette). I campioni freschi sono stati mantenuti a una temperatura di 2-4 °C prima di essere arricchiti con quattro livelli di HIV-1 (incluso un livello negativo) in modo da coprire l'intervallo quantitativo del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay e testati per l'equivalenza. Successivamente, i campioni sono stati congelati per un minimo di 24 ore a ≤ -20 °C. Dopo questo periodo di conservazione in condizioni di

congelamento, i campioni sono stati scongelati e testati nuovamente. Sono stati confrontati i risultati dei campioni di plasma EDTA rispetto a quelli ACD e dei campioni freschi rispetto a quelli congelati, per valutare l'equivalenza tramite l'analisi della regressione. I risultati dell'analisi dei dati della regressione lineare non hanno mostrato differenze significative nei valori riportati tra EDTA e ACD o tra conservazione di plasma fresco e conservazione in condizione di congelamento per il plasma testato mediante il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.

Sono stati eseguiti ulteriori test per dimostrare l'equivalenza delle prestazioni del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay sui campioni primari rispetto ai campioni secondari. I gruppi di campioni di donatori negativi all'HIV-1 arricchiti con HIV-1 target (AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) e di campioni di donatori positivi all'HIV-1 sono stati elaborati innanzitutto dalle provette per campioni primarie. Dopo l'elaborazione con provette primarie, il plasma rimanente da ciascun campione è stato suddiviso in aliquote in una provetta per campione secondaria ed elaborato nuovamente. Non sono state rilevate differenze significative nei risultati riportati tra l'elaborazione con provette di plasma primarie e secondarie.

Confronto tra metodi clinici

Le prestazioni qualitative e quantitative del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay sono state confrontate con quella di un esame di confronto approvato FDA/CE-IVD. Il test interno è stato eseguito tramite uno studio in singolo cieco di campioni di plasma residui deidentificati ottenuti da un fornitore FDA registrato. È stato elaborato un totale di 723 campioni di plasma utilizzando il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay su più NeuMoDx System. Tutti i campioni che inizialmente hanno prodotto un risultato non valido sono stati elaborati nuovamente correttamente e hanno fornito risultati validi per tutti i campioni sottoposti a questo studio.

Gli errori di elaborazione e di sistema che si sono verificati durante i test sono stati minimi e sono rientrati nei criteri di accettazione. Un totale di dodici (12) risultati indeterminati (IND) e di sette (7) risultati irrisolti (UNR) determina un tasso di risultati indeterminati pari a 1,48% (IC 95%: 0,85-2,57%) e un tasso di risultati irrisolti pari a 0,86% (IC 95%: 0,42-1,77%). Il tasso di risultati validi complessivo rilevato è stato di 97,7% (IC 95%: 96,4-98,5%).

Dei 723 risultati validi ottenuti, 165 sono stati refertati come positivi dal NeuMoDx HIV-1 Quant Assay con i valori di concentrazione corrispondenti assegnati mediante test di riferimento. Le analisi della regressione di Deming e della regressione di Passing-Bablok sono state prodotte per correlare i valori di concentrazione riportati del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ai valori riportati dei test di riferimento.

Sono stati generati i grafici di regressione e dei residui per rappresentare la correlazione tra le concentrazioni di NeuMoDx HIV-1 Quant Assay e i valori di concentrazione del test di riferimento per tutti i campioni testati con concentrazioni assegnate da entrambi. I grafici generati utilizzando l'analisi del metodo di Deming e del metodo di Passing-Bablok sono mostrati nelle *Figure 5 e 6*, rispettivamente. La qualità dell'andamento della regressione di Deming è illustrata mediante un coefficiente di pendenza di 0,975 (IC 95%: 0,939/1,011) e un'intercetta (deviazione) di -0,121 (IC 95%: -0,276/0,033), a dimostrazione che i risultati relativi alla concentrazione ottenuti dal NeuMoDx HIV-1 Quant Assay e dai test di riferimento sono strettamente correlati alla deviazione accettabile. La qualità dell'andamento lineare della regressione di Passing-Bablok è illustrata mediante un coefficiente di pendenza di 0,981 (IC 95%: 0,950/1,012) e un'intercetta (deviazione) di -0,167 (IC 95%: -0,288/-0,036), a dimostrazione, in modo analogo, che i risultati relativi alla concentrazione ottenuti dal NeuMoDx HIV-1 Quant Assay e dai test di riferimento sono strettamente correlati alla deviazione accettabile. I risultati delle analisi di Deming e Passing-Bablok sono riepilogati di seguito nella *Tabella 12*.

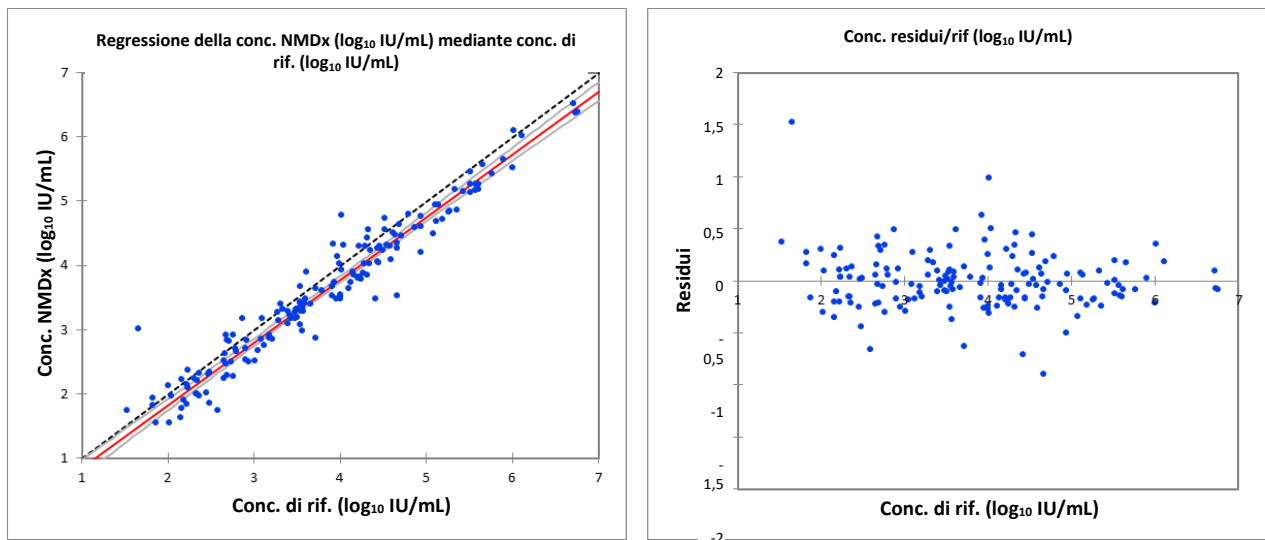


Figura 5: Grafici di equivalenza (sinistra) e residui (destra) – Analisi cumulativa del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay rispetto ai test di riferimento – Analisi di Deming

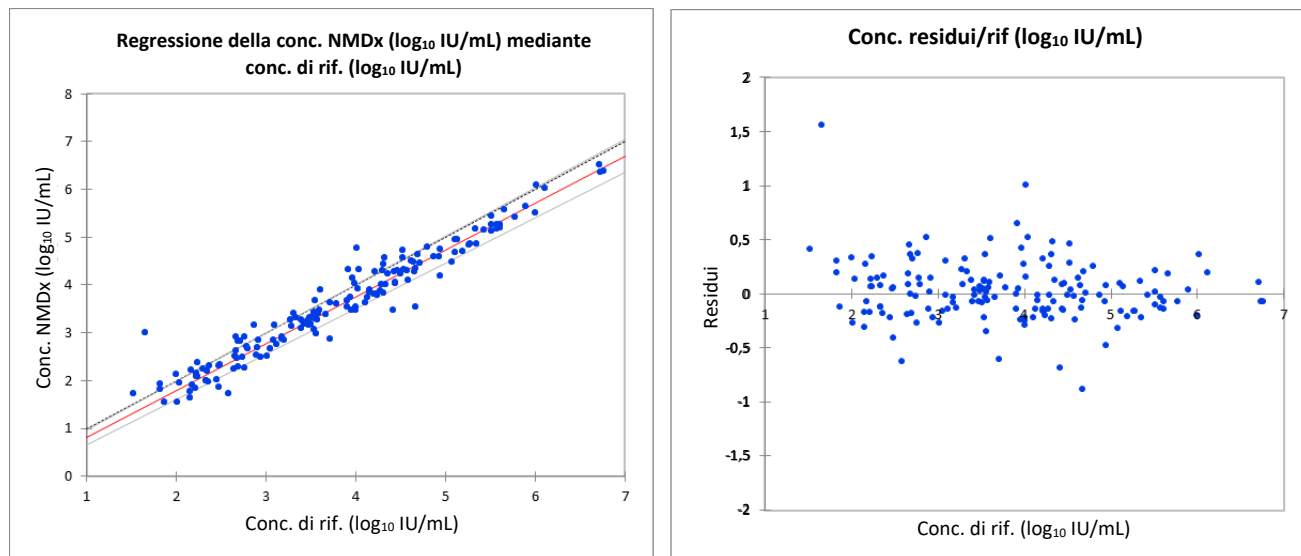


Figura 6: Grafici di equivalenza (sinistra) e residui (destra) – Analisi cumulativa del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay rispetto ai test di riferimento – Analisi di Passing-Bablok

Tabella 12: Riepilogo delle analisi della regressione di Deming e della regressione lineare di Passing-Bablok

| Analisi di Deming | | Analisi di Passing-Bablok | |
|-----------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| Intercetta | Coefficiente di pendenza | Intercetta | Coefficiente di pendenza |
| -0,121 | 0,975 | -0,167 | 0,981 |
| IC 95% (-0,276/0,033) | IC 95% (0,939/1,011) | IC 95% (-0,288/-0,036) | IC 95% (0,950/1,012) |

Dei 723 risultati validi ottenuti utilizzando il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, 171 sono stati segnalati positivi dai test di riferimento e 552 sono stati segnalati negativi. Sono state calcolate la sensibilità e la specificità del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay rispetto ai test di riferimento e sono state riepilogate di seguito nella **Tabella 13**. Dei 171 campioni positivi testati, 165 sono stati referatati come positivi dal NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, mostrando una sensibilità del 96,5% (IC 95%: 92,6-98,4%). Dei 552 campioni negativi testati, 551 sono stati referatati come negativi dal NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, mostrando una sensibilità del 99,8% (IC 95%: 99,0-100%).

Tabella 13: Risultati del confronto con il metodo qualitativo per il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay rispetto ai test di riferimento

| | | Test di riferimento | | | |
|---------|---------------------|--|---------------------|---------------------|--------|
| | | HIV-1 | Positive (Positivo) | Negative (Negativo) | Totale |
| NeuMoDx | Positive (Positivo) | | 165 | 1 | 166 |
| | Negative (Negativo) | | 6 | 551 | 557 |
| | Totale | | 171 | 552 | 723 |
| | | Sensibilità = 96,5% (IC 95% 92,6-98,4%) | | | |
| | | Specificità = 99,8% (IC 95% 99,0-100%) | | | |

Inoltre, è stato elaborato un totale di 12 gruppi di sieroconversione commerciali, inclusi 75 campioni di plasma singoli con il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, per dimostrare la rilevazione dell'RNA dell'HIV-1 prima di quella degli anticorpi o degli antigeni utilizzando test disponibili in commercio. Nell'analisi sono stati inclusi i membri dei gruppi di pre-sieroconversione, sieroconversione precoce e sieroconversione. È stata eseguita l'analisi per confrontare il primo prelievo in corrispondenza del quale viene rilevato l'RNA dell'HIV-1 da parte del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay al primo prelievo positivo per l'anticorpo/antigene (Ab/Ag) dell'HIV-1 segnalato dai test approvati FDA/CE-IVD disponibili in commercio. Per tutti i gruppi testati, il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ha rilevato l'RNA dell'HIV-1 con almeno un prelievo di anticipo rispetto ai test ematici per la rilevazione dell'anticorpo/antigene. I risultati sono riepilogati nella **Tabella 14**.

Tabella 14: Confronto dei gruppi di sieroconversione – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay rispetto al test ematico per Ab/Ag dell'HIV-1

| Giorno del prelievo con primo risultato positivo | | |
|--|---------------------------|-----------------------------|
| ID gruppo | NeuMoDx HIV-1 Quant Assay | Test ematico Ab/Ag HIV-1 Ab |
| 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 |

Sono state eseguite ulteriori analisi per confrontare il primo prelievo in corrispondenza del quale viene rilevato l'RNA dell'HIV-1 da parte del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay al primo prelievo positivo per l'RNA dell'HIV-1 rivelato dai test NAT approvati FDA/CE-IVD disponibili in commercio. Per tutti i gruppi testati, il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ha rilevato l'RNA dell'HIV-1 in corrispondenza dello stesso prelievo degli altri test NAT per la rilevazione dell'RNA dell'HIV-1. Nei due gruppi, il NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ha mostrato la rilevazione dell'RNA dell'HIV-1 con un prelievo di anticipo rispetto agli altri test NAT. I risultati sono riepilogati nella *Tabella 15*.

Tabella 15: Confronto dei gruppi di sieroconversione – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay rispetto ai test NAT per l'RNA dell'HIV-1

| Giorno del prelievo con primo risultato positivo | | |
|--|---------------------------|--------------------|
| ID gruppo | NeuMoDx HIV-1 Quant Assay | NAT di riferimento |
| 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 |

BIBLIOGRAFIA

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 sydow 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.

MARCHI COMMERCIALI

NeuMoDx™ e NeuDry™ sono marchi commerciali di NeuMoDx Molecular, Inc.

AccuPlex™ è un marchio commerciale di SeraCare Life Sciences, Inc.











BD Vacutainer® è un marchio commerciale registrato di Becton, Dickinson and Company

BD e PPT™ sono marchi commerciali di Becton, Dickinson and Company

TaqMan® è un marchio commerciale registrato di Roche Molecular Systems, Inc.

Tutti gli altri nomi di prodotto, i marchi commerciali e i marchi commerciali registrati che possono apparire in questo documento sono di proprietà dei rispettivi proprietari.

SIMBOLI

| SIMBOLO | SIGNIFICATO |
|---|---|
| R only | Solo su prescrizione medica |
|  | Produttore |
| IVD | Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> |
|  | Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea |
| REF | Numero di catalogo |
| LOT | Codice lotto |
|  | Data di scadenza |
|  | Limite di temperatura |
|  | Limiti di umidità |
|  | Non riutilizzare |
|  | Contenuto sufficiente per $<n>$ test |
|  | Consultare le istruzioni per l'uso |
|  | Attenzione |
|  | Rischio biologico |
| CE | Marchio CE |

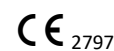


NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, USA

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



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



Assistenza tecnica/Rapporti di vigilanza: support@qiagen.com

Brevetto: www.neumodx.com/patents