

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

**R only**

IAKTTAG FÖRSIKTIGHET! Endast för export till USA

**IVD** För *in vitro*-diagnostisk användning med NeuMoDx 288 och NeuMoDx 96 Molecular System

 Uppdaterade bipacksedlar finns på: [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)

Se operatörshandboken till NeuMoDx 288 Molecular System för utförliga anvisningar, art.nr 40600108

Se operatörshandboken till NeuMoDx 96 Molecular System för utförliga anvisningar, art.nr 40600317

### AVSEDD ANVÄNDNING

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, som utförs på NeuMoDx 96 Molecular System och NeuMoDx 288 Molecular System (NeuMoDx System(s)), är ett automatiserat, kvantitativt och kvalitativt test för *in vitro*-diagnostisk nukleinsyraamplifiering avsett för kvantifiering och detektion av humant immunbristvirus typ 1 (HIV-1) RNA i human plasma.

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay är avsedd att användas tillsammans med kliniska symtom och andra laboratoriemarkörer för sjukdomsprognos som hjälp vid klinisk hantering av patienter med HIV-1 och övervakning av effekten av antiretroviral behandling, uppmätt i förändringar av HIV-1 RNA-nivåer i blodplasma. Analysen kan kvantifiera HIV-1 RNA på intervallet 34,2 till  $5,0 \times 10^7$  IE /mL (1,5–7,7 log<sub>10</sub> IE/mL). NeuMoDx HIV-1 Quant Assay har validerats för kvantifiering av RNA från HIV-1-grupp M (undertyperna A, B, C, D, F, G, H, K, CRF01\_AE, CRF02\_AG) N, O och P.

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay är avsedd som hjälp vid diagnos av HIV-1-infektion, inklusive akut eller primär infektion. Förekomsten av HIV-1-RNA i blodplasman hos patienter utan antikroppar mot HIV-1 indikerar akut eller primär HIV-1-infektion. NeuMoDx HIV-1 Quant Assay kan användas som kompletterande test för prover som har upprepade reaktiva resultat med godkända immunanalyser för HIV och för att bekräfta HIV-1-infektion.

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay är inte avsedd för användning som ett donatorscreeningstest för HIV-1 förekomst i blod eller blodprodukter.

### SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Humant helblod som samlats i sterila blodprovtagingsrör som innehåller antingen etylendiamintetraättiksyra (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) eller sur citratdextros (Acid Citrate-Dextrose, ACD) som antikoagulationsmedel eller i plasmaberedningsrör (Plasma Preparation Tubes, PPT) får användas för beredning av plasma. För att förbereda för testning laddas plasma i ett sekundärt provrör eller fraktionerat blod i ett primärt provrör som är kompatibelt med NeuMoDx System i NeuMoDx System med hjälp av en dedikerad provrörshållare för att påbörja bearbetningen. För varje prov blandas en 600 µL-alkvot av plasmaprovet med NeuMoDx Lysis Buffer 3 och NeuMoDx System utför automatiskt alla steg som krävs för extraktion av målnukleinsyran, preparering av den isolerade RNA:n för realtidsomvänd transkription av polymeraskedjereaktion och i förekommande fall, detektion av produkter för amplifiering (sektioner av HIV-1-genomet i konserverade regioner). NeuMoDx HIV-1 Quant Assay inkluderar en RNA-provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC2) för att underlätta övervaka närvaron av potentiellt hämmande substanser och NeuMoDx System- eller reagensfel som kan påträffas under extraktions- och amplifieringsprocessen.

Humant immunbristvirus (HIV) är det etiologiska smittämnet för förvärvat immunbristsyndrom (AIDS) och är indelat i två huvudtyper, varav den vanligaste och patogena är HIV typ 1 (HIV-1). HIV-1 kan överföras genom sexuell kontakt, exponering för infekterat blod eller infekterade blodprodukter, eller från en infekterad mor till foster.<sup>1-4</sup> Acute HIV-1-infektion, kännetecknad av influensaliknande symptom, utvecklas 3–5 veckor efter den första infektionen och associeras med höga blodvirusnivåer. HIV-1-specifik immunrespons kan detekteras inom 4–6 veckor efter det att symptomen börjar.<sup>5-9</sup>

Vid serokonversion går de flesta patienter in i en asymptomatisk fas som kan vara i årtal. Kvantitativa mätningar av RNA-nivåer av HIV-1 i perifert blod har i hög grad bidragit till förståelsen av patogenesen för HIV-1-infektioner och har visat sig vara en viktig parameter för prognos och hantering av HIV-1-infekterade individer.<sup>10-11</sup> Beslut om att påbörja eller förändra antiretroviral behandling styrs av övervakning av HIV-1-RNA-plasmakoncentrationsnivåer (viral förekomst), antal CD4+ T-celler och patientens kliniska tillstånd.<sup>12-17</sup> Målet med antiretroviral behandling är att minska replikationen av HIV-1 till lägre nivåer än det som kan mätas med tillgängliga virusnivåtest. Virusnivåerna i perifert blod kan kvantifieras genom att mäta HIV p24-antigenet i serum med en kvantitativ odling av HIV i plasma eller genom en direkt mätning av viralt RNA i plasma med nukleinsyraamplifiering eller signalförstärkningsteknik.<sup>9-11</sup> Molekylära tekniker som omvänd transkription med polymeraskedjereaktion använts vanligtvis för att förstärka nukleinsyror.<sup>11</sup> NeuMoDx HIV-1 Quant Assay använder RT-PCR-teknik med homogen realtidsfluorescensdetektion. Analysen omfattar dubbel målförstärkning och detektion och riktas mot två oberoende målregioner i HIV-1-genomet. Dessutom möjliggör degenererad analyskonstruktion detektion av olika gruppundertyper M (A, B, C, D, F, G, H, K), inklusive cirkulerande rekombinantformer och isolat av grupp N, O och P. Analysresultaten rapporteras i internationella enheter per mL (IE/mL).

### PRINCIPER FÖR RUTINEN

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay kombinerar automatisk RNA-extraktion, amplifiering och detektering med realtids-RT-PCR. Helblodsprover samlas in i EDTA-, ACD- eller PPT-provrör för preparering av plasma. Det primära (fraktionerade) blodprovet eller en plasmaalkvot i ett kompatibelt sekundärt provrör markeras med streckkod och placeras i NeuMoDx System. NeuMoDx System aspirerar automatiskt en alkvot av plasman som blandas med NeuMoDx Lysis Buffer 3 och extraktionsreagenser som hämtas från NeuMoDx Extraction Plate för att påbörja bearbetningen. NeuMoDx System automatiserar och integrerar RNA-extraktionen och -koncentrationen, reagensberedningen, samt nukleinsyreamplifiering/identifiering av målsekvansen med realtids RT-PCR. Medföljande provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC2) bidrar till att kontrollera förekomsten av hämmande ämnen samt fel på systemet, processen eller reagenser. Operatören behöver inte ingripa när provet väl har laddats i NeuMoDx System.

NeuMoDx System använder en kombination av värme, lytiskt enzym och extraktionsreagenser för automatisk lysning, RNA-extraktion och avlägsnande av hämmare. De frigjorda nukleinsyrorerna fångas upp av paramagnetiska partiklar. Partiklarna, med bundna nukleinsyror, laddas i NeuMoDx Cartridge där de frigjorda delarna sköljs bort med NeuMoDx Wash Reagent. Det bundna RNA:t elueras därefter med NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx System använder sedan det eluerade RNA:et för att rehydrera patenterade NeuDry™ amplifieringsreagenser som innehåller alla komponenter som behövs för amplifiering av HIV-1- och SPC2-målen. Detta möjliggör samtidig amplifiering och identifiering av både mål- och kontroll-RNA-sekvenserna. Efter rekonstituering av de torkade RT-PCR-reagenserna dispenserar NeuMoDx System den beredda RT-PCR-klara blandningen i en PCR-kammare (per prov) i en NeuMoDx Cartridge. Omvänd transkription amplifiering och identifiering av kontroll- och målsekvenser (i förekommande fall) sker i PCR-kammaren. NeuMoDx Cartridge är utformad som behållare för applikonen efter RT-PCR, vilket praktiskt taget eliminerar risken för kontaminering efter amplifiering.

De amplifierade målen detekteras i realtid med hjälp av hydrolyspkemi (kallas allmänt för TaqMan®-kemi) med hjälp av fluorogen oligonukleotid-probmolekyler som är specifika för applikonen för respektive mål. TaqMan-prober består av en fluoroforen som är kovalent bunden till 5'-ändan av oligonukleotidproben och en quencher vid 3'-ändan. När proben är intakt är fluoroforen och quenchern nära varandra, vilket gör att quenchemolekylen undertrycker den fluorescens som fluoroforen emitterar via Förster resonansenergiöverföring (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan-prober är konstruerade så att de hybridiseras inom en DNA-region som är amplifierad av en viss uppsättning primrar. Allt eftersom Taq DNA-polymeraset förlänger primern och syntetiserar den nya strängen så degraderar 5' till 3' exonukleasaktiviteten för Taq DNA-polymeraset proben som har fäst till mallen. Försämring av proben frigör fluoroforen från den och orsakar förlust av den nära bindningen till quenchern och övervinnet dämpningseffekten genom FRET och gör det möjligt att detektera fluoroforen. Den resulterande fluorescenssignalen som detekteras i NeuMoDx Systems kvantitativa RT-PCR-termocykler är direkt proportionerlig med den frigjorda fluoroforen och kan korreleras med mängden mål.

En TaqMan-prob märkt med fluoroforen (excitering: 490 nm och emission: 521 nm) vid 5' änden och en mörk quencher vid 3' änden används för detektion av HIV-1 RNA. För detektion av SPC2 är TaqMan-proben märkt med alternativt fluorescerande färg (excitering: 535 nm och emission: 556 nm) vid 5' änden och en mörk quencher vid 3' änden. Via NeuMoDx System-programvaran övervakas den fluorescenssignal som emitteras av TaqMan-proberna i slutet av varje amplifieringscykel. Efter avslutad amplifiering analyserar NeuMoDx System-programvaran data och rapporterar ett resultat (POSITIVE (Positivt) /NEGATIVE (Negativt)/ INDETERMINATE (Obestämt) / UNRESOLVED (Olöst)). Om resultatet är positivt och den beräknade koncentrationen ligger inom kvantifieringsgränserna, ger NeuMoDx Systems programvara också ett kvantitativt värde som associeras med provet.

### REAGENSER/FÖRBRUKNINGSVAROR

#### Material som medföljer

REF	Innehåll	Tester per enhet	Tester per förpackning
300500	<b>NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip</b> <i>Torkade RT-PCR-reagenser som innehåller HIV-1- och SPC2-specifika TaqMan-prober och primrar</i>	16	96

#### Ytterligare material som behövs (beställs separat)

REF	Innehåll
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Torkade paramagnetiska partiklar, lytiska enzymer och provprocesskontroller</i>
800304	<b>NeuMoDx HIV-1 Calibrators</b> <i>HIV-1 hög kalibrator och låg kalibrator för engångsbruk, för fastställning av standardkurvas giltighet</i>
900301	<b>NeuMoDx HIV-1 External Controls</b> <i>Satser med HIV-1-positiva och -negativa kontroller för engångsbruk</i>
400600	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 3</b>
400100	<b>NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (300 µL) med filter</b>
235905	<b>Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (1 000 µL) med filter</b>

#### Instrument som behövs

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



### VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip är enbart avsedd för *in vitro*-diagnostisk användning tillsammans med NeuMoDx Molecular System.
- Använd inte reagenser eller förbrukningsvaror efter det angivna utgångsdatumet.
- Använd inte reagenser om förseglingen är bruten eller om förpackningen är skadad vid leverans.
- Använd inte förbrukningsvaror eller reagenser om skyddspåsen är öppen eller trasig vid leverans.
- En giltig testkalibrering (skapas genom bearbetning av höga och låga kalibratorer från NeuMoDx HIV-1 Calibrators [REF 800304]) måste finnas tillgänglig innan testresultat kan genereras för kliniska prover.
- Externa kontroller (från NeuMoDx HIV-1 External Controls [REF 900301]) måste bearbetas var 24:e timme under testningen med NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.
- Den minsta provvolymen för sekundära alikvoter beror på provrörens storlek/provrörs-carriern enligt nedanstående definitioner. Volymen som är mindre än den minsta provvolymen kan leda till felet "Quantity Not Sufficient" (otillräcklig mängd).
- Användning av prover som har förvarats vid fel temperatur eller längre än den angivna förvaringstiden kan leda till felaktiga eller ogiltiga resultat.
- Undvik alltid kontaminering med mikrober eller ribonukleas (RNase) av reagenserna eller förbrukningsvarorna. Användning av sterila, RNase-fria överföringspipetter för engångsbruk rekommenderas vid användning av sekundära provrör. Använd en ny pipett för varje prov.
- Undvik att hantera eller bryta loss någon NeuMoDx Cartridge efter amplifiering för att undvika kontamination. Hämta inte NeuMoDx Cartridge från behållaren för biologiskt avfall (NeuMoDx 288 Molecular System) eller tunnan för biologiskt avfall (NeuMoDx 96 Molecular System) under några omständigheter. NeuMoDx Cartridge är utformad för att förebygga kontaminering.
- Om PCR-tester med öppna rör även utförs av laboratoriet ska åtgärder vidtas för att säkerställa att NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, ytterligare förbrukningsvaror och reagenser som behövs för testning, personlig skyddsutrustning som handskar och labbrockor och NeuMoDx System inte är förorenade.
- Rena, puderfria nitrilhandskar ska bäras vid hantering av alla NeuMoDx-reagenser och -förbrukningsvaror. Vidrör inte ovansidan av NeuMoDx Cartridge, folieförseglingen till NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, NeuMoDx Extraction Plate eller ovansidan av NeuMoDx Lysis Buffer 3-behållaren. Ta endast i sidorna när förbrukningsvaror och reagenser hanteras.
- Säkerhetsdatablad (Safety Data Sheets, SDS) medföljer varje reagens (i förekommande fall) på [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)
- Tvätta händerna noga när testet har utförts.
- Pipettera inte med munnen. Rök, drick eller ät inte i områden där prover eller reagenser hanteras.
- Hantera alltid prover som om de vore smittfarliga och i enlighet med säkra laboratorierutiner såsom de som beskrivs i *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>18</sup> och CLSI-dokument M29-A4.<sup>19</sup>
- Avfallshantera oanvända reagenser och avfall i enlighet med nationella, federala, regionala och lokala föreskrifter.



### PRODUKTFÖRVARING, HANTERING OCH STABILITET

- NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strips är stabila i primärförpackningen till och med det utgångsdatum som står på den inre produktetiketten om de förvaras vid 15–23 °C.
- NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strips levereras i en isolerad behållare som innehåller gelkylmedelspaket.
- Använd inte förbrukningsvaror och reagenser efter det angivna utgångsdatumet.
- Använd inte någon testprodukt om den inre eller yttre förpackningen är synligt skadad.
- Ladda inte om någon testprodukt som redan har laddats på ett annat NeuMoDx System.
- Efter laddning kan NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip lämnas kvar i NeuMoDx System i sju (7) dagar. Återstående hållbarhet för de laddade testremorna övervakas via programvaran och rapporteras till användaren i realtid. Systemet kommer att uppmana användaren att ta bort testremor som har gått ut.
- Även om NeuMoDx-kalibratorer och externa kontroller inte är smittfarliga ska de bortskaffas efter användning i laboratoriets biologiska avfall för att minska risken för kontaminering med målnukleinsyran.

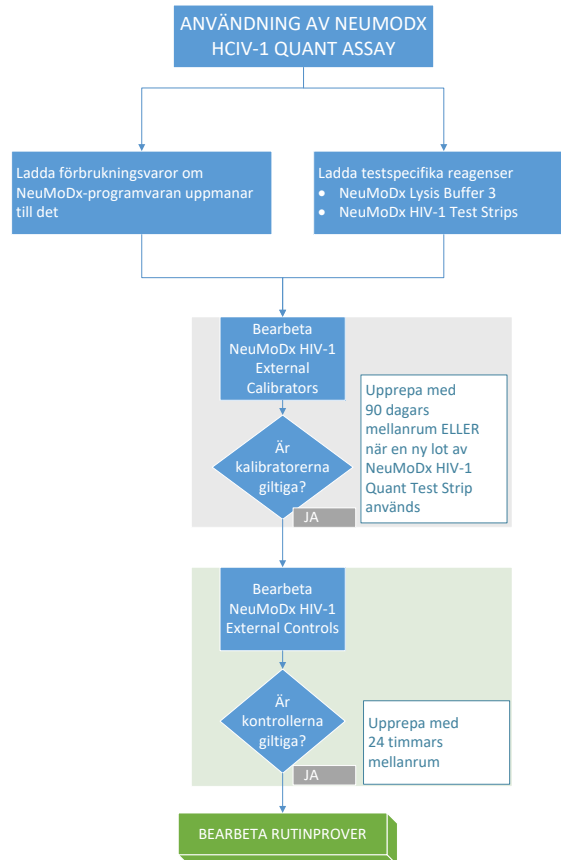
### INSAMLING, TRANSPORT OCH LAGRING AV PROV



1. Hantera alla prover, kalibratorer och kontroller som potentiella smittbärare.
2. Frys inte helblod eller prover som förvaras i primärrör.
3. Plasmaprov ska prepareras genom att helblod samlas in i sterila provrör med EDTA eller ACD som antikoagulerande medel. Följ instruktionerna från tillverkaren av provröret för förberedelse och förvaring.
4. Prover kan testas i primära eller sekundära provrör. Rekommenderas för test i primära provrör: BD Vacutainer® Plus Plastic K<sub>2</sub>EDTA Tube (BD #368589) eller BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
5. Preparerade plasmaprover kan förvaras i NeuMoDx System i upp till 8 timmar före bearbetningen. Om ytterligare förvaringstid behövs rekommenderar vi att proven antingen kyls eller infrysas som sekundära plasmaalikvoter.

6. Preparerade plasmaprover ska förvaras vid 2 °C till 8 °C i högst 7 dagar innan de testas och högst 8 timmar i rumstemperatur.
7. Preparerade prover kan förvaras vid ≤ -20 °C i upp till 8 veckor för plasma före bearbetning.
  - a. Om proverna är frysta: Låt dem tina helt till rumstemperatur (15–30 °C) och blanda i vortexblandare så att de blir homogena.
  - b. Upptinade frysta prov måste testas inom 8 timmar.
  - c. Plasmaprover får inte frysas och tinas mer än 4 gånger före användning
8. Om proverna ska skickas ska de förpackas och märkas i enlighet med gällande nationella och/eller internationella föreskrifter.
9. Märk proverna tydligt och indikera att proverna är avsedda för HIV-1-test.
10. Fortsätt till avsnittet *Beredning av test*.

Den övergripande processen för användning av NeuMoDx HIV-1-analysen sammanfattas nedan i *Bild 1*.



**Bild 1:** Arbetsflöde för användning av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

## BRUKSANVISNING

### Beredning av test

1. Fäst provstreckkodsetiketten på ett provrör som är kompatibelt med NeuMoDx System. Det primära blodprovrröret kan märkas och placeras direkt i en 24- eller 32-rörs provrörscarrier efter centrifugering enligt tillverkarens anvisningar. Alternativt kan en aliquot av plasma överföras till ett sekundärt provrör för bearbetning i NeuMoDx System.
2. Om du testar provet i det primära provrröret ska provrröret med streckkodsetiketten placeras i en carrier. Kontrollera att locket har avlägsnats innan du laddar provrröret på NeuMoDx System.
3. Om du använder ett sekundärt provrör överför du en aliquot av plasma till det streckkodsmärkta provrröret som är kompatibelt med NeuMoDx System enligt nedanstående volymer:
  - Provrörs-carrier (32 provrör): 11–14 mm diameter och 60–120 mm höjd, minsta provvolym ≥ 750 µL
  - Provrörs-carrier (24 provrör): 14,5–18 mm diameter och 60–120 mm höjd, minsta provvolym ≥ 1 200 µL
  - Minsta provvolym för provrörs-carrier (32 provrör): 1,5 mL mikrocenrifugrör med konisk botten; minsta provvolym ≥ 700 µL

### Användning av NeuMoDx System

Se operatörshandboken till NeuMoDx 288 och 96 Molecular System för utförliga anvisningar (art.nr 40600108 och 40600317)

1. Fyll en eller flera NeuMoDx System testremse-carrier(s) med NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip och använd pekskärmen för att ladda testremsecarriern i NeuMoDx System.
2. Om NeuMoDx System-programvaran uppmanar till det ska du tillsätta nödvändiga förbrukningsvaror i NeuMoDx Systems carriers för förbrukningsvaror och använda pekskärmen för att ladda carriern i NeuMoDx System.
3. Om programvaran för NeuMoDx System uppmanar till det ska du ersätta NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, tömma primningsavfallet, behållaren för biologiskt avfall (endast NeuMoDx 288 Molecular System), spetsavfallsbehållaren (endast NeuMoDx 96 Molecular System) eller tunnan för biologiskt avfall (endast NeuMoDx 96 Molecular System) enligt uppmaningen.
4. Om programvaran i NeuMoDx System uppmanar till det ska NeuMoDx HIV-1 Calibrators [REF 800304] och/eller NeuMoDx HIV-1 External Controls [REF 900301] bearbetas. Mer information om kalibratorer och kontrollerar finns i avsnittet *Bearbetning av resultat*.
5. Ladda provrören med prov/kalibrator/kontroll i en provrörscarrier. Se till att alla provrörslock är borttagna.
6. Placera provrörs-carriern i Autoloader-hyllan och ladda carriern i NeuMoDx System med hjälp av pekskärmen. Detta startar bearbetningen av de laddade proverna för de identifierade testerna. förutsatt att en giltig testbeställning finns i systemet.

### BEGRÄNSNINGAR

1. NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip kan bara användas på NeuMoDx Molecular System.
2. Prestanda hos NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip har fastställts för plasmaprover som preparerats från helblod insamlade med EDTA/ACD som antikoagulerande medel. Användningen av NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip med andra källor har inte bedömts och prestandaegenskaperna är okända för andra provtyper.
3. Prestandan hos NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip har fastställts för primära provrörstest med BD Vacutainer Plus Plastic K<sub>2</sub>EDTA Tubes och BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube.
4. NeuMoDx HIV-1 Quant Assay får inte användas med prover från hepariniserade människor.
5. Eftersom detektion av HIV-1 är beroende av antalet virala partiklar i provet är pålitliga resultat beroende av att provet samlas in, hanteras och lagras på korrekt sätt.
6. NeuMoDx HIV-1 Calibrators och NeuMoDx HIV-1 External Controls måste behandlas enligt rekommendationerna i bipacksedlarna och uppmaningarna i NeuMoDx System-programvaran innan kliniska prover rutinbearbetas.
7. Felaktiga resultat kan uppstå vid felaktig insamling, hantering, lagring, tekniska fel eller felidentifiering av provrör. Dessutom kan felaktigt negativa resultat bli följden eftersom antalet viruspartiklar i provet ligger under detektionsgränsen för NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.
8. NeuMoDx System får bara användas av personal som utbildats inom användning av NeuMoDx System.
9. Om både HIV-1- och SPC2-målen inte amplificeras rapporteras ett resultat som ogiltigt (Indeterminate (obestämt) eller Unresolved (olöst)). Då ska testet upprepas.
10. Om NeuMoDx HIV-1 Quant Assay är Positive (positivt), men kvantifieringsvärdet är utanför kvantifieringsgränserna, så rapporterar NeuMoDx System om detekterad HIV-1 var under den lägre gränsen för kvantifiering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) eller över den övre gränsen för kvantifiering (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
11. Om detekterad HIV-1 var under LLoQ kan analysen med NeuMoDx HIV-1 Quant Assay upprepas (om så önskas) med en annan alikvot av provet.
12. Om detekterad HIV-1 var över ULoQ kan analysen upprepas med NeuMoDx HIV-1 Quant Assay och en utspädd alikvot av originalprovet. Vi rekommenderar en spädning på 1:100 eller 1:1 000 i HIV-1-negativ plasma eller Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare, Milford, MA). Koncentrationen i det ursprungliga provet kan beräknas enligt följande:  
$$\text{ursprunglig provkoncentration} = \log_{10}(\text{spädningsfaktor}) + \text{rapporterad koncentration av det utspädda provet}$$
13. Tillfällig förekomst av PCR-hämmare i plasma kan resultera i ett systemkvantifieringsfel. Om detta inträffar rekommenderas att testet upprepas med samma prov som späds i Basematrix vid 1:10 eller 1:100.
14. Ett positivt testresultat indikerar inte nödvändigtvis förekomsten av levande HIV-1. Snarare tyder ett positivt resultat på förekomst av HIV-1-RNA.
15. Borttagning eller mutationer i de bevarade regionerna som NeuMoDx HIV-1 Quant Assay är riktad mot kan påverka identifieringen och leda till felaktiga resultat.
16. Resultat från NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ska användas som komplement till kliniska observationer och övrig information som är tillgänglig för läkaren.
17. God laboratorised inklusive att byta handskar mellan hantering av patientprover rekommenderas för att undvika kontaminering.

### BEARBETNING AV RESULTAT

Tillgängliga resultat kan visas eller skrivas ut från fliken Results (Resultat) i fönstret Results (Resultat) på NeuMoDx Systems pekskärm. Resultatet av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay genereras automatiskt av programvaran i NeuMoDx System med beslutsalgoritmen och resultatbearbetningsparametrarna som angetts i NeuMoDx HIV-1 analysdefinitionsfilen (HIV-1 ADF). Ett NeuMoDx HIV-1 Quant Assay-resultat kan anges som Negative (negativt), Positive (positivt) med en rapporterad HIV-1-koncentration, Positive (positivt) över ULoQ, Positive (positivt) under LLoQ, Indeterminate (obestämt) eller Unresolved (olöst) baserat på amplifieringsstatus för målet och provbearbetningskontrollen. Resultaten rapporteras baserat på ADF-beslutsalgoritmen som sammanfattas nedan i *tabell 1*.

Tabell 1: Sammanfattning av beslutsalgoritm för HIV-1 Quant Assay

RESULTAT*	HIV-1-mål	Provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC2)
Positive (positivt) med rapporterad koncentration	Amplified (Amplifierad), $1,5 \leq [\text{HIV-1}] \leq 7,7 \log_{10} \text{ IE/mL}$	Amplified (Amplifierad) eller Not Amplified (Ej amplifierad)
Positive (positivt), över ULoQ	Amplified (Amplifierad), $[\text{HIV-1}] > 7,7 \log_{10} \text{ IE/mL}$	Amplified (Amplifierad) eller Not Amplified (Ej amplifierad)
Positive (positivt), under LLoQ	Amplified (Amplifierad), $[\text{HIV-1}] < 1,5 \log_{10} \text{ IE/mL}$	Amplified (Amplifierad) eller Not Amplified (Ej amplifierad)
Negative (Negativt)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Amplified (Amplifierad)
Indeterminate (Obestämt)	Not Amplified, System Errors Detected (Ej amplifierad, Systemfel upptäcktes)	
Unresolved (Olöst)	Not Amplified, No System Error Detected (Ej amplifierad, Systemfel upptäcktes inte)	

\*Kvantifieringsområdet för NeuMoDx HIV-1 Quant Assay är  $1,5$  till  $7,7 \log_{10} \text{ IE/mL}$ . Resultatet POSITIVE (positivt) indikerar att HIV-1-RNA har detekterats och bidrar till en diagnos av en HIV-1-infektion. Resultatet NEGATIVE (negativt) indikerar antingen frånvaro av HIV-1-RNA eller att virusmängden är lägre än detektionsgränsen. Falsa negativa eller falskt låga virusmängder kan orsakas av felaktig provinsamling eller förvaring. Resultaten måste tolkas mot bakgrund av relevanta kliniska resultat och laboratorieresultat.

### Testberäkning

- För prover inom kvantifieringsintervallet för NeuMoDx HIV-1 Quant Assay så beräknas koncentrationen av HIV-1 RNA i proverna med hjälp av den lagrade standardkurvan tillsammans med kalibreringskoefficienten.
  - En s.k. kalibreringskoefficient beräknas utifrån resultatet av NeuMoDx HIV-1 Calibrators som bearbetats för att fastställa standardkurvas giltighet för en viss lot av NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip i ett specifikt NeuMoDx System.
  - Kalibreringskoefficienten räknas in i den slutliga bestämningen av koncentrationen av HIV-1 RNA.
- Resultaten av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay rapporteras i  $\log_{10} \text{ IE/mL}$ . Omvandlingsfaktorn för NeuMoDx HIV-1 Quant Assay är 0,75 kopior/IE.
- Den resulterande kvantifieringen av okända prover kan spåras till ett kalibrerat referensmaterial som erhållits från National Institute for Biological Standards and Control.

### Testkalibrering

En giltig kalibrering baserad på standardkurvan krävs för att kvantifiera HIV-1 RNA i proven. För att resultaten ska bli giltiga måste en testkalibrering utföras med kalibratorer från NeuMoDx Molecular, Inc.

### Kalibratorer

- NeuMoDx HIV-1 Calibrators [REF 800304] innehåller icke-infekterat inkapslat HIV-1-mål utspätt i Basematrix.
- En uppsättning HIV-1-kalibratorer behöver bearbetas för varje ny lot med NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strips, när en ny HIV-1-analysdefinitionsfil laddas upp i NeuMoDx System eller om utgångsdatum har passerat för den aktuella kalibratoruppsättningen (90 dagar) eller om programvaran i NeuMoDx System förändras.
- NeuMoDx System-programvaran informerar användaren när kalibratorerna måste bearbetas. En ny lot testremсор kan inte användas för testning förrän kalibratorerna har bearbetats.
- Kalibreringsvaliditeten fastställs så här:
  - En uppsättning med två kalibratorer – en (1) hög och en (1) låg – behöver bearbetas för att fastställa validiteten.
  - För att resultaten ska vara giltiga ska minst två (2) av de tre (3) replikaten ge resultat som ligger inom de förinställda parametrarna. Det nominella målvärdet för låg kalibrator är  $3 \log_{10} \text{ IE/mL}$  och för hög kalibrator  $5 \log_{10} \text{ IE/mL}$ .
  - En kalibreringskoefficient beräknas för att ta hänsyn till förväntad variation mellan olika loter av testremсор. Kalibrationskoefficienten används vid bestämning av den slutgiltiga HIV-1-koncentrationen.

- Om en eller bägge kalibratorer inte godkänns av validitetskontrollen så upprepar du bearbetningen av de misslyckade kalibratorerna med en ny ampull. Om en kalibrator inte valideras så går det att enbart upprepa den misslyckade kalibratoren eftersom systemet inte kräver att användaren kör bägge kalibratorerna.
- Kontakta NeuMoDx Molecular, Inc. om en eller båda kalibratorer underkänns i valideringen i följd.

### Kvalitetskontroll

Lokala föreskrifter anger vanligen att laboratoriet är ansvarigt för kontrollrutiner som övervakar noggrannheten och precisionen i hela den analytiska processen och måste fastställa antalet, typen av och frekvensen för testning av kontrollmaterial med hjälp av prestandaspecifikationer för ett omodifierat, godkänt testsystem.

### Externa kontroller

- NeuMoDx HIV-1 External Controls [REF 900301] innehåller positiva kontroller av icke-infektiösa, inkapslade HIV-1-mål som endast förberetts i Basematrix och negativa kontroller av Basematrix.
- Positiva och negativa externa kontroller måste bearbetas var 24:e timme under testning med NeuMoDx HIV-1 Quant Assay. Om inga giltiga externa kontrollresultatuppsättningar finns begär NeuMoDx System-programvara användaren att tillhandahålla dessa kontroller innan provresultat kan rapporteras.
- Giltigheten för externa kontroller analyseras av NeuMoDx System baserat på det förväntade resultatet. Den positiva kontrollen ska ge ett HIV-1 Positive (positivt) resultat och den negativa kontrollen ett HIV-1 Negative (negativt) resultat.
- Gör så här om resultaten för externa kontroller avviker från varandra:
  - Ett positivt testresultat som rapporteras för ett negativt kontrollprov indikerar att provet är kontaminerat.
  - Testresultatet Negative (Negativt) som rapporteras för ett positivt kontrollprov kan indikera att det finns problem med reagenser eller instrumentet.
  - Upprepa NeuMoDx HIV-1 External Controls med färskas flaskor av de kontroller som inte godkändes av valideringen i något av ovanstående fall, eller vid resultatet Indeterminate (Obestämt) (IND).
  - Om den positiva NeuMoDx HIV-1 External Control återigen ger resultatet Negative (negativt) ska du kontakta den tekniska supporten hos NeuMoDx.
  - Om NeuMoDx HIV-1 extern kontroll återigen ger ett positivt resultat: försök eliminera alla potentiella kontamineringskällor, bland annat genom att byta alla reagenser innan du kontaktar kundtjänst hos NeuMoDx.

### Provprocesskontroller (interna)

En exogen provbearbetningskontroll (Sample Process Control, SPC2) inkluderas i NeuMoDx Extraction Plate och genomgår hela processen med nukleinsyraextraktion och realtids-RT-PCR-amplifiering med varje prov. SPC2-specifika primrar och prober inkluderas också i varje NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip. Därmed kan närvaron av SPC2 detekteras tillsammans med HIV-1 mål-RNA (i förekommande fall) via multiplex RT-PCR. Detektering av SPC2-amplifiering gör att programvaran i NeuMoDx System kan övervaka effektiviteten hos RNA-extraktion och RT-PCR-amplifieringsprocesserna.

### Ogiltiga resultat

Om en NeuMoDx HIV-1 Quant Assay som utförs i NeuMoDx System inte producerar ett giltigt resultat rapporteras det som antingen Indeterminate (obestämt) (IND) eller Unresolved (olöst) (UNR) baserat på typen av fel som uppstod.

Ett IND-resultat rapporteras om ett NeuMoDx System-fel upptäckts under provbearbetningen. Om ett IND-resultat rapporteras rekommenderas ett omtest.

Ett UNR-resultat rapporteras om ingen giltig amplifiering av HIV-1 RNA eller SPC2 identifieras, vilket indikerar ett möjligt reagensfel eller att det finns hämmare. Om ett UNR-resultat rapporteras rekommenderas ett omtest som första steg. Om även omtestet misslyckas kan ett utspätt prov användas för att lindra effekterna av eventuell provhämning.

## PRESTANDAEGENSKAPER

### Analytisk sensitivitet – Detektionsgräns

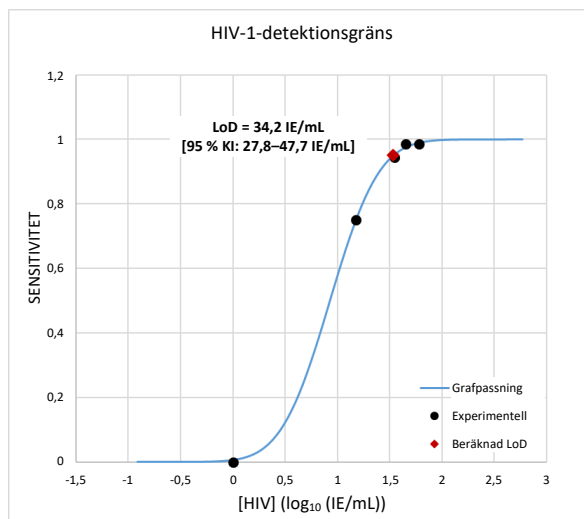
Den analytiska sensitiviteten hos NeuMoDx HIV-1 Quant Assay bestämdes genom att testa en spädningsserie som kan spåras till WHO:s tredje internationella HIV-1-standard i screenad HIV-1 RNA negativ EDTA-plasma för att fastställa detektionsgränsen (Limit of Detection, LoD) på NeuMoDx System. LoD definierades som den lägsta målnivån som detekteras till en kvot på  $\geq 95\%$ , vilket fastställdes av provitanalysen. Studien utfördes under tre (3) dagar med flera system, operatörer, körningar och loter av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay-reagenser. Varje system behandlade 12 replikat vid varje spädningnivå per dag. Detektionsnivåerna visas i *tabell 2*.



**Tabell 2:** Positiva detektionsnivåer för LoD-bestämning av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Målkonzentration (IE/mL)	Målkonzentration (log <sub>10</sub> IE/mL)	Antal giltiga tester	Antal positiva	Detektionsnivå (%)
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 %

Med probitanalys bestämdes LoD för NeuMoDx HIV-1 Quant Assay för plasma över alla genotyper till **34,2 IE/mL (1,5 log<sub>10</sub> IE/mL)** med 95 % konfidensintervall (KI) på 27,8 till 47,7 IE/mL (1,4–1,7 log<sub>10</sub> IE/mL) enligt test på NeuMoDx 288 Molecular System [bild 2].


**Bild 2:** Probitanalys av detektionsgräns för NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

### Analytisk sensitivitet – lägre kvantifieringsgräns

Den lägre kvantifieringsgränsen (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) definieras som den lägsta målnivån där > 95 % detektion uppnås och totalt analytiskt fel  $\leq 1$ . För att fastställa LLoQ beräknades det totala analytiska felet (Total Analytical Error, TAE) för var och en av målnivåerna för HIV-1 som en del av LoD-beräkningen. Det totala analytiska felet definieras enligt följande:

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

där

**bias** är absolutvärdet för skillnaden mellan medelvärdet av den beräknade koncentrationen och den förväntade koncentrationen  
**SD** avser standardavvikelsen för det kvantifierade värdet för provet

Sammanställda resultat för de fyra (4) nivåerna av HIV-1-plasmaprover som används i LLOQ-studien med undertyp B visas i *tabell 3*. Eftersom beräknat TAE var  $\leq 1$  vid HIV-1-nivåer under LoD visade NeuMoDx HIV-1 Quant Assay en lägre kvantifieringsgräns som motsvarar detektionsgränsen: **34,2 IE/mL** (95 % KI 27,8–47,7 IE/mL) eller **1,5 log<sub>10</sub> IE/mL** (95 % KI 1,4–1,7 log<sub>10</sub> IE/mL).

**Tabell 3:** NeuMoDx HIV-1 Quant Assay LLoQ med Bias och TAE

Målkonc. (IE/mL)	Målkonc. (log <sub>10</sub> IE/mL)	Snittkonc. (log <sub>10</sub> IE/mL)	Detektion (%)	SD	Bias	TAE
60	1,78	1,76	99	0,28	0,02	0,59
45	1,65	1,82	99	0,30	0,17	0,78
35	1,54	1,69	94	0,39	0,15	0,93
15	1,18	1,52	75	0,54	0,34	1,44



### Analytisk sensitivitet – Linjäritet och bestämning av övre kvantifieringsgräns

Linjäritet och den övre kvantifieringsgränsen (Upper Limit of Quantitation, ULOQ) för NeuMoDx HIV-1 Quant Assay bestämdes genom att bereda en spädningsserie av HIV-1 från The External Quality Assurance Program Oversight Laboratory (Duke University, NC, USA), AccuPlex™ Recombinant HIV / HCV Control (Seracare, MA, USA) och HIV-1 RNA Working Reagent 2 för NAT-analyser (NIBSC). En panel med nio deltagare bereddades i poolad HIV-1 RNA-negativ EDTA-plasma så att panelen omfattade koncentrationer på 7,70 till 1,70 log<sub>10</sub> IE/mL. NeuMoDx HIV-1 Quant Assay visade möjligheten att kvantifiera HIV-1 över det linjära 6 log<sub>10</sub>-intervallet med en noggrannhet på ± 0,33 log<sub>10</sub> IE/mL baserat på det standardfel som beräknats med 95 % konfidensintervall. Ingen betydande fördel uppnåddes vid användning av regressionsanpassningar i 2:a eller 3:e ordningen. ULOQ bestämdes med hjälp av data från denna studie till **7,7 log<sub>10</sub> IE/mL**. De HIV-1-analyskoncentrationer som NeuMoDx System rapporterat jämfört med de förväntade värdena presenteras i bild 3.

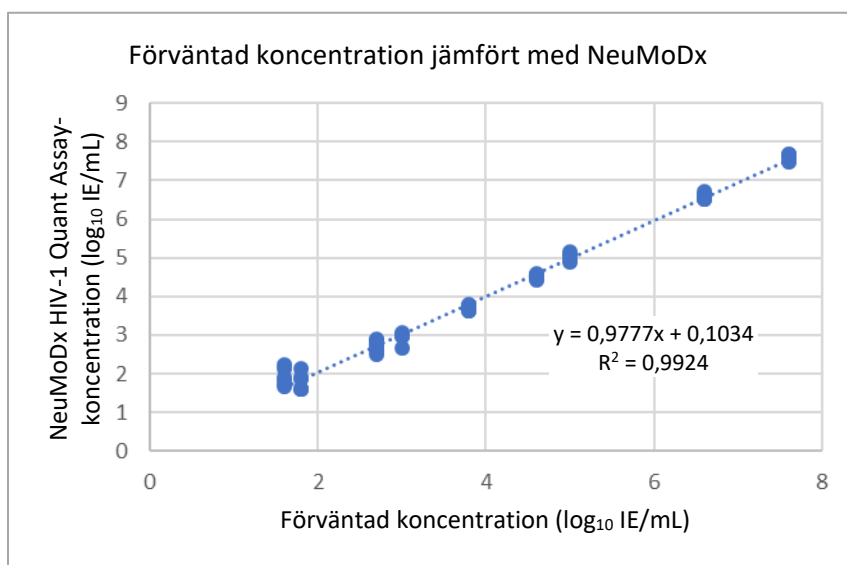


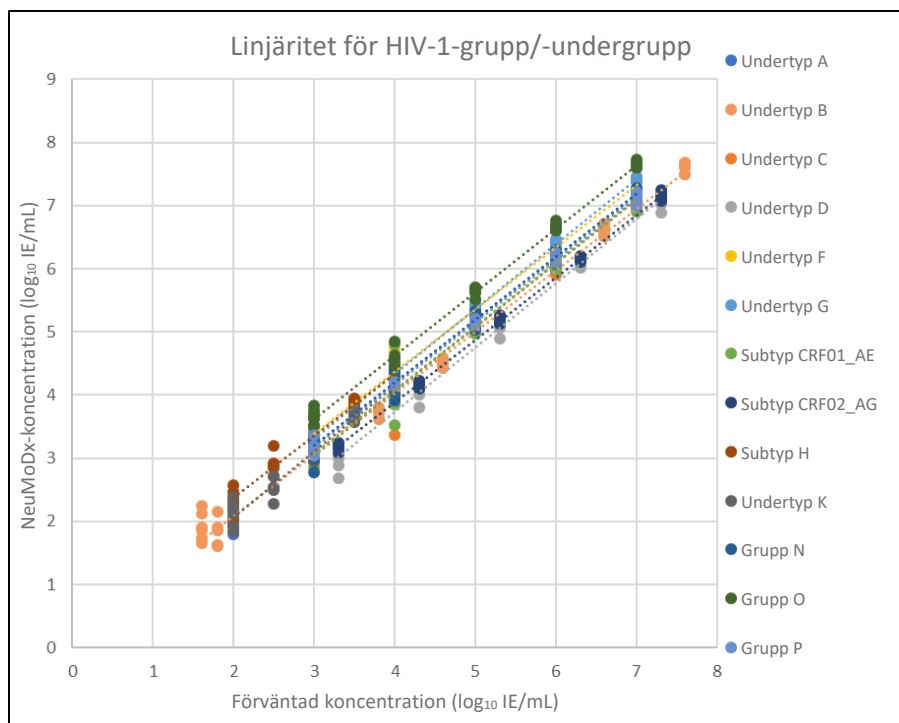
Bild 3: Linjärt område hos NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

### Analytisk sensitivitet – Linjäritet över genotyper

Linjäriteten hos NeuMoDx HIV-1 Quant Assay mellan HIV-1-grupperna M (undertyperna A, B, C, D, F, G, H, K, CRF01\_AE, CRF02\_AG), N, O och P karakteriserades av testning av minst fem (5) olika koncentrationer av varje grupp/undertyp av HIV-1 som beretts i poolad HIV-1-RNA-negativ EDTA-plasma. De HIV-1-målnivåer som testades i den här studien var beroende av koncentrationen av källprovet och skilde sig därmed mellan grupper/undertyper. I studien använde varje grupp/undertyp sex (6) replikat på varje nivå. Linjäriteten påvisades över de testade intervallen och presenteras i tabell 4 och bild 4.

Tabell 4: Linjäritet för NeuMoDx HIV-1 Quant Assay mellan grupperna M, N, O och P

Grupp	Undertyp	Linjäritetsekvation	
		$y = \text{NeuMoDx HIV-1 Quant Assay-kvantifiering (log}_{10} \text{ IE/mL)}$	$x = \text{Förväntad kvantifiering (log}_{10} \text{ IE/mL)}$
			R <sup>2</sup>
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



**Bild 4:** Linjäritet hos NeuMoDx HIV-1 Quant Assay över undertyper

#### Analytisk specificitet – potentiellt störande mikrobiella föroreningar

Den analytiska specificiteten hos NeuMoDx HIV-1 Quant Assay utvärderades genom att testa en panel av mikroorganismer (*tabell 5*) som beretts i HIV-1 RNA negativ EDTA-plasma vid höga koncentrationer för korsreaktivitet. Potentiell interferens bedömdes med hjälp av samma panel av mikroorganismer som beretts i EDTA-plasma och spetsades med HIV-1 vid 2,02 log<sub>10</sub> IE/mL. Ingen korsreaktivitet observerades och alla HIV-1-negativa mikrobiella prover gav negativa resultat. Alla HIV-1-positiva mikrobiella prover gav positiva resultat och ingen signifikant interferens observerades i dessa prover, vilket bevisas av minimal avvikelse i rapporterad HIV-1-kvantifiering från kontrollprover som inte innehåller några potentiellt störande mikroorganismer. Ytterligare potentiell korsreaktivitet bedömdes genom en nukleotidsekvensjämförelse av NeuMoDx HIV Quant Assay-målsekvenser med kompletta genomer av 26 ytterligare patogener (*tabell 6*) med hjälp av BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool) som tillhandahölls av National Center for Biotechnology Information (NCBI). Sekvensjämförelseanalysen visade ingen analogi mellan målsekvenser och de genom som undersöktes.

**Tabell 5:** Patogener som testats för analytisk specificitet

Potentiellt störande mikroorganism
Hepatit A-virus
Hepatit B-virus
Hepatit C-virus
Humant T-celleukemivirus typ 1 (HTLV-1)
Humant T-celleukemivirus typ 2 (HTLV-2)
Humant immunbristvirus typ 2 (HIV-2)
Simian-immunbristvirus (SIV)
Epstein-Barr-virus

Tabell 6: Mikroorganismer som ingår i BLASTn-sekvensriktningsanalys

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

### Analytisk specificitet – Potentiellt störande endogena och exogena substanser

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay utvärderades för känslighet för interferens av läkemedel som vanligen förskrivs till HIV-1-infekterade individer, förhöjda nivåer av endogena substanser och förekomst av autoimmuna sjukdomar. Screened HIV-1 RNA-negativ EDTA-plasma spetsades med  $3 \log_{10}$  IE/mL HIV-1 och med albumin (120 mg/mL), bilirubin (0,03 mg/mL), hemoglobin (3,5 mg/mL), triglycerides (5,3 mg/mL) och läkemedelsföreningar (tabell 7) vid tre gånger  $C_{max}$ . Sjukdomsplasma för systemisk lupus erythematosus (SLE), antinuclear antikropp (ANA) och reumatoidartrit (RA) screenades också negativt och spetsades med  $3 \log_{10}$  IE/mL HIV-1 för testning. Ingen betydande interferens observerades. Resultaten av studien sammanfattas i tabell 8.

Tabell 7: Läkemedelsföreningar som testats för interferens

Läkemedelsklassificering	Läkemedelsnamn
Immunmodulator	Interferon alfa-2a, Interferon alfa-2b, Ribavirin
CCR5-antagonist	Maraviroc
Farmakokinetisk förstärkare	Cobicistat
Icke-nukleosid omvänd transkriptashämmare (Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor, NNRTI)	Doravirine, Efavirenz, Nevirapine, Rilpivirine
Proteashämmare (Protease Inhibitor, PI)	Darunavir, Amprenavir, Ritonavir, Saquinavir, Simeprevir
Nukleosid omvänd transkriptashämmare (Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor, NRTI) eller DNA-polymerashämmare	Cidofovir, Lamivudine, Ganciclovir, Tenofovir disoproxil, Zidovudine, Valganciclovir, Abacavir sulfat, Emtricitabine, Entecavir, Foscarnet, Sofosbuvir
Integrashämmare	Raltegravir, Dolutegravir
Fusionshämmare	Enfuvirtide
Opportunistisk infektionsbehandling	Azithromycin, Clarithromycin, Fluconazole, Sulfamethoxazole, Trimethoprim

Tabell 8: Sammanfattning av interferenstestning – exogena och endogena medel

Endogena	Genomsnitt [HIV-1] ( $\log_{10}$ IE/mL)	Bias ( $\log_{10}$ IE/mL)
Albumin	3,03	-0,11
Bilirubin	3,04	-0,09
Hemoglobin	3,04	-0,09
Triglycerider	3,14	0,01
Exogena (läkemedel)	Genomsnitt [HIV-1] ( $\log_{10}$ IE/mL)	Bias ( $\log_{10}$ IE/mL)
Pool 1: Interferon alfa-2a, Interferon alfa-2b, Ribavirin, Maraviroc, Cobicistat	3,06	-0,07
Pool 2: Raltegravir, Dolutegravir, Efavirenz, Nevirapine, Rilpivirine	3,04	-0,09
Pool 3: Doravirine, Darunavir, Amprenavir, Ritonavir, Saquinavir	3,11	-0,02
Pool 4: Simeprevir, Enfuvirtide, Abacavir sulfat, Emtricitabine, Entecavir, Foscarnet	3,12	-0,01
Pool 5: Cidofovir, Lamivudine, Ganciclovir, Tenofovir disoproxil, Zidovudine, Valganciclovir	3,14	0,01
Pool 6: Sofosbuvir, Azithromycin, Clarithromycin, Fluconazole, Sulfamethoxazole, Trimethoprim	3,13	0
Sjukdomstillstånd	Genomsnitt [HIV-1] ( $\log_{10}$ IE/mL)	Bias ( $\log_{10}$ IE/mL)
Systemic Lupus Erythematosus (SLE)	3,00	-0,13
Antinukleär antikropp (Antinuclear Antibody, ANA)	3,10	-0,03
Reumatoid artrit (RA)	3,25	0,12

### Precision

Precisionen hos NeuMoDx HIV-1 Quant Assay bestämdes genom att testa en panel med fyra medlemmar av HIV-1-prover som preparerats i HIV-1-negativ plasma (med både HIV-1 undertyp B och grupp O från EQAPOL, Duke University) på tre (3) NeuMoDx Systems under sex (6) dagar. Totalt 12 körningar gjordes på varje system för varje provnivå, vilket resulterade i 216 replikat per nivå för testintervallet. Precisionerna inom körning, inom dag och inom system karakteriserades och den övergripande standardavvikelsen fastställdes till  $\leq 0,15 \log_{10}$  IE/mL. Inga betydande prestandaskillnader påträffades mellan system, dagar eller körningar, vilket framgår av tabell 9. Precisionen mellan användare beräknades inte eftersom inte användaren spelar någon tydlig roll i bearbetningen av prover med NeuMoDx System.

**Tabell 9:** Precision inom labbet – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay på NeuMoDx Systems

	Målkonc. (log <sub>10</sub> IE/mL)	Genomsn. konc. (log <sub>10</sub> IE/mL)	SD inom system	SD inom dag	SD inom körning	SD inom labbet (övergripande)
Undertyp 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
Grupp 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

### Variation från lot till lot

Reproducerbarhet från lot till lot för NeuMoDx HIV-1 Quant Assay bekräftades med en retrospektiv analys av kvalitetstestdata för tre (3) separata loter av kritiska reagenser. Dessa data genererades genom funktionell testning av reagenserna på en tremedlemspanel av HIV-målet (AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) i HIV-1 RNA-negativ plasma, tillsammans med negativa plasmaprover. Sammanlagt 18 positiva och 14 negativa replikat bearbetades per lot av NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip. Variationen inom och mellan loter analyserades och presenteras i *tabell 10*. Övergripande absolut bias överskred inte 0,14 log<sub>10</sub> IE/mL och den övergripande standardavvikelsen understeg 0,25 log<sub>10</sub> IE/mL. Inga signifikanta skillnader påträffades i prestandan mellan loter eftersom kvantifiering av alla panelmedlemmar var inom toleransspecifikationen.

**Tabell 10:** Reproducerbarhet från lot till lot – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Målkonc. (log <sub>10</sub> IE/mL)	Medelkonc. Övergripande (log <sub>10</sub> IE/mL)	Antal giltiga tester	Bias  (log <sub>10</sub> IE/mL)	Mellan lot SD	SD inom lot	Övergripande SD
5,00	4,96	18	0,04	0,08	0,08	0,12
3,00	2,86	17	0,14	0,12	0,18	0,22
2,00	1,92	18	0,08	0,17	0,14	0,22

### Kontrolleffektivitet

Provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC2) ingår i NeuMoDx HIV-1 Quant Assay för att rapportera process- och/eller amplifieringsfel. Effektiviteten hos denna interna kontroll testades på den likvärdiga NeuMoDx HCV Quant Assay under förhållanden som är representativa för misslyckade kritiska processteg som potentiellt kan uppstå vid probbearbetning och som eventuellt inte detekteras av de inbyggda sensorerna som övervakar prestanda hos NeuMoDx System. Måttliga positiva och negativa prover kördes för att testa den interna kontrollen vid förekomst av reaktionshämmare, ingen tillförsel av NeuMoDx Wash Reagent och ingen wash-utblåsning. Förhållanden med en negativ effekt på måldetektionen speglades också i SPC2-detektionen, vilket sammanfattas nedan i *tabell 11*. Alla testade scenarier visade att provprocesskontrollen kunde övervaka fel på lämpligt sätt eller att de oupptäckta felen inte hade någon betydande inverkan på målidentifiering och målkvantifiering.

**Tabell 11:** Sammanfattning av studien om provkontrolleffektivitet

Simulerat feltillstånd	SPC2-amplifieringsstatus	Status för målamplifiering	Analysresultat
<b>Presence of Inhibitor (Närvaro av hämmare)</b>	Not Amplified (Ej amplifierad)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Unresolved (Olöst)
<b>No Wash Reagent (Ingen Wash-reagens)</b>	Not Amplified (Ej amplifierad)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Unresolved (Olöst)
<b>No Wash Blowout (Ingen Wash-utblåsning)</b>	Amplified (Amplifierad)	Amplified (Amplifierad)	Positive (Positiv), ± 0,3 log <sub>10</sub> IE/mL för kontroll

### Korskontaminering

Korskontamineringshastigheten för NeuMoDx HIV-1 Quant Assay fastställdes genom testning av sex (6) körningar av alternerande höggradigt positiva och negativa HIV-1-prover. Totalt 36 negativa replikat och 36 högtitrerade HIV-1-replikat vid 6,0 log<sub>10</sub> IE/mL bearbetades i en alternerande rutkonfiguration. Alla replikat av det negativa provet rapporterades som negativa, vilket visar förekomsten av ingen korskontaminering under plasmaprovbearbetning i NeuMoDx System.

### Provmatrisekvivalens

Testning utfördes för att påvisa likvärdighet för provmatrisen mellan helblod som samlats i EDTA- och ACD-uppsamlingsrör för beredning av plasma. Ytterligare tester utfördes för att fastställa likvärdigheten mellan färska och frysta plasmaprover (insamlade i de två provrörstyperna). Färska prover förvarades vid 2-4 °C innan de spetsades med fyra nivåer av HIV-1 (inklusive en negativ nivå) över det kvantitativa intervallet för NeuMoDx HIV-1 Quant Assay och testades för likvärdighet. Därefter frystes proverna i minst 24 timmar vid ≤ -20 °C. Efter denna period av frysförvaring tinades proverna och testades på nytt. Resultaten från EDTA kontra ACD och färska kontra frysta plasmaprover jämfördes för ekvivalens med regressionsanalys. Resultaten av den linjära regressionsanalysen visade ingen signifikant skillnad i rapporterade värden mellan EDTA och ACD eller mellan färska och frusna förvaringsförhållanden för plasma som testats med hjälp av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.

Ytterligare test utfördes för att påvisa likvärdighet för prestandan hos NeuMoDx HIV-1 Quant Assay på primära prover kontra sekundära prover. Paneler av HIV-1-negativa donatorprover spetsade med HIV-1-målet (AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) och av HIV-1-positiva donatorprover behandlades först från de primära provrören. Efter den primära provrörsbearbetningen alikvoterades den återstående plasman från varje prov till ett sekundärt provrör och ombehandlades. Ingen signifikant skillnad påträffades i rapporterade resultat mellan bearbetningen av de primära och sekundära plasmaprovrören.

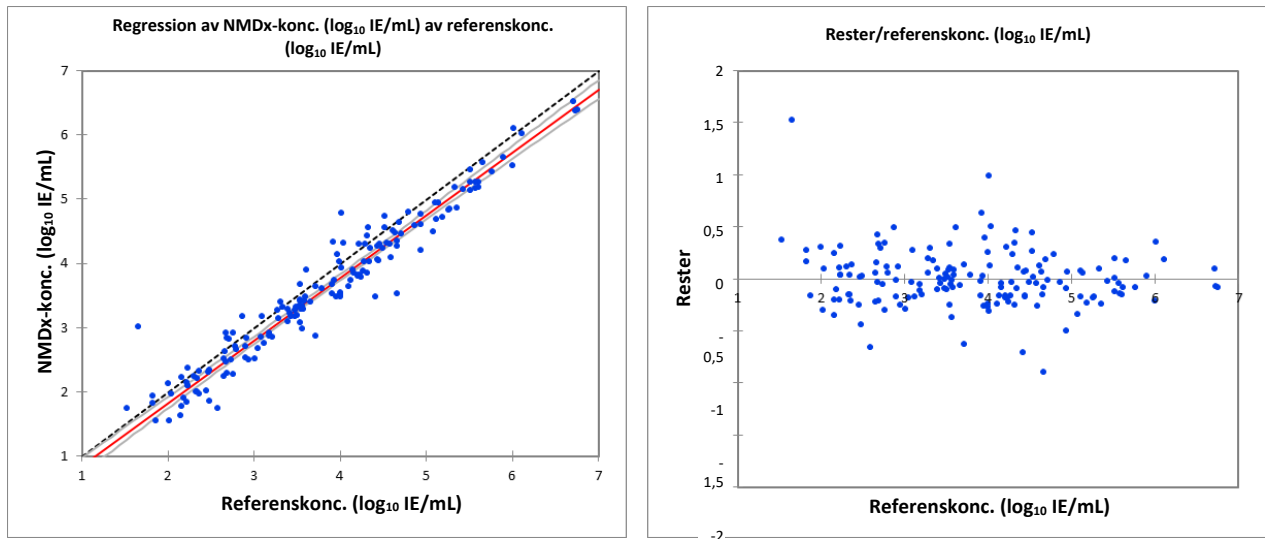
### Jämförelse av klinisk metod

Den kvalitativa och kvantitativa prestandan hos NeuMoDx HIV-1 Quant Assay jämfördes med en FDA-/CE-IVD-godkänd jämförelseanalys. Interna test utfördes med en enkelblindad studie av ej identifierade, kvarvarande plasmaprover som erhöles från en FDA-registrerad leverantör. Totalt 723 plasmaprover bearbetades med av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay på flera NeuMoDx Systems. Alla prover som ursprungligen gav ett ogiltigt resultat bearbetades om vilket gav giltiga resultat för alla prover som omfattades av den här undersökningen.

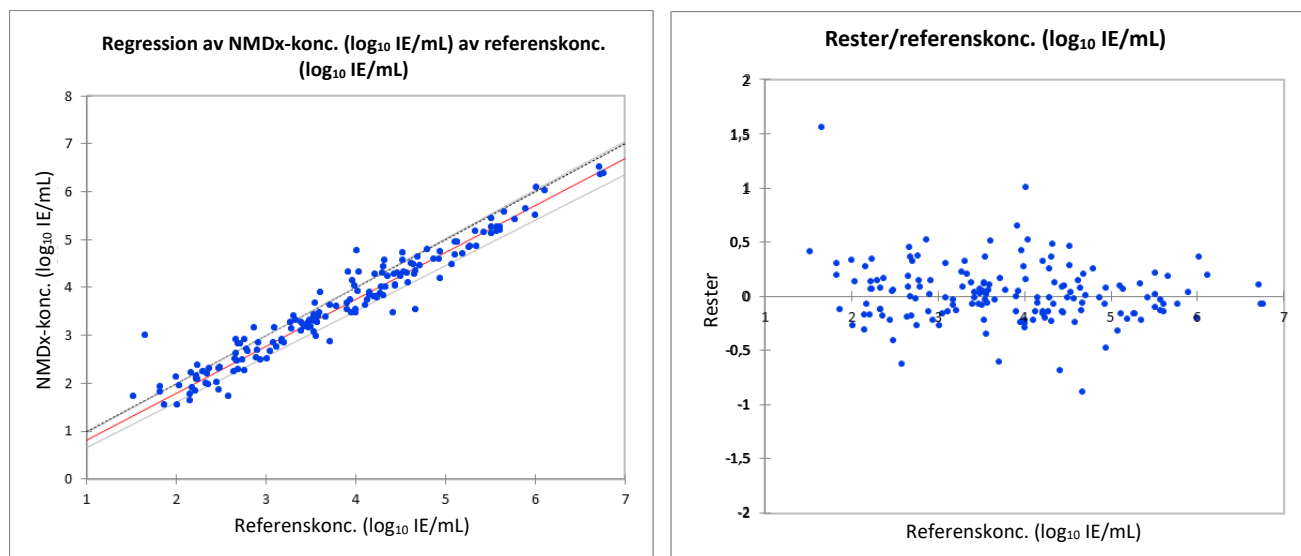
De bearbetnings- och systemfel som påträffades under testen var minimala och väl inom acceptanskriterierna. Sammanlagt tolv (12) obestämda (IND) och sju (7) olösta (UNR) resultat ger en kvot för obestämda resultat på 1,48 % (95 % KI: 0,85-2,57 %) och en kvot för olösta resultat på 0,86 % (95 % KI: 0,42-1,77 %). Den övergripande giltiga resultatfrekvensen konstaterades vara 97,7 % (95 % KI: 96,4-98,5 %).

Av de 723 giltiga resultat som erhöles rapporterades 165 positiva av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay med motsvarande koncentrationvärden som tilldelats genom referenstestning. Deming-regeression och Passing-Bablok-regressionsanalyser utfördes för att korrelera rapporterade koncentrationvärden för NeuMoDx HIV-1 Quant Assay med de rapporterade referensvärdena.

Regressions- och restdiagram skapades för att representera korrelationen mellan NeuMoDx HIV-1 Quant Assay-koncentrationer och referenstestkoncentrationvärdena för alla prover som testats med koncentrationer där båda tilldelades. Diagram som genereras med Deming-metodanalysen och Passing-Bablok-metoden visas i *bilderna 5 respektive 6*. Kvaliteten på Deming-regressionsanpassningen illustreras med en lutningskoefficient på 0,975 (95 % KI: 0,939, 1,011) och en skärningspunkt (bias) på -0,121 (95 % KI: -0,276, 0,033), vilket visar att de koncentrationsresultat som erhöles från NeuMoDx HIV-1 Quant Assay och referenstesten är starkt korrelerade med godtagbar bias. Kvaliteten hos Passing-Bablok-regressionsanpassningen illustreras med en lutningskoefficient på 0,981 (95 % KI: 0,950, 1,012) och en skärningspunkt (bias) på -0,167 (95 % KI: -0,288, -0,036) vilket likaledes visar att de koncentrationsresultat som erhöles från NeuMoDx HIV-1 Quant Assay och referenstesten är starkt korrelerade med godtagbar bias. Resultaten från Deming- och Passing-Bablok-analyserna sammanfattas nedan i *tabell 12*.



**Bild 5:** Diagram över likvärdighet (vänster) och rester (höger) – Kumulativ analys av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay kontra referenstest – Deming-analys



**Bild 6:** Diagram över likvärdighet (vänster) och rester (höger) – Kumulativ analys av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay kontra referenstest – Passing-Bablok-analys

**Tabell 12:** Sammanfattning av linjär Deming- och Passing-Bablok-regressionsanalys

Deming-analys		Passing-Bablok-analys	
Skärningspunkt	Lutningskoefficient	Skärningspunkt	Lutningskoefficient
-0,121	0,975	-0,167	0,981
95 % KI (-0,276, 0,033)	95 % KI (0,939, 1,011)	95 % KI (-0,288, -0,036)	95 % KI (0,950, 1,012)

Av de 723 giltiga resultaten som erhållits med användning av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, rapporterades 171 positivt av referenstesterna och 552 rapporterades negativt. Sensitiviteten och specificiteten hos NeuMoDx HIV-1 Quant Assay beräknades mot referenstesten och sammanfattas nedan i *tabell 13*. Av de 171 testade positiva proverna rapporterades 165 som positiva av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, vilket visar en sensitivitet på 96,5 % (95 % KI: 92,6–98,4 %). Av de 552 testade negativa proverna rapporterades 551 som negativa av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, vilket visar en sensitivitet på 99,8 % (95 % KI: 99,0–100 %).

**Tabell 13:** Jämförelseresultat för kvalitativ metod för NeuMoDx HIV-1 Quant Assay jämfört med referenstester

		Referenstest			
		HIV-1	Positive (Positivt)	Negative (Negativt)	Summa
NeuMoDx	Positive (Positivt)		165	1	166
	Negative (Negativt)		6	551	557
	Summa		171	552	723
		<b>Sensitivitet = 96,5 % (95 % KI 92,6–98,4 %)</b>			
		<b>Specificitet = 99,8 % (95 % KI 99,0–100 %)</b>			

Dessutom behandlades sammanlagt 12 kommersiella serokonversionspaneler, inklusive 75 enskilda plasmaprover, med NeuMoDx HIV-1 Quant Assay för att demonstrera detektionen av HIV-1 RNA före antikroppar/antigener med kommersiellt tillgängliga tester. Panelmedlemmar före serokonversion, tidig serokonversion och med serokonversion ingick i analysen. Analysen utfördes för att jämföra den första blodprovtagningen där HIV-1 RNA detekteras av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay jämfört med den första blodprovtagningen som var positiv för HIV-1-antikropp/antigen



(Ab/Ag) enligt resultat från kommersiellt tillgängliga FDA-/CE-IVD-godkända blodtest. För alla testade paneler detekterade NeuMoDx HIV-1 Quant Assay HIV-1 RNA minst en blödning tidigare än blodtestet för att påträffa antikroppar/antigen. Resultaten sammanfattas i *tabell 14*.

**Tabell 14:** Jämförelse av serokonversionspanel – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay kontra blodtest för HIV-1 Ab/Ag

Panel-ID	Blodprovtagningdag med första positiva resultatet	
	NeuMoDx HIV-1 Quant Assay	HIV-1 Ab/Ag blodtest
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

Ytterligare analyser utfördes för att jämföra den första blodprovtagningen vid vilken HIV-1 RNA detekteras av NeuMoDx HIV-1 Quant Assay med den första blodprovtagningen som ger positivt resultat för HIV-1 RNA med kommersiellt tillgängliga FDA-/CE-IVD-godkända NAT-tester. För alla testade paneler detekterade NeuMoDx HIV-1 Quant Assay HIV-1 RNA vid samma blodprovtagning som de andra NAT-testerna för HIV-1 RNA-detektion. I två paneler detekterade NeuMoDx HIV-1 Quant Assay HIV-1 RNA en blodprovtagning tidigare än andra NAT-test. Resultaten sammanfattas i *tabell 15*.

**Tabell 15:** Jämförelse av serokonversionspanel – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay kontra NAT för HIV-1 RNA

Panel-ID	Blodprovtagningdag med första positiva resultatet	
	NeuMoDx HIV-1 Quant Assay	Referens-NAT
PRB969	4	4
PRB968	5	5
0600-0230	2	2
0600-0270	2	2
0600-0258	2	2
0600-0244 (PRB962)	3	3
0600-0272	3	3
PRB967	2	2
PRB964	3	4
PRB963	4	5
0600-0263	5	5
PRB956	2	2

### REFERENSER

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, 5<sup>th</sup> 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.

### VARUMÄRKEN

NeuMoDx™ och NeuDry™ är varumärken som tillhör NeuMoDx Molecular, Inc.

AccuPlex™ är ett varumärke som tillhör SeraCare Life Sciences, Inc.


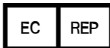








BD Vacutainer® är ett registrerat varumärke som tillhör Becton, Dickinson and Company

BD and PPT™ är varumärken som tillhör Becton, Dickinson and Company

TaqMan® är ett registrerat varumärke som tillhör Roche Molecular Systems, Inc.

Alla andra produktnamn, varumärken och registrerade varumärken som förekommer i detta dokument tillhör sina respektive ägare.

### SYMBOLER

SYMBOL	BETYDELSE
<b>R only</b>	Enbart med recept
	Tillverkare
<b>IVD</b>	<i>In vitro</i> -diagnostisk medicinteknisk produkt
	Auktoriserad representant i europeiska gemenskapen
<b>REF</b>	Katalognummer
<b>LOT</b>	Batchkod
	Utgångsdatum
	Temperaturbegränsning
	Luftfuktighetsgräns
	Får ej återanvändas
	Innehållet räcker till <n> tester
	Läs bruksanvisningen
	Iakttag försiktighet
	Biologiska risker
<b>CE</b>	CE-märkning

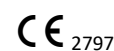


NeuMoDx Molecular, Inc.  
1250 Eisenhower Place  
Ann Arbor, MI 48108 USA

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



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



Teknisk support/Vaksamhetsrapportering: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

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