

REF 300300 NeuMoDx™ HCV Quant Test Strip

R only

VOORZICHTIG: Voor VS: uitsluitend bestemd voor export

IVD Voor *in-vitro* diagnostisch gebruik met het NeuMoDx 288 System en NeuMoDx 96 Molecular SystemsGa voor updates van bijsluiters naar: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van NeuMoDx 288 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600108

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van NeuMoDx 96 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600317

BEOOGD GEBRUIK

De NeuMoDx HCV Quant Assays een geautomatiseerde *in-vitro* nucleïnezuuramplificatietest voor de kwantificering van HCV-RNA (hepatitis C-RNA) in menselijke plasma- en serumspecimens voor HCV-antistofpositieve genotypen 1 tot en met 6 van met HCV geïnfecteerde personen. De NeuMoDx HCV Quant Assay, zoals geïmplementeerd in het NeuMoDx 288 Molecular System en het NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)) maakt gebruik van geautomatiseerde RNA-extractie om het doelnucleïnezuur van het specimen te isoleren en van een realtime reverse-transcriptase-polymerasekettingreactie (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction; RT-PCR) om zich te richten op de sterk geconserveerde sequenties in het hepatitis C-virusgenoom.

De NeuMoDx HCV Quant Assay is bedoeld voor gebruik als hulpmiddel bij de behandeling van patiënten met HCV-infecties. De resultaten van de NeuMoDx HCV Quant Assay moeten worden geïnterpreteerd met inachtneming van alle relevante klinische en laboratoriumbevindingen. De NeuMoDx HCV Quant Assay is niet bedoeld voor gebruik als een screeningstest voor bloed of bloedproducten of voor het diagnosticeren van een HCV-infectie.

SAMENVATTING EN UITLEG

Voor de bereiding van plasma kan menselijk volbloed worden gebruikt, dat verzameld is in steriele bloedafnamebuisjes met ofwel ethyleendiaminetetra-azijnzuur (EDTA) ofwel zuurcitraatdextrose (Acid Citrate Dextrose; ACD) als antistollingsmiddelen of in plasmabereidingsbuisjes (Plasma Preparation Tubes; PPT); serum moet in serumbuisjes of serumscheidingsbuisjes (Serum Separation Tubes; SST) worden verzameld. Ter voorbereiding op de test wordt het plasma of serum in een secundair specimenbuisje of gefractioneerd bloed in een primair specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx System in een speciale specimen drager in het NeuMoDx System geplaatst. Van elk specimen wordt een aliquot deel van het plasma- of serummonster gemengd met NeuMoDx Lysis Buffer 3. Het NeuMoDx System voert vervolgens automatisch alle stappen uit die nodig zijn voor de extractie van het beoogde nucleïnezuur, het voorbereiden van het geïsoleerde RNA voor realtime RT-PCR-amplificatie en, indien aanwezig, het amplificeren en detecteren van de amplificatieproducten. De NeuMoDx HCV Quant Assay richt zich op twee sterk geconserveerde regio's van het HCV-genoom om de assay betrouwbaarder te maken. De NeuMoDx HCV Quant Assay omvat ook een RNA-monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control; SPC2) als hulpmiddel voor het opsporen van zowel mogelijke remmers als fouten van het NeuMoDx System of van reagentia die tijdens het extractie- en het amplificatieproces kunnen optreden.

HCV is een enkelstrengs positief RNA-virus dat zowel acute als chronische infecties kan veroorzaken.¹ Momenteel bestaat er geen vaccin voor hepatitis C. Hoewel een acute infectie over het algemeen asymptomatisch is en maar heel zelden met levensbedreigende ziekte in verband wordt gebracht, kan meer dan de helft van de personen met een HCV-infectie een chronische infectie ontwikkelen. Bij personen met een chronische HCV-infectie bedraagt het risico op levercirrose na 20 jaar 15-30%. Wereldwijd lijden naar schatting zo'n 71 miljoen mensen aan een chronische HCV-infectie en naar verwachting zal een aanzienlijk aantal van hen cirrose of leverkanker krijgen.²⁻⁴ HCV is een virus dat via bloed en bloedproducten wordt overgedragen. Wijdverbreide bloedscreeningstests hebben ervoor gezorgd dat het aantal infecties als gevolg van gedoneerd bloed aanzienlijk is afgenomen.¹

Bij de detectie van antilichamen tegen HCV wordt er geen onderscheid gemaakt tussen actieve en gezuiverde infecties. Daarom is voor de HCV-laboratoriumtestalgoritmes een diagnose van actieve HCV-infecties bij antilichaampositieve personen vereist door middel van de detectie van HCV-RNA in plasma of serum voordat een therapie wordt gestart (indien nodig). De kwantificering van HCV-RNA (viruslast) wordt vandaag de dag regelmatig gebruikt voor het bepalen en opvolgen van een succesvolle HCV-behandeling.

In de huidige richtlijnen voor het managen en behandelen van HCV-infecties wordt aanbevolen kwantitatieve HCV-RNA-tests uit te voeren voordat de antivirale therapie wordt gestart om de baseline vast te stellen en na 12 weken of later, na het eind van de behandeling. Aanvullende tijdpunten kunnen soms aanbevolen zijn. Duurzame virologische respons (Sustained Virological Response; SVR) is het doel van HCV-therapie en wordt gedefinieerd als niet-detecteerbaar HCV-RNA (met een assay die een detectielimiet van < 25 IE/ml heeft) na therapie.⁵⁻⁷ In recente richtlijnen van de American Association for the Study of Liver Diseases wordt voorgesteld HCV-RNA niet alleen bij baseline te testen, maar ook periodiek tijdens de behandeling (d.w.z. iedere 4 weken) en in week 12, na afloop van de behandeling. Tests voor de detectie van HCV-RNA worden, in combinatie met de serologische tests, gebruikt om een actieve HCV-infectie op te sporen.⁶

UITGANGSPUNT VAN DE PROCEDURE

De NeuMoDx HCV Quant Assay combineert geautomatiseerde extractie, amplificatie en detectie van RNA door realtime RT-PCR. Voor de bereiding van plasma worden volbloedspecimens verzameld in EDTA-, ACD- of PPT-buisjes voor de bereiding van plasma en/of in SST-buisjes voor de bereiding van serum. Het primaire (gefractioneerde) bloedspecimen of een aliquot deel van plasma/serum in een compatibel secundair specimenbuisje wordt voorzien van een barcode en in het NeuMoDx System geplaatst. Het NeuMoDx System zuigt automatisch een aliquot van het plasma/serum op en mengt dit met NeuMoDx Lysis Buffer 3 en de in de NeuMoDx Extraction Plate opgenomen reagentia om de verwerking in gang te zetten. Het NeuMoDx System automatiseert en integreert extractie en concentratie van RNA, bereiding van reagentia, nucleïnezuuramplificatie/detectie van de beoogde sequentie met behulp van realtime RT-PCR. De geïntegreerde monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC2) dient als hulpmiddel voor het opsporen van remmers en fouten van het systeem, het proces of de reagentia. Zodra het specimen in het NeuMoDx System is geplaatst, zijn er geen handelingen meer nodig door een laborant.

Het NeuMoDx System gebruikt een combinatie van hitte, lytisch enzym en extractiereagentia om automatisch lysis en RNA-extractie uit te voeren en remmende stoffen te verwijderen. De vrijgekomen nucleïnezuuren worden opgevangen door paramagnetische deeltjes. De deeltjes, met gebonden nucleïnezuur, worden geladen in de NeuMoDx Cartridge waar de ongebonden elementen worden weggespoeld met NeuMoDx Wash Reagent. Het gebonden RNA wordt vervolgens geëluëerd met behulp van NeuMoDx Release Reagent. Het NeuMoDx System doordrenkt de bedrijfseigen NeuDry™-amplificatiereagentia met het geëluëerde RNA. Deze reagentia bevatten alle elementen die nodig zijn voor de amplificatie van het HCV- en SPC2-doelwitmateriaal. Zo kunnen zowel de doel- als controle-RNA-sequenties tegelijkertijd worden geamplificeerd en gedetecteerd. Na reconstitutie van de gedroogde RT-PCR-reagentia brengt het NeuMoDx System het bereide RT-PCR-mengsel over naar één PCR-kamer (per specimen) van de NeuMoDx Cartridge. Reverse transcriptie, amplificatie en detectie van de controle- en doel-sequenties (indien aanwezig) vinden plaats in de PCR-kamer. De NeuMoDx Cartridge is ontworpen om het amplificaat na PCR te bevatten, waardoor het risico op verontreiniging na amplificatie vrijwel volledig wordt weggenomen.

De geamplificeerde doelen worden realtime gedetecteerd met behulp van hydrolyseprobeverbindingen (meestal aangeduid met TaqMan®-verbindingen) die gebruikmaken van fluorogene, amplificaat-specifieke oligonucleotideprobemoleculen van hun respectievelijke doelen. TaqMan-probes bestaan uit een fluorofoor die covalent is bevestigd aan het 5'-uiteinde van de oligonucleotideprobe en een quencher die is bevestigd aan het 3'-uiteinde. De fluorofoor en de quencher bevinden zich vlak bij elkaar op de intacte probe, waardoor het quenchermolecuul het fluorescent dat wordt uitgestraald door de fluorofoor kan onderdrukken door middel van Förster-resonantie-energieoverdracht (Förster Resonance Energy Transfer; FRET).

TaqMan-probes zijn zo ontworpen dat ze hybridiseren binnen een DNA-gebied dat is geamplificeerd door een specifieke set primers. Terwijl de Taq-DNA-polymerase de primer verlengt en de nieuwe streng synthetiseert, degradeert de activiteit van de 5'- tot 3'-exonuclease van de Taq-DNA-polymerase de probe die aan de template is gehybridiseerd. Door de degradatie geeft de probe de fluorofoor vrij en wordt de nabijheid met de quencher verbroken, waardoor het dovende effect door middel van FRET wordt doorbroken en detectie van de fluorofoor mogelijk wordt. Het resulterende fluorescente signaal dat wordt gedetecteerd in de kwantitatieve RT-PCR-thermocycler van het NeuMoDx System is recht evenredig aan de vrijgekomen fluorofoor en kan worden gecorreleerd met de hoeveelheid doelmateriaal dat aanwezig is.

Er wordt een TaqMan-probe gebruikt die gemerkt is met een fluorofoor (Bekrachtiging: 490 nm en emissie: 521 nm) aan het 5'-uiteinde en een donkere quencher aan het 3'-uiteinde voor het detecteren van HCV-RNA. Voor de detectie van SPC2 is de TaqMan-probe gemerkt met een andere fluorescerende kleurstof (Bekrachtiging: 535 nm en emissie: 556 nm) aan het 5'-uiteinde en een donkere quencher aan het 3'-uiteinde. De software van het NeuMoDx System meet het fluorescentiesignaal dat aan het einde van elke amplificatiecyclus wordt uitgezonden door de TaqMan-probes. Wanneer de amplificatie is voltooid, analyseert de software van het NeuMoDx System de gegevens en geeft het systeem de einduitslag POSITIVE (Positief), NEGATIVE (Negatief), INDETERMINATE (Onbepaald), UNRESOLVED (Onbekend) of NO RESULT (Geen resultaat). Indien een resultaat positief is en de berekende concentratie binnen de grenzen voor kwantificering ligt, geeft de software van het NeuMoDx System ook een kwantitatieve waarde verbonden aan het monster op.

REAGENTIA / VERBRUIKSARTIKELN

Meegeleverde materialen

REF	Inhoud	Eenheden per verpakking	Tests per eenheid	Tests per verpakking
300300	NeuMoDx HCV Quant Test Strip <i>Gedroogde RT-PCR-reagentia met HCV- en SPC2-specifieke TaqMan-probes en -primers.</i>	6	16	96

Materialen die benodigd zijn, maar niet worden meegeleverd (afzonderlijk verkrijgbaar via NeuMoDx)

REF	Inhoud
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Gedroogde paramagnetische deeltjes, lytisch enzym en monsterverwerkingscontroles</i>
800200 of 800202	NeuMoDx HCV Calibrators <i>Sets met HCV hoge kalibrator en HBV lage kalibrator voor eenmalig gebruik voor het vaststellen van de validiteit van de kalibratiecurve</i>
900201 of 900202	NeuMoDx HCV External Controls <i>Sets van HCV-positieve en -negatieve controles voor eenmalig gebruik</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) met filters
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (1000 µl) met filters

Benodigde instrumenten

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

  **WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN**

- De NeuMoDx HCV Quant Test Strip is uitsluitend geschikt voor *in-vitro*diagnostisch gebruik in combinatie met NeuMoDx Systems.
- Gebruik de reagentia en de verbruiksartikelen niet na de vermelde houdbaarheidsdatum.
- Gebruik de reagentia niet als de verzegeling is verbroken of als de verpakking bij aankomst is beschadigd.
- Gebruik de verbruiksartikelen of reagentia niet als de beschermhoes bij levering is geopend of beschadigd.
- Er moet een geldige testkalibratie beschikbaar zijn (verkregen door het verwerken van hoge en lage kalibrators uit de set NeuMoDx HCV Calibrators) voordat er testresultaten kunnen worden gegenereerd voor klinische monsters.
- NeuMoDx HCV External Controls moeten om de 24 uur worden verwerkt door het testen met de NeuMoDx HCV Quant Assay.
- Het minimale specimenvolume van secundaire aliquots is afhankelijk van de grootte van het buisje, de specimenbuisjesdrager en de verwerking van het specimenvolume volgens de onderstaande specificaties. Een volume onder het opgegeven minimum kan leiden tot de fout 'Quantity Not Sufficient' (Te weinig volume).
- Het gebruik van specimen die bij ongeschikte temperaturen of langer dan de gespecificeerde opslagtijd zijn bewaard, kan leiden tot ongeldige of foutieve resultaten.
- Voorkom te allen tijde besmetting van reagentia en verbruiksartikelen met microben en ribonuclease (RNase). Bij het gebruik van secundaire specimenbuisjes wordt aanbevolen steriele RNase-vrije wegwerppipetten te gebruiken. Gebruik voor elk specimen een nieuwe pipet.
- Hanteer of demonteer na het amplificatieproces geen NeuMoDx Cartridges om besmetting te voorkomen. Haal onder geen enkele omstandigheid NeuMoDx Cartridges uit de container voor biologisch gevaarlijk afval (NeuMoDx 288 Molecular System) of de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval (NeuMoDx 96 Molecular System). De NeuMoDx Cartridge is ontworpen om besmetting te voorkomen.
- Let goed op dat de NeuMoDx HCV Quant Test Strip, de aanvullende benodigde verbruiksartikelen en reagentia voor de test, de persoonlijke beschermingsuitrusting zoals handschoenen en een laboratoriumjas, en het NeuMoDx System niet worden verontreinigd wanneer er in het laboratorium ook PCR-tests met open buisjes worden uitgevoerd.
- Draag schone, poedervrije handschoenen van nitril bij het hanteren van NeuMoDx-reagentia en -verbruiksartikelen. Let goed op dat u de bovenkant van de NeuMoDx Cartridge, de folielaag van de NeuMoDx HCV Quant Test Strip en de NeuMoDx Extraction Plate of de bovenkant van de NeuMoDx Lysis Buffer 3 niet aanraakt; pak de verbruiksartikelen en reagentia alleen bij de zijanten vast.
- Voor elk reagens zijn veiligheidsinformatiebladen (VIB's) beschikbaar (waar van toepassing) via www.qiagen.com/neumodx-ifu
- Was uw handen grondig na het uitvoeren van de test.
- Pipetteer niet met de mond. Rook, drink of eet niet in ruimten waarin specimen of reagentia worden verwerkt.
- Behandel specimen altijd alsof ze infectieus zijn en volg procedures voor veilig werken in het laboratorium, zoals beschreven in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁸ en in CLSI-document M29-A4.⁹
- Voer ongebruikte reagentia en afval af in overeenstemming met nationale, federale, provinciale en lokale regelgeving.
- Niet hergebruiken.



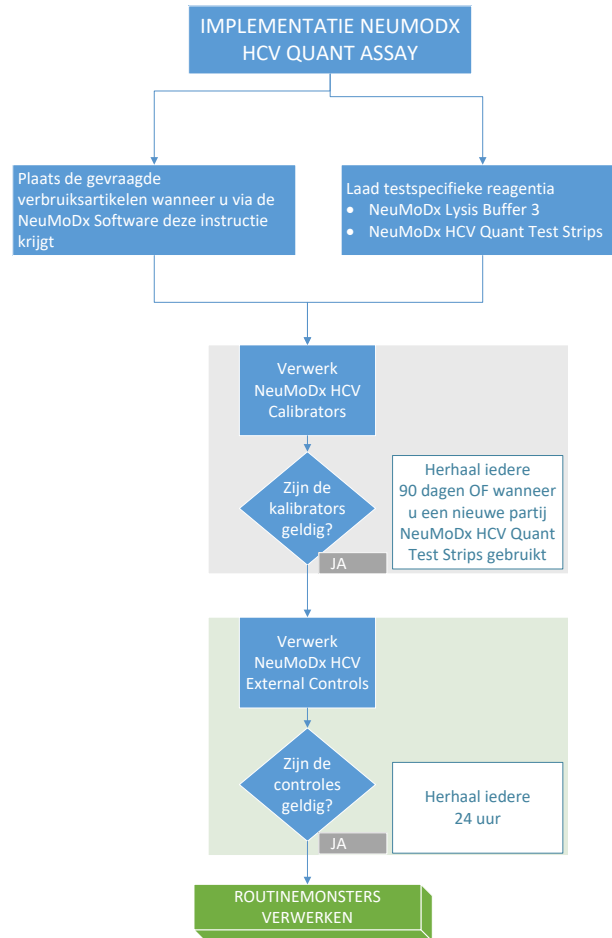
OPSLAG, HANTERING EN STABILITEIT VAN HET PRODUCT

- De NeuMoDx HCV Quant Test Strips blijven in de primaire verpakking tot en met de vermelde uiterste gebruiksdatum op het productetiket stabiel bij 4 tot 28 °C.
- Gebruik verbruiksartikelen en reagentia niet als de uiterste gebruiksdatum is verstreken.
- Gebruik testproducten niet als de binnen- of buitenverpakking zichtbaar is beschadigd.
- Laad testproducten die eerder op een ander NeuMoDx System zijn geladen niet nogmaals.
- Wanneer de NeuMoDx HCV Quant Test Strip geladen is, kan de strip maximaal 14 dagen op het NeuMoDx System blijven. De resterende houdbaarheid van geladen teststrips wordt door de software bijgehouden en direct aan de gebruiker gemeld. Het systeem vraagt de gebruiker om teststrips die na de toegestane periode worden gebruikt te verwijderen.

AFNAME, TRANSPORT EN OPSLAG VAN SPECIMENS

1. Hanteer alle specimens, kalibrators en controles alsof ze infectieuze agentia zouden kunnen overdragen.
2. Vries geen volbloed of specimens in die in primaire buisjes worden bewaard.
3. Voor de bereiding van plasmaspecimens moet er volbloed worden afgenomen in steriele buisjes met EDTA of ACD als antistollingsmiddel of in plasmabereidingsbuisjes (Plasma Preparation Tubes; PPT). Volg de instructies van de fabrikant van de specimenafnamebuisjes voor bereiding en opslag.
4. Om serumspecimens voor te bereiden, moet volbloed worden verzameld in serumbuisjes of SST-buisjes. Volg de instructies van de fabrikant van de specimenafnamebuisjes voor bereiding en opslag.
5. Specimens kunnen worden getest in primaire afnamebuisjes of secundaire specimenbuisjes. Aanbevolen voor testen met primaire buisjes:
 - a. Plasmaspecimens: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD #368589) of BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
 - b. Serumspecimens: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD #367820) of BD Vacutainer SST™ Tube (BD #367988).
6. Bereide specimens kunnen maximaal 8 uur in het NeuMoDx System worden bewaard voorafgaand aan de verwerking. Als bijkomende opslagtijd vereist is, wordt aanbevolen dat de specimens worden gekoeld of bevroren in secundaire aliquots.
7. Bewaar bereide specimens voorafgaand aan het testen maximaal 7 dagen bij 2 tot 8 °C en maximaal 8 uur bij kamertemperatuur.
8. Bereide plasmamonsters in secundaire buisjes kunnen voorafgaand aan verwerking maximaal 24 weken worden bewaard bij een temperatuur van ≤ -20 °C. Bevroren specimens dienen niet aan meer dan twee (2) cycli van invriezen/ontdooien te worden onderworpen voorafgaand aan gebruik.
 - a. Plasmaspecimens die bevroren zijn en worden onderworpen aan één (1) cyclus van invriezen/ontdooien kunnen worden bewaard in het systeem voor nog eens 8 uur.
 - b. Bewaar plasmaspecimens die bevroren zijn en worden onderworpen aan twee (2) cycli van invriezen/ontdooien niet langer dan 4 uur in het systeem.
 - c. Serumspecimens die bevroren zijn en worden onderworpen aan één (1) of twee (2) cycli van invriezen/ontdooien dienen onmiddellijk na ontdooien te worden getest.
 - d. Als de monsters bevroren zijn, laat u ze bij kamertemperatuur (15 °C-30 °C) volledig ontdooien; vortex om een gelijkmatig verdeeld monster te verkrijgen.
 - e. Het bevroren van plasma/serum in primaire afnamebuisjes wordt niet aanbevolen.
9. Als specimens worden verzonden, moeten ze worden verpakt en gelabeld conform de toepasselijke landelijke en/of internationale regelgeving.
10. Label de specimens duidelijk en geef aan dat de specimens moeten worden getest op HCV.
11. Ga verder met de instructies in de paragraaf *Testvoorbereiding*.

Het volledige implementatieproces van de NeuMoDx HCV Quant Assay is hieronder samengevat in *afbeelding 1*.



Afbeelding 1: Implementatieworkflow NeuMoDx HCV Quant Assay

GEBRUIKSHANDLEIDING

Testvoorbereiding

De NeuMoDx HCV Quant Assay kan rechtstreeks worden uitgevoerd met primaire bloedafnamebuisjes of met specimenaliquots in secundaire buisjes. De verwerking kan worden uitgevoerd met één van twee workflows voor verwerking van specimenvolume: workflow specimenvolume 550 µl of workflow specimenvolume 200 µl.

1. Breng het barcode-label voor het specimen aan op een specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx System. Het primaire bloedafnamebuisje kan worden gelabeld en direct op de specimenbuisjesdrager voor 32 buisjes worden geplaatst, na centrifugatie volgens de richtlijnen van de fabrikant. U kunt ook een aliquot van het plasma naar een tweede buisje overbrengen om in het NeuMoDx System te verwerken.
2. Als u het specimen in het primaire afnamebuisje test, plaatst u het buisje met barcode in een specimenbuisjesdrager. Zorg er daarbij voor dat de dop is verwijderd alvorens het buisje op het NeuMoDx System te laden. De minimale volumes **boven** buffycoat-laag worden hieronder gedefinieerd en er is aan voldaan indien specimens worden verzameld en verwerkt volgens de instructies van de fabrikant van de buisjes. De prestaties worden niet gegarandeerd voor verkeerd verzamelde specimens.

Type buisje	Minimaal vereist specimenvolume	
	Workflow 550 µl	Workflow 200 µl
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. Bij gebruik van een secundair buisje:
 - a. Zwenk het specimen voorzichtig voor een uniforme distributie
 - b. Gebruik een nieuwe pipet voor ieder specimen en breng een aliquot van plasma of serum over naar een specimenbuisje dat voorzien is van een barcode en dat compatibel is met het NeuMoDx System (zie hieronder voor het juiste volume):

Specimenbuisjesdrager	Grootte buisje	Minimaal vereist specimenvolume	
		Workflow 550 µl	Workflow 200 µl
32-Tube Specimen Tube Carrier (Specimenbuisjesdrager voor 32 buisjes)	Diameter 11-14 mm met hoogte 60-120 mm	700 µl	400 µl
24-Tube Specimen Tube Carrier (Specimenbuisjesdrager voor 24 buisjes)	Diameter 14,5-18 mm met hoogte 60-120 mm	1100 µl	800 µl
Low Volume Specimen Tube Carrier (Specimenbuisjesdrager met laag volume)	Microcentrifugebuisje van 1,5 ml met conische bodem	650 µl	300 µl

- c. Let op dat er geen klonters van het monster in het specimenbuisje terechtkomen.

Bediening van het NeuMoDx System

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288 en NeuMoDx 96 Molecular Systems (O/N 40600108 en 40600317) voor gedetailleerde instructies

1. Laad de testopdracht op het NeuMoDx System aan de hand van de gewenste workflow voor specimenvolumes en het gewenste type specimenbuisje:
 - specimenvolume van 550 µl wordt getest door het specimentype te definiëren als '**Plasma**' of '**Serum**'
 - specimenvolume van 200 µl wordt getest door het specimentype te definiëren als '**Plasma2**' of '**Serum2**'
 - Indien niet gedefinieerd in de testopdracht, wordt het specimentype **Plasma** in een **Secondary Tube** (Secundair buisje) als standaard gebruikt.
2. Vul een of meer teststripdragers van het NeuMoDx System met NeuMoDx HCV Quant Test Strip(s) en laad de teststripdrager(s) met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System.
3. Plaats de benodigde verbruiksartikelen in de betreffende dragers van het NeuMoDx System als de software van het NeuMoDx System dat aangeeft. Laad de dragers voor verbruiksartikelen vervolgens met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System.
4. Vervang het NeuMoDx Wash Reagent en het NeuMoDx Release Reagent en leeg het primerafval en de container voor biologisch gevaarlijk afval (alleen NeuMoDx 288 Molecular System), de bak voor tipafval (alleen NeuMoDx 96 Molecular System) of de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval (alleen NeuMoDx 96 Molecular System) als u de instructie hiervoor krijgt op het scherm van de NeuMoDx System-software.
5. Verwerk de NeuMoDx HCV Calibrators en/of NeuMoDx HCV External Controls als u de instructie hiervoor krijgt via de software van het NeuMoDx System. Meer informatie over kalibrators en controles vindt u terug in de paragraaf *Resultaten verwerken*.
6. Plaats de specimen-/kalibrator-/controlebuisjes in een specimenbuisjesdrager en controleer of alle dopjes van de buisjes zijn verwijderd.
7. Plaats de specimenbuisjesdrager(s) in het autoladerrek en plaats de drager(s) met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx System. Omdat er een geldige testopdracht in het systeem aanwezig is, wordt hierdoor de verwerking van de geladen specimen voor de aangegeven tests gestart.

BEPERKINGEN

1. De NeuMoDx HCV Quant Test Strip kan alleen in NeuMoDx Systems worden gebruikt.
2. De prestaties van de NeuMoDx HCV Quant Test Strip zijn vastgesteld voor plasmaspecimens die bereid zijn met EDTA/ACD als antistollingsmiddel en voor serumspecimens die in serumscheidingsbuisjes zijn bereid. Het gebruik van de NeuMoDx HCV Quant Test Strip met andere bronnen is niet beoordeeld en de prestatiekenmerken voor andere soorten specimens zijn onbekend.
3. De prestaties van de NeuMoDx HCV Quant Test Strip zijn vastgelegd voor testen met primaire buisjes met behulp van BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tubes, BD Vacutainer PPT Plasma Preparation Tubes, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tubes en BD Vacutainer SST Tubes.
4. Hantering van specimens buiten de aanbevolen opslagomstandigheden kan de kwantitatieve nauwkeurigheid van de NeuMoDx HCV Quant Assay negatief beïnvloeden. De kans is kleiner dat het kwalitatieve (positieve/negatieve) uitslagpercentage wordt beïnvloed.
5. De kwantitatieve nauwkeurigheid van de NeuMoDx HCV Quant Assay kan negatief worden beïnvloed door serumspecimens in het systeem te bewaren nadat deze langdurig bevroren zijn opgeslagen en onderworpen zijn aan twee cycli van invriezen/ontdooien zonder onmiddellijk testen.
6. Een kleine toename van de detectielimiet en ondergrens voor kwantificering van de NeuMoDx HCV Quant Assay werd waargenomen bij gebruik van de workflow met specimenvolume van 200 µl.
7. De NeuMoDx HCV Quant Assay mag niet worden gebruikt met monsters van gehepariniseerde mensen.
8. Aangezien de detectie van HCV afhankelijk is van het aantal virusdeeltjes van doelwit-RNA dat in het monster aanwezig is, zijn betrouwbare resultaten afhankelijk van de manier waarop specimens worden afgenomen, gehanteerd en bewaard.
9. De NeuMoDx HCV Calibrators en NeuMoDx HCV External Controls moeten worden verwerkt zoals aanbevolen in de bijsluiters, wanneer de software van het NeuMoDx System daarom vraagt, voordat routinematige klinische monsters worden verwerkt.
10. Foutieve resultaten kunnen worden veroorzaakt door onjuiste afname, hantering of opslag van specimens, technische fouten of het door elkaar halen van specimenbuisjes. Bovendien kunnen vals-negatieve resultaten voorkomen wanneer het aantal virusdeeltjes in het monster lager is dan de detectielimiet van de NeuMoDx HCV Quant Assay.
11. Het bedienen van het NeuMoDx System mag alleen worden uitgevoerd door medewerkers die zijn getraind in het gebruik van het NeuMoDx System.
12. Als zowel het HCV-doelmateriaal als het SPC2-doelmateriaal niet amplificeren, wordt er een ongeldig resultaat (Indeterminate (Onbepaald), No Result (Geen resultaat) of Unresolved (Onbekend)) gerapporteerd en moet de test worden herhaald.
13. Als het resultaat van de NeuMoDx HCV Quant Assay positief is, maar de kwantificeringswaarde niet binnen het kwantificeringsbereik ligt, geeft het NeuMoDx System aan of de gedetecteerde HCV-waarde *lager* dan de ondergrens voor kwantificering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) was of *hoger* dan de bovengrens voor kwantificering (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
14. Als de gedetecteerde HCV-waarde *lager* dan de LLoQ is, kan de NeuMoDx HCV Quant Assay (indien gewenst) met een ander aliquot van het specimen worden herhaald.
15. Als de gedetecteerde HCV-waarde hoger dan de ULoQ was, kan de NeuMoDx HCV Quant Assay worden herhaald met een verdund aliquot deel van het oorspronkelijke specimen. Een verdunding van 1:100 of 1:1000 in HCV-negatief plasma of Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA, VS) is aanbevolen. De concentratie van het oorspronkelijke specimen is als volgt berekend:

$$\text{oorspronkelijke specimenconcentratie} = \log_{10}(\text{verdundingsfactor}) + \text{gerapporteerde concentratie van het verdunde monster}$$
16. De incidentele aanwezigheid van PCR-remmers in plasma en serum kan resulteren in een kwantificeringsfout van het systeem. Als dat gebeurt, wordt aanbevolen om de test te herhalen met hetzelfde specimen, verdund in Basematrix in een verhouding van 1:10 of 1:100.
17. Een positief resultaat is niet altijd een indicatie voor de aanwezigheid van levende organismen. Een positief resultaat doet echter wel het vermoeden rijzen dat er hepatitis C-virus-RNA aanwezig is.
18. Verwijderingen of mutaties in de geconserveerde gebieden waar de NeuMoDx HCV Quant Assay zich op richt, kunnen gevolgen hebben voor de detectie of kunnen tot een foutief resultaat leiden bij gebruik van de NeuMoDx HCV Quant Test Strip.
19. De resultaten van de NeuMoDx HCV Quant Assay moeten door de arts worden beschouwd als aanvulling op klinische observaties en overige beschikbare informatie. De test is niet bedoeld voor het diagnosticeren van de infectie.
20. Gebruik de goede laboratoriumpraktijken, zoals het aantrekken van nieuwe handschoenen bij het hanteren van specimens van verschillende patiënten, om besmetting te voorkomen.

RESULTATEN VERWERKEN

Beschikbare resultaten kunnen worden bekeken of afgedrukt vanuit het tabblad 'Results' (Resultaten) in het venster Results (Resultaten) op het aanraakscherm van het NeuMoDx System. De resultaten van de NeuMoDx HCV Quant Assay worden automatisch gegenereerd door de software van het NeuMoDx System, dat gebruikmaakt van het beslissingsalgoritme en de resultaatverwerkingsparameters die in het NeuMoDx HCV-assaydefinitiebestand (HCV ADF) worden vermeld. Een resultaat kan worden gerapporteerd als Negative (Negatief), Positive (Positief) met een gerapporteerde HCV-concentratie, Positive (Positief) boven ULoQ, Positive (Positief) onder LLoQ, Indeterminate (Onbepaald; IND), Unresolved (Onbekend; UNR) of No Result (Geen resultaat; NR), afhankelijk van de amplificatiestatus van het doelmateriaal en de monsterverwerkingscontrole. Resultaten worden gerapporteerd op basis van het ADF-beslissingsalgoritme, volgens het overzicht in de onderstaande *tabel 1*.

Tabel 1. Overzicht van het beslissingsalgoritme van de NeuMoDx HCV Quant Assay

RESULTAAT	HCV-doelwit	Monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC2)	Interpretatie van het resultaat
Positive (Positief) met gerapporteerde concentratie	Amplified (Geamplificeerd) $0,9 \leq [\text{HCV}] \leq 8,2 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (workflow 550 μl) $1,5 \leq [\text{HCV}] \leq 8,2 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (workflow 200 μl)	Amplified (Geamplificeerd) of Not Amplified (Niet geamplificeerd)	HCV-RNA gedetecteerd binnen kwantitatief bereik
Positive (Positief), boven ULoQ	Amplified (Geamplificeerd) $[\text{HCV}] > 8,2 \log_{10} \text{ IE/ml}$	Amplified (Geamplificeerd) of Not Amplified (Niet geamplificeerd)	HCV-RNA gedetecteerd boven kwantitatief bereik
Positive (Positief), onder LLoQ	Amplified (Geamplificeerd) $[\text{HCV}] < 0,9 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (workflow 550 μl) $[\text{HCV}] < 1,5 \log_{10} \text{ IE/ml}$ (workflow 200 μl)	Amplified (Geamplificeerd) of Not Amplified (Niet geamplificeerd)	HCV-RNA gedetecteerd onder kwantitatief bereik
Negative (Negatief)	Not Amplified (Niet geamplificeerd)	Amplified (Geamplificeerd)	HCV-RNA niet gedetecteerd
Indeterminate (Onbepaald)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Niet geamplificeerd, Systeemfout gedetecteerd, Monsterverwerking voltooid)		Alle doelresultaten waren ongeldig; test het monster opnieuw†
No Result* (Geen resultaat)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Niet geamplificeerd, Systeemfout gedetecteerd, Monsterverwerking afgebroken)		Verwerking van het monster werd afgebroken; test het monster opnieuw†
Unresolved (Onbekend)	Not amplified, No System Error Detected (Niet geamplificeerd, Geen systeemfout gedetecteerd)		Alle doelresultaten waren ongeldig; test het monster opnieuw†

*Melding No Result (Geen resultaat) wordt alleen weergegeven in NeuMoDx System-softwareversie 1.8 en hoger.

†Het NeuMoDx System is uitgerust met een functie voor automatische Rerun (Opnieuw uitvoeren)/Repeat (Herhalen) die de eindgebruiker kan gebruiken om ervoor te zorgen dat een IND (Onbepaald)/UNR (Onbekend)/NR (Geen resultaat) resultaat automatisch opnieuw wordt verwerkt om vertragingen in de resultaatrapportage zoveel mogelijk te beperken.

Testberekening

1. Voor monsters binnen het kwantificeringsbereik van de NeuMoDx HCV Quant Assay wordt de concentratie HCV-RNA in de monsters berekend met behulp van de opgeslagen standaardcurve in combinatie met de kalibratiecoëfficiënt en het specimenvolume.
 - a. Een kalibratiecoëfficiënt wordt berekend op basis van de resultaten van de NeuMoDx HCV Calibrators die zijn verwerkt om de validiteit van de standaardcurve vast te stellen voor een specifieke partij NeuMoDx HCV Quant Test Strips met een specifiek NeuMoDx System.
 - b. De kalibratiecoëfficiënt wordt mee opgenomen in de uiteindelijke bepaling van de concentratie HCV-RNA.
 - c. De NeuMoDx Software houdt rekening met het specimeninvoervolume bij bepaling van de concentratie van HCV-RNA per ml specimen.
2. De resultaten van de NeuMoDx HCV Quant Assay worden gerapporteerd in $\log_{10} \text{ IE/ml}$.
3. De resulterende kwantificering van de onbekende monsters is herleidbaar tot de 5^e internationale norm voor HCV van de WHO.

Testkalibratie

Een geldige kalibratie op basis van de standaardcurve is vereist om HCV-RNA in de specimens te kwantificeren. Om geldige testresultaten te genereren, moet een testkalibratie worden uitgevoerd met behulp van door NeuMoDx Molecular, Inc. geleverde externe kalibrators.

Kalibrators

1. Er moet telkens een set NeuMoDx HCV Calibrators worden verwerkt bij elke nieuwe partij NeuMoDx HCV Quant Test Strips wanneer er een nieuw HCV-assaydefinitiebestand naar het NeuMoDx System wordt geüpload, wanneer de validiteitsperiode van de huidige set kalibrators is verstreken (momenteel ingesteld op 90 dagen) of wanneer de software van het NeuMoDx System wordt gewijzigd.
2. De software van het NeuMoDx System geeft een melding weer wanneer kalibrators moeten worden verwerkt. Er kan geen nieuwe partij teststrips worden gebruikt voor het uitvoeren van tests voordat de kalibrators met succes zijn verwerkt.
3. De kalibratievaliditeit wordt als volgt vastgesteld:
 - a) Er moet een set van twee kalibrators, één (1) hoge en één (1) lage, worden verwerkt om de validiteit vast te stellen.
 - b) Ten minste twee (2) van de drie (3) replica's moeten resultaten opleveren die zich binnen de vooraf gedefinieerde parameters bevinden. Het nominale doelwit voor de lage kalibrator is $3 \log_{10}$ IE/ml en het nominale doelwit voor de hoge kalibrator is $5 \log_{10}$ IE/ml.
 - c) Een kalibratiecoëfficiënt wordt berekend om rekening te houden met de verwachte variatie tussen partijen teststrips. Deze kalibratiecoëfficiënt wordt gebruikt om de HCV-eindconcentratie te bepalen.
4. Als één of beide kalibrators ongeldig worden verklaard, verwerkt u de ongeldige kalibrator(s) opnieuw met een nieuwe flacon. Als één kalibrator de validiteitstest niet heeft doorstaan, kunt u de test ook alleen met de gefaalde kalibrator herhalen, omdat het niet vereist is dat de gebruiker beide kalibrators opnieuw test.
5. Als de kalibrator(s) na elkaar ongeldig worden verklaard, neemt u contact op met NeuMoDx Molecular, Inc.

Kwaliteitscontrole

Lokale regelgeving stelt meestal dat het laboratorium verantwoordelijk is voor controleprocedures om de nauwkeurigheid en precisie van het gehele analyseproces te bewaken. Ook moet zij het aantal, type en de frequentie van testcontrolemiddelen vaststellen met behulp van geverifieerde werkingsspecificaties voor een niet-gemodificeerd, goedgekeurd testsysteem.

Externe controles

1. Positieve en negatieve externe controles moeten om de 24 uur worden verwerkt door het testen met de NeuMoDx HCV Quant Assay. Als er geen set met geldige externe controleresultaten bestaat, attendeert de software van het NeuMoDx System de gebruiker erop dat controles moeten worden verwerkt voordat monsterresultaten kunnen worden gerapporteerd.
2. De validiteit van externe controles wordt door het NeuMoDx System beoordeeld op basis van het verwachte resultaat. De positieve controle dient een HCV-positief resultaat op te leveren en de negatieve controle een HCV-negatief resultaat.
3. In geval van afwijkende resultaten bij externe controles doet u het volgende:
 - a) Een Positive (Positief) testresultaat dat wordt gerapporteerd voor een negatieve-controlemonster duidt op besmetting van het specimen.
 - b) Een Negative (Negatief) testresultaat dat wordt gerapporteerd voor een positieve-controlemonster kan erop wijzen dat er een probleem is met reagentia of het instrument.
 - c) In beide bovengenoemde gevallen of bij een Indeterminate (Onbepaald; IND) resultaat of No Result (Geen resultaat; NR) herhaalt u de NeuMoDx HCV External Controls met nieuwe flacons van de controle(s) die de validiteitstest niet heeft (hebben) doorstaan.
 - d) Als de positieve NeuMoDx HCV External Control een Negative (Negatief) resultaat blijft opleveren, neemt u contact op met de technische service van NeuMoDx.
 - e) Als de negatieve NeuMoDx HCV External Control een Positive (Positief) resultaat blijft opleveren, probeert u alle mogelijke besmettingsbronnen te verwijderen, onder meer door alle reagentia te vervangen. Neem contact op met de technische service van NeuMoDx als het probleem aanhoudt.

(Interne) monsterverwerkingscontroles

Een exogene monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC2) is in de NeuMoDx Extraction Plate opgenomen en ondergaat met elk monster het hele proces van extractie van nucleïnezuur en realtime RT-PCR-amplificatie. SPC2-specifieke primers en probe zijn ook opgenomen in elke NeuMoDx HCV Quant Test Strip, waardoor de detectie van SPC2 en het doel-HCV-RNA (indien aanwezig) mogelijk is via multiplexe realtime RT-PCR. Detectie van SPC2-amplificatie zorgt ervoor dat de software van het NeuMoDx System de doeltreffendheid van de RNA-extractie en RT-PCR-amplificatieprocessen kan monitoren.

Ongeldige resultaten

Als een NeuMoDx HCV Quant Assay die met het NeuMoDx System is uitgevoerd, geen geldig resultaat oplevert na afloop van de monsterverwerking, wordt dit gerapporteerd als Indeterminate (Onbepaald; IND), No Result (Geen resultaat; NR) of Unresolved (Onbekend; UNR), afhankelijk van de fout die is opgetreden.

Een IND-resultaat wordt gerapporteerd als er een fout wordt gedetecteerd in het NeuMoDx System tijdens de verwerking van het monster. Wanneer een IND-resultaat wordt gerapporteerd, wordt aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren.

Een resultaat wordt gerapporteerd als UNR (Onbekend) als er geen geldige amplificatie van HCV-RNA of de SPC2 is gedetecteerd in afwezigheid van systeemfouten. Dit wijst mogelijk op een reagensdefect of de aanwezigheid van remmers. Wanneer een UNR-resultaat wordt gerapporteerd, wordt in eerste instantie aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren. Als deze test ook een ongeldig resultaat oplevert, kan een verdund specimen worden gebruikt om de effecten van mogelijke monsterremming te verminderen.

Indien een NeuMoDx HCV Quant Assay uitgevoerd in het NeuMoDx System geen geldig resultaat produceert en de monsterverwerking voortijdig wordt afgebroken, wordt dit gemeld als No Result (Geen resultaat; NR). Wanneer een NR wordt gerapporteerd, wordt aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren.

PRESTATIEKENMERKEN

Analytische gevoeligheid – Detectielimiet op basis van de WHO-norm

De analytische gevoeligheid van de NeuMoDx HCV Quant Assay werd gekenmerkt door het testen van negatieve specimen en een verdunde reeks van de 5^e internationale norm van de WHO (genotype 1) in gescreend negatief menselijk plasma en serum om de detectielimiet (Limit of Detection; LoD) op de NeuMoDx Systems te bepalen. De LoD werd bepaald als het laagste doelniveau waarbij 95% werd gedetecteerd, zoals vastgesteld met een probitanalyse. Het onderzoek werd uitgevoerd over een periode van 3 dagen, met meerdere systemen en met meerdere partijen NeuMoDx-reagentia. Met elk systeem (N288 en N96) werden 18 replica's van elke verdunningsconcentratie per dag verwerkt. De detectiepercentages zijn weergegeven in *tabel 2*. Een aanvullend onderzoek werd uitgevoerd om de LoD van de NeuMoDx HCV Quant Assay te bepalen wanneer de workflow met specimenvolume van 200 µl wordt gebruikt. De resultaten zijn weergegeven in *tabel 3*.

Tabel 2. Positieve detectiepercentages voor de bepaling van de LoD van de NeuMoDx HCV Quant Assay: workflow van 550 µl

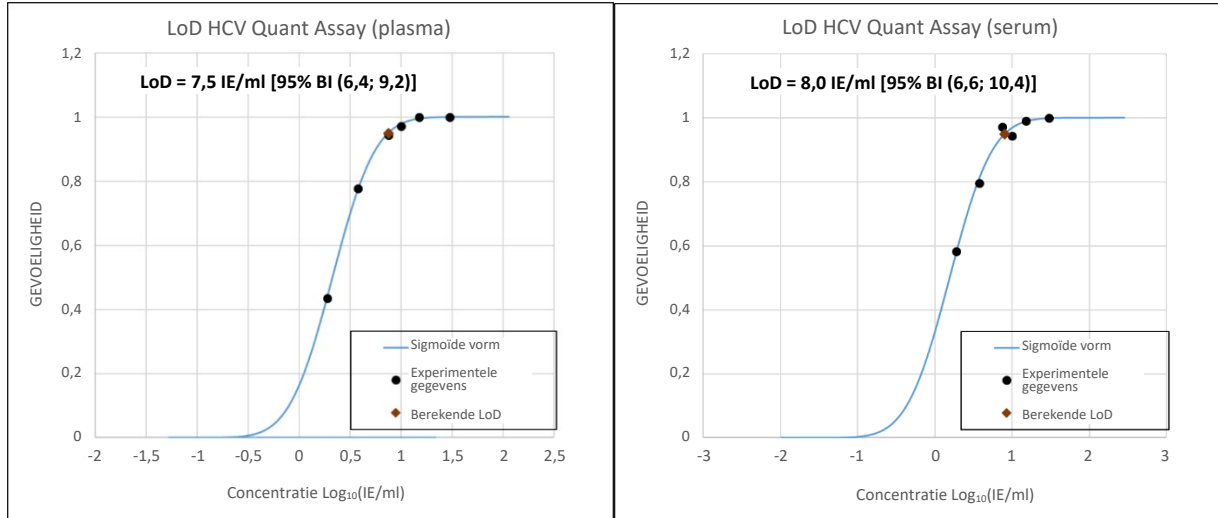
Doelwitconcentratie [IE/ml]	Doelwitconcentratie [\log_{10} IE/ml]	PLASMA			SERUM		
		Aantal geldige tests	Aantal positieve	Detectiepercentage	Aantal geldige tests	Aantal positieve	Detectiepercentage
30	1,48	108	108	100%	108	108	100%
15	1,18	108	108	100%	108	107	99%
10	1,00	108	105	97%	108	102	94%
7,5	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. Positieve detectiepercentages voor de bepaling van de LoD van de NeuMoDx HCV Quant Assay: workflow van 200 µl

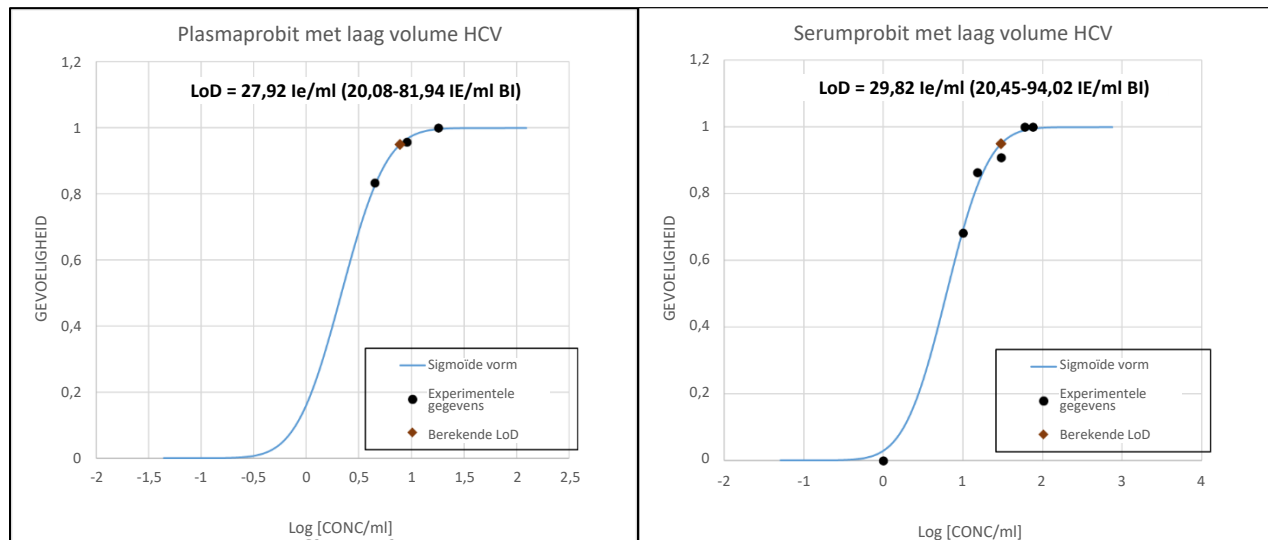
Doelwitconcentratie [IE/ml]	Doelwitconcentratie [\log_{10} IE/ml]	PLASMA			SERUM		
		Aantal geldige tests	Aantal positieve	Detectiepercentage	Aantal geldige tests	Aantal positieve	Detectiepercentage
75	1,88	N.v.t.	N.v.t.	N.v.t.	22	22	100%
60	1,78	22	22	100%	22	22	100%
30	1,48	22	21	95,5%	22	20	90,9%
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%

De LoD van de NeuMoDx HCV Quant Assay in plasma bij alle genotypen werd vastgesteld op 7,5 IE/ml (95% BI 6,4 tot 9,2 IE/ml) [(0,9 \log_{10} IE/ml) (95% BI 0,8 tot 1,0 \log_{10} IE/ml)] zoals getest met het NeuMoDx 288 Molecular System met behulp van de workflow met specimenvolume van 550 µl (*afbeelding 2*). De LoD van de NeuMoDx HCV Quant Assay voor serumspecimens werd vastgelegd op 8,0 IE/ml (95% BI 6,6 tot 10,4 IE/ml) [(0,9 \log_{10} IE/ml) (95% BI 0,8-1,0 \log_{10} IE/ml)] met behulp van de workflow met specimenvolume van 550 µl (*afbeelding 2*); de LoD-claim voor beide specimentypen met behulp van de workflow met specimenvolume van 550 µl bedraagt **8,0 IE/ml (0,9 \log_{10} IE/ml)**.

De LoD van de NeuMoDx HCV Quant Assay met behulp van de workflow met specimenvolume van 200 µl werd vastgelegd op 27,9 IE/ml (95% BI 20,1-81,9) bij plasmaspecimens en 29,8 IE/ml (95% BI 20,5-94,0) bij serumspecimens (*afbeelding 3*); de LoD-claim voor beide specimentypen met behulp van de workflow met specimenvolume van 200 µl bedraagt **30,0 IE/ml (1,5 \log_{10} IE/ml)**.



Afbeelding 2: Probitanalyse die werd gebruikt om de LoD van de NeuMoDx HCV Quant Assay te bepalen: voor plasma (links) en serum (rechts): workflow van 550 µl



Afbeelding 3: Probitanalyse die werd gebruikt om de LoD van de NeuMoDx HCV Quant Assay te bepalen: voor plasma (links) en serum (rechts): workflow van 200 µl

Analytische gevoeligheid – Kwantificeringslimiet – Ondergrens voor kwantificering (Lower Limit of Quantitation; LLoQ) volgens de WHO-norm

De ondergrens voor kwantificering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) is vastgesteld als de laagste doelconcentratie waarbij er een detectie is van > 95% EN een TAE van ≤ 1,0. Om de LLoQ te bepalen, werd de totale analytische fout (Total Analytical Error; TAE) berekend voor elke HCV-doelconcentratie waarbij er een detectie van > 95% werd gerapporteerd als onderdeel van de LoD-berekening. TAE wordt als volgt gedefinieerd:

$$\text{TAE} = \text{vertekening} + 2 \cdot \text{SD} \quad [\text{Westgard-statistiek}]$$

De vertekening is de absolute waarde van het verschil tussen het gemiddelde van de berekende concentratie en de verwachte concentratie. SD verwijst naar de standaardafwijking (Standard Deviation) van de gekwantificeerde waarde van het monster.

De verzamelde resultaten voor de 6 niveaus van HCV-plasma- en -serumspecimens getest in het LLoQ-onderzoek, gebruikmakend van genotype 1 en met behulp van de workflow met specimenvolume van 550 µl, zijn weergegeven in *tabel 4*. De resultaten van aanvullende tests met behulp van de workflow met specimenvolume van 200 µl zijn weergegeven in *tabel 5*.

Tabel 4. LLoQ NeuMoDx HCV Quant Assay, met vertekening en TAE: workflow van 550 µl

Doelconc. [IE/ml]	Doelconc. [\log_{10} IE/ml]	Plasma					Serum				
		Gemiddelde conc. [\log_{10} IE/ml]	Detectie (%)	SD	Vertekening	TAE	Gemiddelde conc. [\log_{10} IE/ml]	Detectie (%)	SD	Vertekening	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. LLoQ NeuMoDx HCV Quant Assay, met vertekening en TAE: workflow van 200 µl

Doelconc. [IE/ml]	Doelconc. [\log_{10} IE/ml]	Plasma					Serum				
		Gemiddelde conc. [\log_{10} IE/ml]	Detectie (%)	SD	Vertekening	TAE	Gemiddelde conc. [\log_{10} IE/ml]	Detectie (%)	SD	Vertekening	TAE
75	1,88	N.v.t.	N.v.t.	N.v.t.	N.v.t.	N.v.t.	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

De LLoQ voor de NeuMoDx HCV Quant Assay bedroeg 7,7 IE/ml (0,9 \log_{10} IE/ml) voor plasma, en 8,4 IE/ml (0,9 \log_{10} IE/ml) voor serum, met behulp van de workflow met specimenvolume van 550 µl; de LLoQ voor zowel plasma als serum bedroeg **8,4 IE/ml (0,9 \log_{10} IE/ml)** met behulp van de workflow met specimenvolume van 550 µl.

De LLoQ voor de NeuMoDx HCV Quant Assay waarbij de WHO-norm is toegepast, bedroeg 30,0 IE/ml (1,5 \log_{10} IE/ml) voor plasma, en 29,8 IE/ml (1,37 \log_{10} IE/ml) voor serum, met behulp van de workflow met specimenvolume van 200 µl; de LLoQ voor zowel plasma als serum bedroeg **30,0 IE/ml (0,9 \log_{10} IE/ml)** met behulp van de workflow met specimenvolume van 200 µl.

Analytische gevoeligheid - LoD en LLoQ over HCV-genotypen

De LoD werd eerst vastgesteld voor genotype 1 (5^e internationale norm van de WHO). Daarna werden er aanvullende tests uitgevoerd naar de vastgestelde LoD voor elk van de andere 5 genotypen. Er werden zesendertig (36) replica's getest met concentraties die overeenkwamen met 2X, 1X en 0,5X van de bovengrens van de LoD (95% BI) met behulp van de NeuMoDx HCV Quant Assay met plasma met behulp van de workflow met specimenvolume van 550 µl. De positieve detectiepercentages voor elk genotype bij elk van deze geteste concentraties werden in een tabel genoteerd en gebruikt om met een probitanalyse de LoD te berekenen.

De totale analytische fout bij deze geteste niveaus werd ook berekend. Het laagste niveau met 95% positieve detectie en berekende TAE van $\leq 1,0$ werd opnieuw beschouwd als de LLoQ voor het genotype. Deze resultaten bevestigen dat de NeuMoDx HCV Quant Assay uitstekende en gelijke detectieprestaties levert bij alle zes genotypen met een bereik van 4,5-7,5 IE/ml, inclusief de resultaten die met de 5^e internationale norm van de WHO (Genotype 1) zijn verkregen. Over het algemeen bedroeg de LoD van de NeuMoDx HCV Quant Assay bij genotypen 7,5 IE/ml (0,88 \log_{10} IE/ml) en de LLoQ bedroeg de hoogste waarde van 7,7 IE/ml (0,9 \log_{10} IE/ml), zoals gerapporteerd voor de 5^e internationale norm van de WHO (Genotype 1 of hoger). In *tabel 6* worden de LoD- en LLoQ-resultaten weergegeven voor tests bij HCV-genotypen zoals is vastgelegd in plasma.

Tabel 6. HCV-genotypen getest in plasma met behulp van workflow voor specimenvolume van 550 µl

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

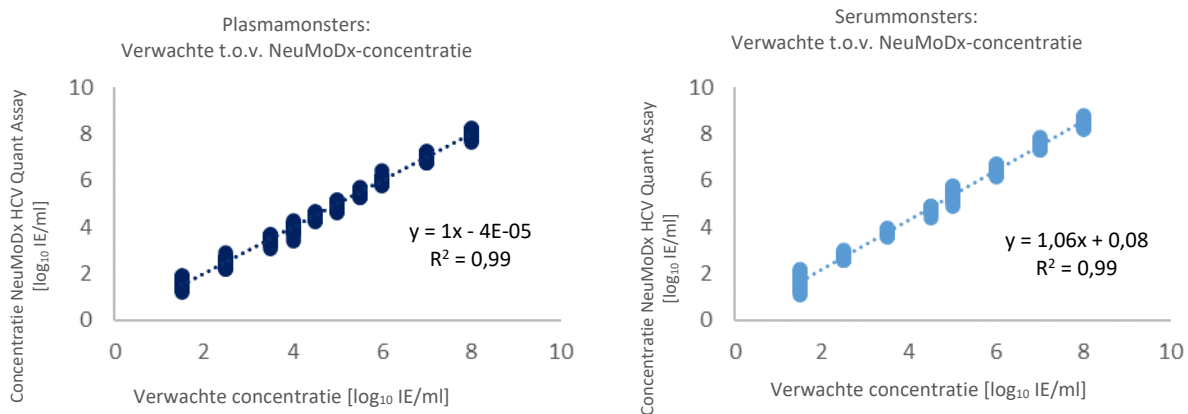
Op basis van de resultaten van de hierboven genoemde studies, claimt NeuMoDx een **LoD van 8,0 IE/ml (0,9 \log_{10} IE/ml)** en een **LLoQ van 8,4 IE/ml (0,9 \log_{10} IE/ml)** voor de NeuMoDx HCV Quant Assay in *plasma en serum* met behulp van de **workflow met specimenvolume van 550 µl**.

De beweerde **LoD** en **LloQ** voor de NeuMoDx HCV Quant Assay voor **beide specimentypen (plasma and serum)** met behulp van **the 200 µL specimen volume workflow is 30.0 IU/mL (1.5 log₁₀ IU/mL)**.

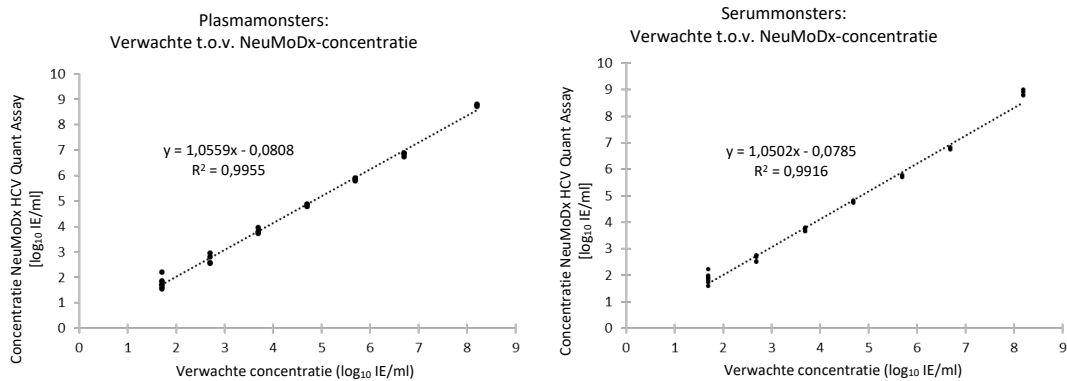
Analytische gevoeligheid – Lineariteit en het bepalen van de bovengrens voor kwantificering (Upper Limit of Quantitation; ULoQ)

De lineariteit en de bovengrens voor kwantificering (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) van de NeuMoDx HCV Quant Assay werden in plasma vastgesteld door een reeks verdunningen te bereiden met HCV Armored RNA® (Asuragen Inc., Austin, TX, VS) en AcroMetrix™ High Control HCV (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, VS) met een vastgestelde herleidbaarheid naar de 5^e internationale norm van de WHO. Er werd een 11-ledenpanel bereid in gebundeld HCV-negatief plasma om een panel te creëren met een concentratiebereik van 8,2-1,5 log₁₀ IE/ml. Met de NeuMoDx HCV Quant Assay werd aangetoond dat HCV kan worden gekwantificeerd over het lineaire bereik van 8 log₁₀ met een nauwkeurigheid van ± 0,3 log₁₀ IE/ml, gebaseerd op de standaardfout zoals berekend door het 95% betrouwbaarheidsinterval. Er werd geen significant voordeel behaald met het gebruik van de regressie-analyse van de 2^e en 3^e orde. De ULoQ in plasma werd vastgesteld op 8,2 log₁₀ IE/ml. Er werd aanvullend onderzoek uitgevoerd om matrixequivalentie aan te tonen. Bij deze analyse werden de kwantitatieve resultaten van de NeuMoDx HCV voor in plasma en serum bereide monsters vergeleken met behulp van twee verschillende regressie-analysemodellen, waaronder de MS Excel-regressietool en de Passing-Bablok-regressie-analyse. De resultaten duiden op een sterke correlatie die werd weergegeven door hellings- en interceptwaarden die erg dicht bij de respectievelijk 1,00 en 0,00 lagen en een R²-waarde van 0,99 (MS Excel-regressietool) of een p-waarde van 0,600 (Passing-Bablok-regressie-analyse). De vergelijking tussen de HCV-assayconcentraties die door het NeuMoDx System werden gerapporteerd, en de verwachte waarden is weergegeven in *afbeelding 4*.

De lineariteit en ULoQ werden vervolgens beoordeeld met behulp van de workflow met specimenvolume van 200 µL. De equivalenties werden vergeleken tussen de concentraties gerapporteerd door de NeuMoDx Software voor de workflows van 200 µL en 550 µL. De regressieanalyse van Deming en Passing-Bablok toonde een uitstekende correlatie, helling dicht bij 1 en minimale intercepts (vertekening) van de gerapporteerde concentraties voor zowel plasma- als serummonsters over het lineaire bereik. Een Bland-Altman-vergelijking van de gerapporteerde concentratie voor de workflow met specimenvolume van 200 µL met de gemiddelde gerapporteerde concentratie voor de workflows met specimenvolume van 200 µL en 550 µL toonde minimale vertekening, wat nauwkeurigheid toekent aan het algoritme gebruikt om resultaten van de workflow van 200 µL te genereren. Bovendien had een eenvoudige lineaire regressie waarbij de verwachte concentratie werd vergeleken met de gerapporteerde concentratie voor de workflow van 200 µL een helling dicht bij 1, wat wijst op een uitstekende correlatie (*afbeelding 5*). Samen genomen vormen deze vergelijkingen het bewijs van een nauwkeurige kwantificering van HCV over het lineaire bereik van de NeuMoDx HCV Quant Assay met behulp van de workflow met specimenvolume van 200 µL.



Afbeelding 4: Lineair bereik van de NeuMoDx HCV Quant Assay voor plasma (links) en serum (rechts): workflow van 550 µL



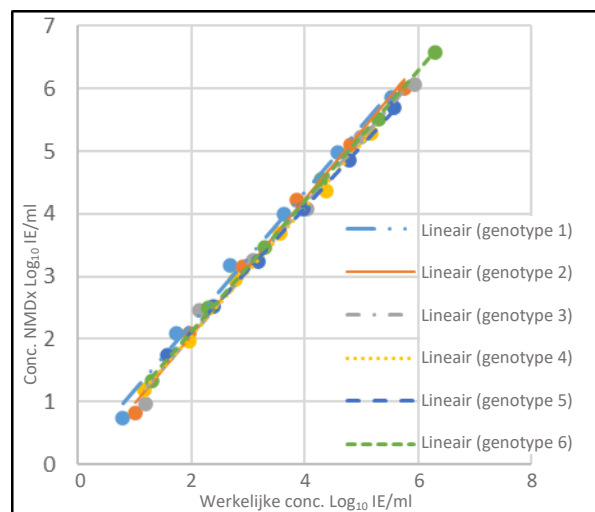
Afbeelding 5: Lineair bereik van de NeuMoDx HCV Quant Assay voor plasma (links) en serum (rechts): workflow van 200 µl

Analytische gevoeligheid – Lineariteit bij verschillende genotypes

De lineariteit van de NeuMoDx HCV Quant Assay over zes HCV-genotypes werd gekenmerkt door ten minste vier (4) verschillende concentraties van elk HCV-genotype, bereid in gebundeld HCV-negatief plasma, te testen. De hoeveelheid aan HCV-doelmateriaal dat in dit onderzoek werd getest, was afhankelijk van de concentratie van het bronspecimen en verschilde daarom per genotype. Het onderzoek werd uitgevoerd met elk genotype met behulp van 6 replica's op elk niveau. De lineariteit bij zes HCV-genotypes zijn weergegeven in *tabel 7* en *afbeelding 6*.

Tabel 7. Lineariteit van de NeuMoDx HCV Quant Assay bij verschillende genotypes

Genotype	Lineariteitsvergelijking $y =$ kwantificering NeuMoDx HCV Assay $x =$ verwachte kwantificering	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



Afbeelding 6: Lineariteit van de NeuMoDx HCV Quant Assay bij verschillende genotypes

Analytische specificiteit – Kruisreactiviteit

De analytische specificiteit is aangetoond door 33 organismen die vaak voorkomen in bloed-/plasmaspecimens en soorten die fylogenetisch vergelijkbaar zijn met HCV te testen op kruisreactiviteit. De organismen werden onderverdeeld in groepen van 4 tot 6 organismen en getest bij een hoge concentratie. De geteste organismen staan in *tabel 8*. Bij geen enkel getest organisme werd kruisreactiviteit waargenomen, waardoor bevestigd is dat de NeuMoDx HCV Quant Assay een analytische specificiteit van 100% heeft.

Tabel 8. Gebruikte pathogenen voor het aantonen van analytische specificiteit

Niet-doelorganismen						
Adenovirus 2	Dengue V1	Hepatitis A	Humaan immunodeficiëntievirus-2	Humaan T-lymfotroof virus 1	Propionibacterium acnes	Westnijlvirus
Adenovirus 5	Dengue V2	Hepatitis B	Humaan papillomavirus 16	Humaan T-lymfotroof virus 2	Rodehond	Gele koorts
Candida albicans	Dengue V3	Herpes-simplexvirus (HSV) 1	Humaan papillomavirus 18	Influenza A	St.-Louis-encefalitis	Zikavirus
Chlamydia trachomatis	Dengue V4	Herpes-simplexvirus (HSV) 2	Humaan herpesvirus 6b	Neisseria gonorrhoeae	Staphylococcus aureus	
Cytomegalovirus	Epstein-Barr-virus	Humaan immunodeficiëntievirus -1	Humaan herpesvirus 8	Parvovirus B19	Staphylococcus epidermidis	

Analytische specificiteit – Interfererende stoffen, commensale organismen

De NeuMoDx HCV Quant Assay werd beoordeeld op interferentie in de aanwezigheid van niet-doelorganismen met behulp van dezelfde organismegroepen die voor de kruisreactiviteitstest waren bereid, zoals hierboven beschreven in *tabel 8*. HCV-negatief plasma werd verrijkt met 4-6 groepen organismen. Daarnaast werd er een HCV-positieve controle aan toegevoegd met een concentratie van 1,4 log₁₀ IE/ml. Er werd geen significante interferentie waargenomen in de aanwezigheid van deze commensale organismen, wat wordt aangeduid met de minimale afwijking in kwantificering met de controlespecimens die geen interfererend middel bevatten.

Analytische specificiteit – Interfererende stoffen, endogene en exogene stoffen

De NeuMoDx HCV Quant Assay werd beoordeeld in de aanwezigheid van typische exogene en endogene interfererende stoffen die in klinische HCV-plasmaspecimens kunnen voorkomen. Dat waren onder meer abnormaal hoge waarden van bloedcomponenten en vaak voorkomende antivirale geneesmiddelen, die zijn geïdentificeerd in *tabel 9*. Iedere stof werd toegevoegd aan gescreend HCV-negatief menselijke plasma dat was verrijkt met 1,7 log₁₀ IE/ml HCV. Vervolgens werden de monsters geanalyseerd op interferentie. Daarnaast werd plasma met veelvoorkomende ziektekiemen die met een hepatitis C-infectie worden geassocieerd, ook op mogelijke interferentie getest. De gemiddelde concentratie en vertekening van alle geteste stoffen staan in *tabel 10*. Geen enkele exogene en endogene stof had invloed op de specificiteit van de NeuMoDx HCV Quant Assay.

Tabel 9. Interferentietests - Exogene stoffen (geneesmiddelclassificaties)

	Product	Classificatie		Product	Classificatie
Pool 1	Sofosbuvir	Direct werkend antiviraal middel tegen HCV	Pool 2	Paritaprevir	HCV NS3/4A-proteaseremmer
	Ledipasvir	HCV-remmer		Ombitasvir	Antiviraal middel tegen HCV
	Velpatasvir	HCV NS5A-remmer		Ritonavir	Hiv-proteaseremmer
	Clarithromycine	Antibioticum		Abacavirsulfaat	Reverse-transcriptaseremmer
	Interferon alfa-2a	Immuunmodulator		Ribavirine	Immuunmodulator
Pool 3	Grazoprevir	HCV NS3/4A-proteaseremmer	Pool 4	Efavirenz	Reverse-transcriptaseremmer
	Elbasvir	HCV NS5A-remmer		Lopinavir	Proteaseremmer
	Tenofoviridisoproxil	Antiviraal middel tegen HBV/hiv		Azitromycine	Antibioticum
	Lamivudine	Antiviraal middel tegen HBV/hiv		Dolutegravir	Antiviraal middel tegen hiv
	Valganciclovir	Antiviraal middel tegen CMV		Simeprevir	HCV NS3/4A-proteaseremmer
Pool 5	Emtricitabine	Antiviraal middel tegen hiv			
	Raltegravir	Antiviraal middel tegen hiv			
	Amoxicilline	Antibioticum			
	Rilpivirine	Antiviraal middel tegen hiv			
	Dasabuvir	Direct werkend antiviraal middel tegen HCV			
	Glecaprevir	HCV NS3/4A-proteaseremmer			

Tabel 10. Interferentietests - Exogene en endogene stoffen

Endogeen	Gemiddelde conc. log ₁₀ IE/ml	Vertekening log ₁₀ IE/ml
Hemoglobine	1,61	0,28
Triglyceriden	1,31	-0,02
Bilirubine	1,47	0,14
Albumine	1,47	0,14
Exogeen (geneesmiddelen)	Gemiddelde conc. log ₁₀ IE/ml	Vertekening log ₁₀ IE/ml
Pool 1: Zidovudine (ZDV), Saquinavir, Ritonavir, Clarithromycine, Interferon alfa-2a, Interferon alfa-2b	1,48	0,15
Pool 2: Abacavirsulfaat, Amprenavir, Ribavirine, Entecavir, Fluoxetine, Valaciclovirhydrochloride	1,40	0,07
Pool 3: Tenofoviridisoproxil, Lamivudine, Ganciclovir, Valganciclovir, Nevirapine	1,40	0,07
Pool 4: Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtide, Ciprofloxacine, Paroxetine,	1,51	0,18
Pool 5: Adefovir (dipivoxil), Azitromycine, Indinavirsulfaat, Sertraline	1,40	0,07
Ziektebeeld	Gemiddelde conc. log ₁₀ IE/ml	Vertekening log ₁₀ IE/ml
Antinucleair antilichaam (ANA)	1,53	0,18
Systemische lupus erythematoses (SLE)	1,29	-0,06
Reumatoïde artritis	1,39	0,04
HBV-antilichamen	1,45	0,10
Alcoholcirrose	1,43	0,08
Reumafactor	1,43	0,08
Niet-alcoholische steatohepatitis (NASH)	1,32	-0,03

Binnen-laboratoriumprecisie

De precisie van de NeuMoDx HCV Quant Assay is bepaald door een 7-ledenpaneel van bereide HCV-specimens (met zowel HCV Armored RNA als Acrometrix HCV Control) gedurende 12 dagen met drie NeuMoDx Systems te testen. De precisie binnen een sessie, binnen een dag en binnen een systeem werd gekenmerkt en de algehele standaardafwijking bedroeg $\leq 0,26 \log_{10}$ IE/ml. Er is geen significant verschil in prestaties waargenomen tussen verschillende systemen, dagen of runs, zoals weergegeven in *tabel 11*. Het verschil in precisie tussen bedieners is niet gekenmerkt, aangezien de bediener geen significante rol speelt bij het verwerken van monsters met het NeuMoDx System.

Tabel 11. Binnen-laboratoriumprecisie – NeuMoDx HCV Quant Assay op NeuMoDx Systems

	Doelconc. [log ₁₀ IE/ml]	Gemiddelde conc. [log ₁₀ IE/ml]	SD binnen een systeem	SD binnen een dag	SD binnen een run	(Algehele) binnen-laboratorium-SD
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

Reproduceerbaarheid van partij tot partij

De reproduceerbaarheid tussen partijen van de NeuMoDx HCV Quant Assay werd bepaald met behulp van drie verschillende partijen sleutelreagentia: NeuMoDx Lysis Buffer 3, NeuMoDx Extraction Plates en NeuMoDx HCV Quant Test Strips. Voor de beoordeling van de prestaties werd een 7-ledenpaneel gebruikt van HCV (dat zowel HCV Armored RNA als Acrometrix HCV Control omvatte). De tests werden gedurende 6 dagen met drie systemen en met de drie partijen reagentia uitgevoerd. De variaties binnen één partij en tussen de partijen werden geanalyseerd en de resultaten zijn weergegeven in *tabel 12*. De maximale algehele vertekening was $0,24 \log_{10}$ IE/ml en de maximale algehele standaardafwijking (Standard Deviation, SD) was $0,33 \log_{10}$ IE/ml. Er werd geen significant verschil in prestaties tussen de partijen waargenomen, aangezien de kwantificering van alle panelleden binnen de tolerantiespecificatie viel.

Tabel 12. Reproduceerbaarheid tussen partijen – NeuMoDx HCV Quant Assay

	Doelconc. [log ₁₀ IE/ml]	Gemiddelde conc. ALGEHELE [log ₁₀ IE/ml]	n (geldige resultaten per partij)	ABS- vertekening	SD tussen partijen	SD binnen partij	Algehele SD
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

Effectiviteit van controle

De NeuMoDx HCV Quant Assay bevat een SPC2 om fouten in de processtappen of remmingen die de prestaties van de assay beïnvloeden, te rapporteren. De effectiviteit werd getest onder omstandigheden die representatief zijn voor cruciale procesfouten die tijdens de monsterverwerking kunnen optreden en die *mogelijk niet worden gedetecteerd* door de prestatiebewakingssensoren van het NeuMoDx System. Er werden positieve ($3 \log_{10}$ IE/ml) en negatieve specimens aan de volgende omstandigheden onderworpen: aanwezigheid van een remmer, geen wash-reagens afgegeven en geen wash-lek. Procesinefficiënties die een ongewenst effect hadden op de detectie/kwantificering van HCV werden weerspiegeld door de prestaties van het SPC2-doelmateriaal zoals weergegeven in *tabel 13*. In alle geteste gevallen werd aangetoond dat de procesinefficiënties en de aanwezigheid van remmers op adequate wijze werd gemonitord door de monsterverwerkingscontrole of dat de verwachte procesinefficiëntie geen significant nadelig effect had op de detectie van SPC2 of op de detectie en kwantificering van HCV. Hiermee is aangetoond dat de assayprestaties effectief kunnen worden bewaakt met SPC2 op het NeuMoDx System.

Tabel 13. Effectiviteit van de monsterverwerkingscontrole

Procesfout getest	Amplificatiestatus monsterverwerkingscontrole	Amplificatiestatus HCV-doelwit	Resultaat assay
Presence of Inhibitor (Aanwezigheid van remmer)	Not Amplified (Niet geamplificeerd)	Not Amplified (Niet geamplificeerd)	Unresolved (Onbekend)
No Wash Delivered (Geen Wash-oplossing afgegeven)	Not Amplified (Niet geamplificeerd)	Not Amplified (Niet geamplificeerd)	Unresolved (Onbekend)
No Wash Blowout (Geen Wash-lek)	Amplified (Geamplificeerd)	Amplified (Geamplificeerd)	Positive with Quantitation within 0,3 Log ₁₀ IU/mL of Control (Positief met kwantificering binnen 0,3 log ₁₀ IE/ml van de controle)

Percentage geldige resultaten

Voor het bepalen van het percentage geldige resultaten werd een retrospectieve analyse uitgevoerd van gegevens verkregen tijdens de prestatie-evaluatie van de NeuMoDx HCV Quant Assay op de NeuMoDx Systems. Geldige testresultaten worden weergegeven als Positive (positief) of Negative (negatief); ongeldige testresultaten kunnen worden weergegeven als Indeterminate (IND) (Onbepaald) of Unresolved (UNR) (Onbekend) op basis van de amplificatiestatus van het doel en de monsterverwerkingscontrole. Een IND wordt doorgaans veroorzaakt door een instrumentfout die amplificatie van het doel en/of de interne verwerkingscontrole verhindert. Een UNR wordt toegewezen aan monsters wanneer zowel het doel als de interne verwerkingscontrole niet amplificeren in de afwezigheid van een gedetecteerde instrumentfout. In de retrospectieve analyse zijn 1962 NeuMoDx HCV Quant Assay-resultaten opgenomen, waaronder gegevens die zijn verkregen uit zowel serum- als plasmaspecimens op de NeuMoDx 288 en NeuMoDx 96 Molecular Systems. Het UNR-percentage bedroeg 0,61% (12/1962) en het IND-percentage bedroeg 0,41% (8/1962), waardoor er aan de aanvaardingscriteria van de analyse is voldaan. Het geldige resultaatpercentage van de NeuMoDx HCV Quant Assay over klinische matrices en NeuMoDx Systems werd dus vastgelegd op 99,0% met een 95% BI (98,4-99,3).

Kruisbesmetting

Het percentage kruisbesmetting voor de NeuMoDx HCV Quant Assay werd vastgesteld door het testen van drie sets HCV-specimens met afwisselend hoog-positieve en -negatieve specimens. In totaal werden daarvoor 144 replica's van HCV-negatief humaan specimen en 144 replica's van een HCV-specimen met hoge titer bij 8,2 log₁₀ IE/ml getest. Alle 144 replica's van het negatieve specimen werden als negatief gerapporteerd, wat aangeeft dat er geen kruisbesmetting was tijdens de monsterverwerking op het NeuMoDx System.

Matrxequivalentie van het specimen

Er zijn tests uitgevoerd om de matrxequivalentie van het specimen aan te tonen tussen volbloed dat in afnamebuisjes met ethyleendiaminetetraazijnzuur (EDTA) of zuurcitraatdextrose (Acid Citrate Dextrose, ACD) is afgenomen voor de bereiding van plasma. Er werden aanvullende tests uitgevoerd om de equivalentie tussen verse en bevroren plasmaspecimens (verzameld in de twee soorten buisjes) en tussen verse en bevroren serummonsters te bepalen. Verse specimens werden bij een temperatuur van 4 °C bewaard tot ze werden verrijkt met vier HCV-concentraties en ze op equivalentie werden getest. Vervolgens werden de monsters minimaal 24 uur bevroren bij een temperatuur van -20 °C. Na deze periode van bevroren opslag werden de specimens ontdooid en opnieuw getest. De resultaten van de verse versus de bevroren serum- en plasmaspecimens en de plasmamonstersspecimens met EDTA versus ACD werden op equivalentie vergeleken door middel van een regressie-analyse. Uit deze gegevens blijkt dat er een uitstekende equivalentie bestaat tussen plasmaspecimens met EDTA en ACD, tussen verse en bevroren plasmaspecimens en tussen verse en bevroren serumspecimens.

Bijkomende tests werden uitgevoerd om de equivalentie van de prestaties van de NeuMoDx HCV Quant Assay op primaire versus secundaire specimens aan te tonen. Panels van HCV-negatieve donorspecimens verrijkt met HCV-doelmateriaal (AccuPlex™ Recombinant HCV Control) en van HCV-positieve donorspecimens werden eerst verwerkt uit de primaire specimenbuisen. Na verwerking van de primaire buizen werd het resterend plasma of serum van elk specimen verdeeld in een secundair specimenbuisje en opnieuw verwerkt. Er werd geen significant verschil gevonden in de gerapporteerde resultaten tussen de verwerking van primaire en secundaire specimenbuisjes.

Vergelijking van klinische methoden

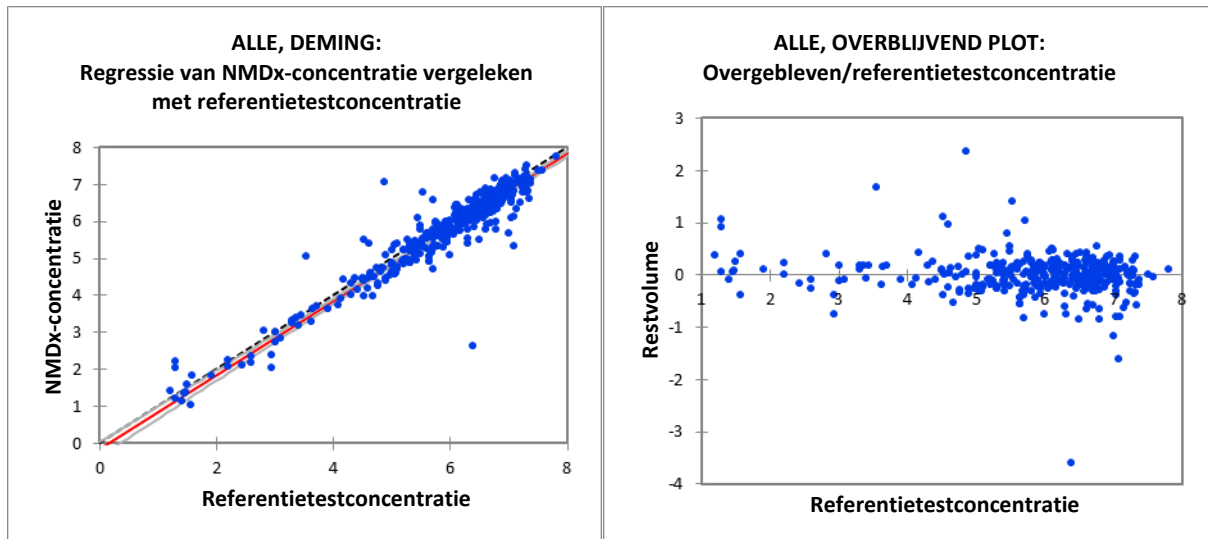
De kwalitatieve en kwantitatieve prestaties van de NeuMoDx HCV Quant Assay werden vergeleken met FDA-/CE-goedgekeurde vergelijkingsassays door onverdunde klinische specimens van met HCV geïnfecteerde patiënten te testen. De tests werden intern bij NeuMoDx uitgevoerd door middel van een enkelblind onderzoek van geanonimiseerde, overgebleven, klinische specimens die afkomstig waren van zes externe referentielaboratoria. In totaal werden er met de NeuMoDx HCV Quant Assay 323 plasmaspecimens en 336 serumspecimens (enkelblind) verwerkt in meerdere NeuMoDx Molecular Systems. 35 plasmamonsters en 13 serummonsters hiervan werden ZOWEL in het NeuMoDx 288 als in het 96 Molecular System verwerkt. Sommige monsters die een ONGELDIG resultaat opleverden, konden niet opnieuw worden verwerkt omdat er niet voldoende volume beschikbaar was.

De verwerkings- en systeemfouten die optraden bij de NeuMoDx Molecular Systems waren minimaal en voldeden aan de criteria. In totaal werden er oorspronkelijk 4 indeterminate (onbepaald; IND) resultaten verkregen voor plasmamonsters en 4 IND-resultaten voor serummonsters, wat resulteerde in een algeheel oorspronkelijk IND-percentage van 1% (95% BI 0,5%-3%) voor plasma en 1% (95% BI 0,4%-3%) voor serum. Er werden in eerste instantie in totaal 3 UNRESOLVED (onbekend; UNR) resultaten voor plasmamonsters en 5 UNR-resultaten voor serummonsters verkregen, wat resulteerde in een algeheel percentage van 1% opleverde voor plasma (95% BI 0,2%-3%) 1% voor serum (95% BI 0,6%-4%).

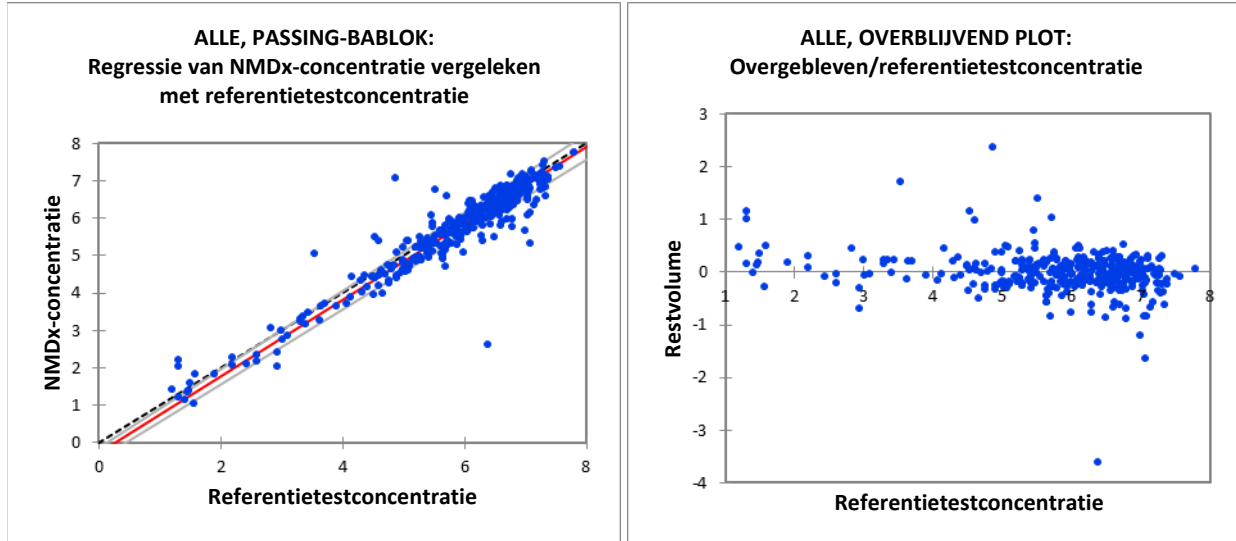
Specimens die ongeldige (IND/UNR) resultaten of een 'kwantificeringsfout' opleverden, werden opnieuw getest indien er voldoende volume overbleef. Bij sommige monsters werd een verdunningsstap toegevoegd om geldige resultaten te verkrijgen. Bij de 13 specimens die voldoende volume hadden om te worden herhaald (verdund OF onverdund), werd een geldig resultaat verkregen.

Van de 321 geldige resultaten verkregen voor plasmaspecimens en de 334 geldige resultaten verkregen voor serummonsters, werden 206 plasmamonsters en 154 serummonsters als POSITIVE (POSITIEF) gerapporteerd door de NeuMoDx HCV Quant Assay met de overeenkomstige concentratiewaarden die door de referentietests werden toegekend. Deming- en Passing-Bablok-regressieanalyses werden gebruikt om de concentratiewaarden van de NeuMoDx HCV Quant Assay te correleren met de waarden van de referentietests voor zowel plasma- als serummonsters.

Er werden equivalentiegrafieken gegenereerd om de correlatie tussen de NeuMoDx HCV Quant Assay-concentraties en de concentratiewaarden van de referentietest voor alle geteste monsters weer te geven met behulp van de Deming- en Passing-Bablok-regressie-analyse. Deze zijn weergegeven in *afbeelding 7* en *afbeelding 8*. De kwaliteit van de Deming-regressieanalyse blijkt uit een hellingscoëfficiënt van 1,00 met een 95% BI (0,97; 1,03) en een intercept (vertekening) van -0,16 met een 95% BI (-0,37; 0,06), wat aantoont dat de concentratieresultaten van de NeuMoDx HCV Quant Assay en de referentietests in hoge mate met elkaar correleren en een aanvaardbare vertekening hebben. De kwaliteit van de lineaire regressieanalyse van Passing-Bablok blijkt uit een hellingscoëfficiënt van 1,02 met een 95% BI (0,99; 1,05) en een intercept (vertekening) van -0,28 met een 95% BI (-0,43; -0,14), wat aantoont dat de concentratieresultaten van de NeuMoDx HCV Quant Assay en de referentietests in hoge mate met elkaar correleren en een aanvaardbare vertekening hebben, zoals weergegeven in *tabel 14*.



Afbeelding 7: Equivalentiegrafiek (links) en restvolumegrafiek (rechts): cumulatieve analyse (met beide NeuMoDx Systems) van de resultaten van de NeuMoDx HCV Quant Assay, vergeleken met de referentietestresultaten van ALLE monsters op basis van Deming-regressie-analyse.



Afbeelding 8: Equivalentiegrafiek (links) en restvolumegrafiek (rechts): cumulatieve analyse (met beide NeuMoDx Systems) van de resultaten van de NeuMoDx HCV Quant Assay, vergeleken met de referentietestresultaten van ALLE monsters op basis van Passing-Bablok-regressie-analyse.

Tabel 14. Overzicht van de lineaire regressieanalyse van Deming en Passing-Bablok

	Deming-analyse		Passing-Bablok-analyse	
	Intercept	Hellingscoëfficiënt	Intercept	Hellingscoëfficiënt
CUMULATIEF (Alles: plasma + serum)	- 0,16 95% BI (-0,37;0,06)	1,00 95% BI (0,97;1,03)	- 0,28 95% BI (-0,43;-0,14)	1,02 95% BI (0,99;1,05)

Van de 655 geldige resultaten die voor plasma- en serumspecimens zijn verkregen met de NeuMoDx HCV Quant Assay waren er 361 positief volgens de referentietests voor HCV en 294 negatief. De gevoeligheid en specificiteit van de NeuMoDx HCV Quant Assay werden berekend met de gegevens van alle geldige klinische monsters en vergeleken met de referentietest, waarvan een overzicht is weergegeven in *tabel 15*. Van de 361 positief geteste monsters waren er 360 ook positief volgens de NeuMoDx HCV Quant Assay, wat een gevoeligheid van 99,7% aantoont met een 95% BI (98,2%-100%). Van de 294 negatieve geteste monsters waren er 271 ook negatief volgens de NeuMoDx HCV Quant Assay, wat een specificiteit van 92,2% aantoont met 95% BI (88,3%-94,9%).

Equivalentie van de NeuMoDx HCV Quant Assay werd aangetoond aan de hand van sterk gecorreleerde resultaten van de assayprestaties tussen de NeuMoDx 288 Molecular System en de NeuMoDx 96 Molecular System, en referentietest voor zowel plasma- als serumspecimens.

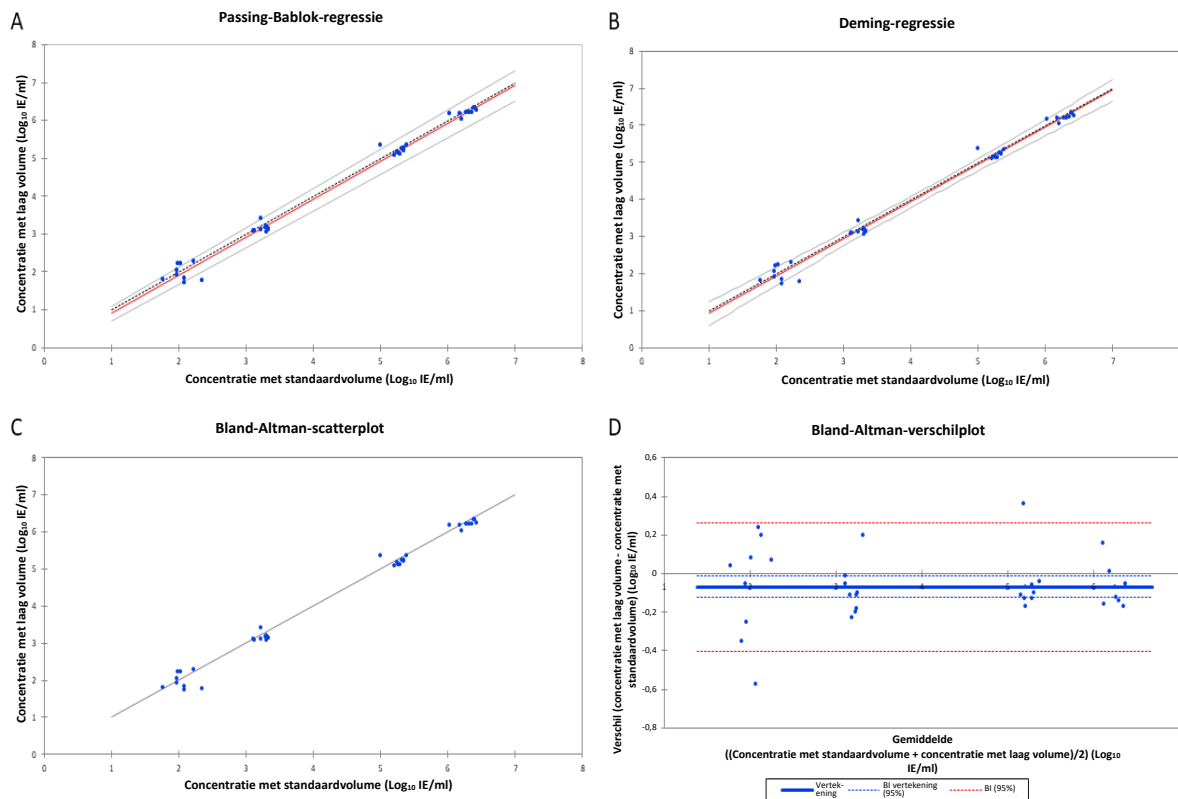
Tabel 15. Resultaten kwalitatieve vergelijkingsmethode van de NeuMoDx HCV Quant Assay vergeleken met referentietests: plasma en serum

	Referentieassay (POS)	Referentieassay (NEG)	TOTAAL
NeuMoDx HCV Quant Assay (POS)	360	23	383
NeuMoDx HCV Quant Assay (NEG)	1	271	272
TOTAAL	361	294	655
GEVOELIGHEID = 99,7% 95% BI (98,2%- 100%) *SPECIFICITEIT = 92,2% 95% BI (88,3%-94,9%)			

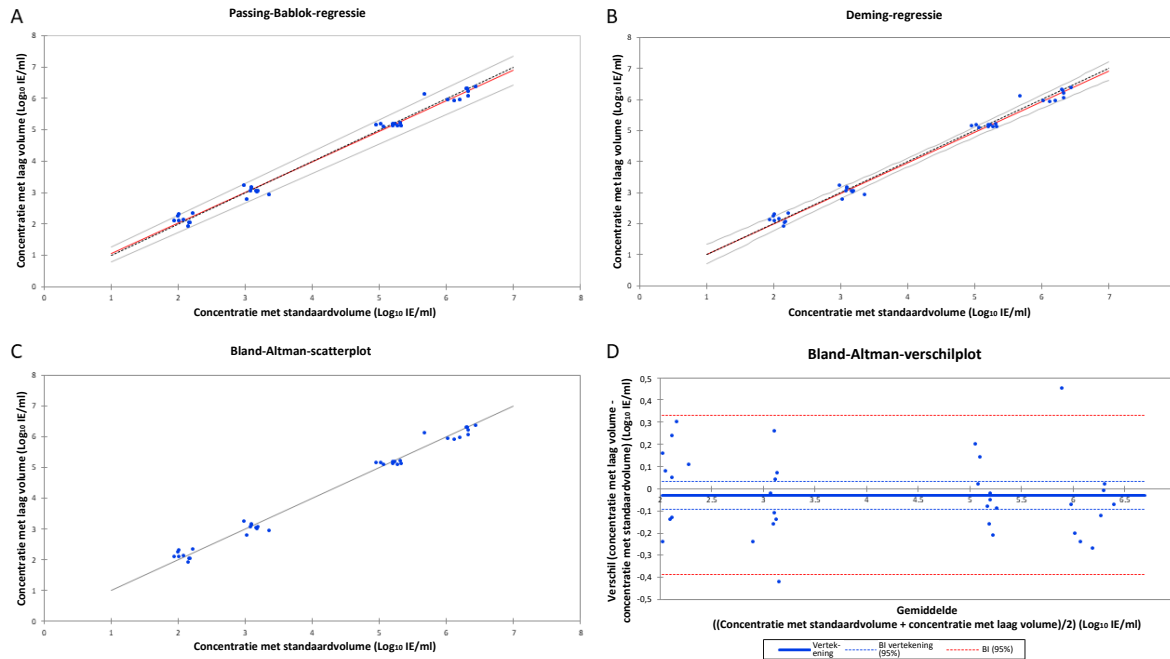
***OPMERKING:** De LLoQ voor de NeuMoDx HCV Quant Assay is 0,9 log₁₀ IE/ml, wat lager is dan de vergelijkingsassay die als referentietest werd gebruikt. Een latere analyse werd uitgevoerd zonder 9 monsters waarin HCV was gedetecteerd door de NeuMoDx, maar die als negatief werden gerapporteerd door de vergelijkingsassay. Met de uitsluiting van deze 9 monsters werd de specificiteit van de NeuMoDx HCV Quant Assay opnieuw berekend als 95,1% met een 95% BI (91,7-97,2).

Testen van kunstmatige specimens – workflow voor specimenvolume van 200 µl

De kwantitatieve correlatie tussen de workflows met specimenvolume van 200 µl en 550 µl werd bevestigd met een panel dat bestond uit individuele, HCV-negatieve plasma- en serummonsters verrijkt met vier bekende concentraties van Accuplex HCV-controle materiaal, die getraceerd kunnen worden naar de 5^e internationale norm voor HCV-RNA voor nucleïnezuurtests van de WHO. Deze individuele plasma- en serumspecimens werden verwerkt met behulp van de workflows met specimenvolume van 550 µl en 200 µl voor 324 tests in totaal. De equivalenties tussen de concentratie gerapporteerd door de NeuMoDx Software voor de workflows met specimenvolume van 200 µl en 550 µl met het kunstmatige panel werden vergeleken op basis van de individuele monsters. De regressieanalyse van Deming en Passing-Bablok had een helling van 1,003 en 1,000 met intercepts van -0,082 en -0,085, respectievelijk in plasma en 0,974 en 0,984 met intercepts van 0,086 en 0,037, respectievelijk in serum. Dit wijst op een uitstekende overeenkomst van HCV-kwantificeringen tussen de twee verwerkte volumeworkflows. Een Bland-Altman-vergelijking toonde een minimale vertekening tussen beide workflows aan. Bovendien hadden analyses van eenvoudige lineaire regressie met de verwachte en gerapporteerde concentratie voor de workflow van 200 µl een helling van 1,0432 en een correlatiecoëfficiënt van 0,994 (plasma) en van 1,0007 en 0,993 (serum). Dit ondersteunt nog meer de uitstekende prestaties met behulp van de workflow met specimenvolume van 200 µl voor de NeuMoDx HCV Quant Assay. De resultaten van deze studies worden hieronder samengevat in *afbeelding 9* en *afbeelding 10*.



Afbeelding 9: Equivalentieplot vergelijkingen van gerapporteerde concentraties met behulp van workflow met specimenvolume van 200 µl t.o.v. gerapporteerde concentraties met help van workflow met specimenvolume van 550 µl. A) Passing-Bablok-regressie. B) Deming-regressie. C) Bland-Altman-scatplot D) Bland-Altman-verschilplot – Plasmaspecimens



Afbeelding 10: Equivalentieplot vergelijkingen van gerapporteerde concentraties met behulp van workflow met specimenvolume van 200 µl t.o.v. gerapporteerde concentraties met help van workflow met specimenvolume van 550 µl. A) Passing-Bablok-regressie. B) Deming-regressie. C) Bland-Altman-scatterplot D) Bland-Altman-verschilplot – Serumspecimens

LITERATUUR











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

HANDELSMERKEN

NeuMoDx™ en NeuDry™ zijn handelsmerken van NeuMoDx Molecular, Inc.
 AcroMatrix™ is een handelsmerk van Thermo Fisher Scientific.
 Armored RNA® is een gedeponeerd handelsmerk van Asuragen, Inc.
 BD Vacutainer® is een gedeponeerd handelsmerk van Becton, Dickinson and Company
 BD, PPT™ en SST™ zijn handelsmerken van Becton, Dickinson and Company
 TaqMan® is een gedeponeerd handelsmerk van Roche Molecular Systems, Inc.

Alle andere productnamen, handelsmerken en gedeponeerde handelsmerken die in dit document kunnen voorkomen, zijn eigendom van hun respectieve eigenaars.

LIJST MET SYMBOLEN

R only	Gebruik uitsluitend op voorschrift		Temperatuurbepanking
	Fabrikant		Niet hergebruiken
	<i>In-vitro</i> diagnostisch medisch hulpmiddel		Inhoud voldoende voor <n> tests
	Geautoriseerde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap		Raadpleeg de gebruikshandleiding
	Catalogusnummer		Voorzichtig
	Batchcode		Biologische risico's
	Uiterste gebruiksdatum		CE-markering



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

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



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



Technische ondersteuning/alertheidsmeldingen: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents