

REF 300300 NeuMoDx™ HCV Quant Test Strip

R only

ВНИМАНИЕ: Само за износ в САЩ

IVD За *инвитро* диагностика със системи NeuMoDx 288 и NeuMoDx 96 Molecular SystemЗа актуализации на листовката посетете: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Подробни указания ще намерите в Ръководството за оператора на NeuMoDx 288 Molecular System; ном. № 40600108

Подробни указания ще намерите в Ръководството за оператора на NeuMoDx 96 Molecular System; ном. № 40600317

ПРЕДВИДЕНА УПОТРЕБА

NeuMoDx HCV Quant Assay представлява автоматизиран *инвитро* тест за амплификация на нуклеинови киселини за количественото определяне на РНК на вирус на хепатит С (Hepatitis C Virus, HCV) в проби от човешка плазма и серум за положителни за антитела срещу HCV генотипове от 1 до 6 на заразени с HCV лица. NeuMoDx HCV Quant Assay се изпълнява на NeuMoDx 288 Molecular System и NeuMoDx 96 Molecular System (система(и) NeuMoDx) и включва автоматизирано извличане на РНК за изолиране на прицелната нуклеинова киселина от пробата и полимеразна верижна реакция с обратна транскрипция (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) в реално време с прицелване към силно консервираните секвенции в генома на вируса на хепатит С.

NeuMoDx HCV Quant Assay е предвиден за употреба като помощно средство при контрола на пациенти с HCV инфекции. Резултатите от NeuMoDx HCV Quant Assay трябва да се интерпретират в контекста на всички съответни клинични и лабораторни констатации. NeuMoDx HCV Quant Assay не е предвиден за употреба като тест за скрининг на кръв или кръвни продукти или за диагностика на клиничното състояние на HCV инфекция.

РЕЗЮМЕ И ОПИСАНИЕ

Човешка цяла кръв, взета в стерилни епруветки за взимане на кръв, които съдържат етилендиаминтетраоцетна киселина (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) или цитрат-декстроза (Acid Citrate-Dextrose, ACD) като антикоагулант, или в епруветки за подготовка на плазма (Plasma Preparation Tubes, PPT), може да се използва за подготовката на плазма, докато серум трябва да се взима в епруветки за серум или в епруветки със серумен сепаратор (Serum Separation Tubes, SST). При подготовката за тестването плазма или серум във вторична епруветка за проба или фракционирана кръв в първична епруветка с проба, съвместими с NeuMoDx System, се зареждат на NeuMoDx System на определения носач за епруветки с проби. За всяка проба аликвотната част от плазма/серум се смесва с NeuMoDx Lysis Buffer 3 и NeuMoDx System автоматично извършва всички необходими стъпки за извличането на прицелната нуклеинова киселина, подготовката на изолираната РНК за амплификация с RT-PCR в реално време и ако е налице, амплифицирането и откриването на продуктите на амплификацията. NeuMoDx HCV Quant Assay има два прицелни силно консервирани региона в генома на HCV с цел увеличаване на устойчивостта на анализа. Анализът NeuMoDx HCV Quant Assay включва и контрола за обработка на РНК аликвотни части (Sample Process Control, SPC2), която помага при следенето за наличие на потенциално инхибиторни вещества и проблеми в NeuMoDx System или реактивите, евентуално възникнали по време на процедурата за извличане и амплификация.

HCV представлява едноверижен РНК вирус с положителна полярност, който може да причини както остра, така и хронична инфекция.¹ За момента няма ваксина за хепатит С. Докато острата инфекция обикновено е асимптоматична и много рядко свързана с животозастрашаващо заболяване, повече от половината от лицата, заразени с HCV, могат да развият хронична инфекция. При лицата с хронична HCV инфекция рискът от цироза на черния дроб е между 15 – 30% в рамките на 20 години. В световен мащаб за близо 71 милиона души се предполага, че имат хронична HCV инфекция, като значителен брой от тях се очаква да развият цироза или рак на черния дроб.²⁻⁴ Като пренасян по кръвен път вирус, HCV се предава предимно чрез кръв и кръвни продукти. Повсеместното въвеждане на тестове за кръвен скрининг намалява значително случаите на инфекции от дарена кръв.¹

Откриването на антитела срещу HCV не прави разлика между активните и изчистените инфекции. Поради тази причина алгоритмите за лабораторно тестване за HCV изискват диагностика на активни HCV инфекции при лица с положителни проби за антитела чрез откриване на РНК на HCV в плазма или серум, преди да се започне лечение (ако е необходимо). Количествено определяне на РНК на HCV (количество вируси в кръвта) вече се използва редовно при дефинирането и следенето на успешно лечение срещу HCV.

Текущите указания за контрола и лечението на HCV инфекции препоръчват количествено тестване за РНК на HCV преди започването на антивирусна терапия, за да се установи начално състояние, и отново 12 седмици след края на лечението или по-късно. В някои случаи се препоръчва тестване на допълнителни интервали. Трайният вирусологичен отговор (Sustained Virological Response, SVR) е целта на лечението срещу HCV и се дефинира като неоткриваема РНК на HCV (с анализ, който има граница на откриване <25 IU/mL) след лечение.⁵⁻⁷ Последните указания на Американската асоциация за изучаване на чернодробните заболявания препоръчват тестването за РНК на HCV да се извършва не само в началното състояние, но и периодично по време на лечението (т.е. на всеки 4 седмици) и отново 12 седмици след завършването му. Тестове за откриване на РНК на HCV, заедно със серологичните тестове, се използват за установяване на активна HCV инфекция.⁸

ПРИНЦИПИ НА ПРОЦЕДУРАТА

Анализът NeuMoDx HCV Quant Assay съчетава автоматизирано извличане, амплификация и откриване на РНК с RT-PCR в реално време. Проби от цяла кръв се взимат в епруветки с EDTA, ACD или епруветки PPT за подготовката на плазма и/или в епруветки SST за подготовката на серум. Първичната (фракционирана) кръвна проба или аликвотна част от плазма/серум в съвместима вторична епруветка за проба се етикетира с баркод и се поставя в NeuMoDx System. NeuMoDx System автоматично аспирира аликвотна част от плазмата/серума за смесване с NeuMoDx Lysis Buffer 3 и реактивите, съдържащи се в NeuMoDx Extraction Plate, за да започне обработката. NeuMoDx System автоматизира и интегрира извличането и концентрирането на РНК, подготовката на реактивите, амплификацията на нуклеиновите киселини/откриването на прицелната секвенция с RT-PCR в реално време. Включената контрола за обработка на аликвотни части (Sample Process Control, SPC2) подпомага следенето за наличие на инхибиращи вещества и проблеми, свързани със системата, процеса или реактивите. След зареждането на пробата в NeuMoDx System не е необходима намеса на оператора.

NeuMoDx System използва комбинация от топлина, литичен ензим и реактиви за извличане, за да извършва автоматично лизиране, извличане на РНК и отстраняване на инхибитори. Отделените нуклеинови киселини се улавят от парамагнитни частици. Частиците със свързаната нуклеинова киселина се зареждат в NeuMoDx Cartridge, където несвързаните елементи се отмиват с NeuMoDx Wash Reagent. Свързаната РНК след това се елуира с NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx System използва елуираната РНК, за да рехидрати патентованите реактиви за амплификация NeuDry™, съдържащи всички необходими елементи за амплификация на прицелните нуклеинови киселини за HCV и на тези за SPC2. Това позволява едновременна амплификация и откриване както на прицелните, така и на контролните секвенции от РНК. След разтварянето на сухите реактиви за RT-PCR NeuMoDx System накарва подготовената смес за RT-PCR в една камера за PCR (за всяка отделна проба) на NeuMoDx Cartridge. Обратната транскрипция, амплификацията и откриването на контролната и прицелната секвенция (ако има) се извършват в камерата за PCR. NeuMoDx Cartridge е конструирана да задържа ампликона след PCR, с което на практика се елиминира рискът от контаминация след амплификацията.

Амплифицираните прицелни нуклеинови киселини се откриват в реално време посредством химични процеси с хидролизираща сонда (TaqMan®) с флуорогенни молекули от олигонуклеотидната сонда, специфични за ампликоните на съответните им прицелни нуклеинови киселини. Сондите TaqMan се състоят от флуорофор, ковалентно свързан с край 5' на олигонуклеотидната сонда, и гасител в край 3'. Докато сондата е цяла, флуорофорът и гасителят са близо един до друг, което позволява на молекулата на гасителя да потисне флуоресценцията, излъчвана от флуорофора чрез резонансно предаване на енергия на Фьорстер (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Сондите TaqMan са конструирани така, че да хибридизират в определен участък от ДНК, амплифициран със специфичен набор от праймери. Докато Таq ДНК полимеразата изтегля праймера и синтезира новата верига, действието на екзонуклеазата от край 5' до край 3' на Таq ДНК полимеразата разгражда хибридизираната към образца сонда. Разграждането на сондата отделя флуорофора и го отдалечава от гасителя, при което се преодолява гасящото действие поради FRET и се създава възможност за откриването на флуорофора. Полученият флуоресцентен сигнал, засечен от NeuMoDx System при количествената RT-PCR чрез апарата за циклична топлинна обработка, е правопрпорционален на отделения флуорофор и е в корелация с наличното количество прицелна ДНК.

Сонда TaqMan, обозначена с флуорофор (възбуждане: 490 nm и излъчване: 521 nm) в край 5' и гасител в край 3', се използва за откриване на РНК на HCV. За откриването на SPC2 сондата TaqMan е белязана с друг флуоресцентен оцветител (възбуждане: 535 nm и излъчване: 556 nm) в край 5' и гасител в край 3'. Софтуерът на NeuMoDx System следи флуоресцентния сигнал, излъчван от сондите TaqMan в края на всеки амплификационен цикъл. Когато амплификацията приключи, софтуерът на NeuMoDx System анализира данните и съобщава окончателен резултат (POSITIVE (ПОЛОЖИТЕЛЕН)/NEGATIVE (ОТРИЦАТЕЛЕН)/INDETERMINATE (НЕОПРЕДЕЛЕН)/UNRESOLVED (НЕПОЛУЧЕН)/NO RESULT (НЯМА РЕЗУЛТАТ)). Ако резултатът е положителен и изчислената концентрация е в границите на количественото определяне, софтуерът на NeuMoDx System дава също така количествена стойност за аликвотната част.

РЕАКТИВИ/КОНСУМАТИВИ

Доставени материали

№	Съдържание	Единици на опаковка	Брой тестове на единица	Теста на опаковка
300300	NeuMoDx HCV Quant Test Strip Суши реактиви за RT-PCR, съдържащи специфични за HCV и SPC2 сонди TaqMan и праймери	6	16	96

Необходими, но непредоставени материали (предлагат се отделно от NeuMoDx)

№	Съдържание
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Сухи парамагнитни частици, литичен ензим и контроли за обработка на аликвотни части</i>
800200 или 800202	Калибратори NeuMoDx HCV Calibrator <i>Набори за еднократна употреба от високи и ниски калибратори за HCV за установяване на валидността на калибрационната крива</i>
900201 или 900202	Външни контроли NeuMoDx HCV External Control <i>Набори за еднократна употреба от положителни и отрицателни контроли за HCV</i>
400600	NeuMoDx Lysis Buffer 3
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton CO-RE/CO-RE II връхчета (300 µL) с филтри
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II връхчета (1000 µL) с филтри

Необходима апаратура

NeuMoDx 288 Molecular System [№ 500100] NeuMoDx 96 Molecular System [№ 500200]



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

- NeuMoDx HCV Quant Test Strip е само за *инвитро* диагностика с NeuMoDx Systems.
- Не използвайте реактивите и консумативите след посочения срок на годност.
- Не използвайте реактиви, ако защитният им печат е скъсан или опаковката е повредена при доставката им.
- Не използвайте консумативи или реактиви с отворен или повреден защитен плик при получаването.
- Трябва да има валидна калибрация на теста (генерирана от обработка на високи и ниски калибратори от калибратори NeuMoDx HCV Calibrator), преди да могат да се генерират резултати от тестовете за клинични аликвотни части.
- Външните контроли NeuMoDx HCV External Control трябва да се обработват на всеки 24 часа по време на тестването с NeuMoDx HCV Quant Assay.
- Минималният обем от пробата на вторичните аликвотни части зависи от размера на епруветката, носача за епруветки с проби и обработката на обемите от проби, както е описано по-долу. Обем, по-малък от посочения минимум, може да доведе до грешка „Quantity Not Sufficient“ (Недостатъчно количество).
- Употребата на проби, съхранявани при неподходящи температури или след указаните срокове за съхранение, може да даде невалидни или грешни резултати.
- Контаминация с микроорганизми и рибонуклеаза (РНКаза) на всички реактиви и консумативи трябва да се предотвратява във всеки един момент. Ако се използват вторични епруветки се препоръчва да се ползват стерилни преносни пипети, несъдържащи РНКаза. За всяка проба използвайте нова пипета.
- За да предотвратите замърсяване, не пипайте NeuMoDx Cartridge след амплификацията. В никакъв случай не изваждайте касетите NeuMoDx Cartridge от съда за биорискови отпадъци (NeuMoDx 288 Molecular System) или от кошчето за биорискови отпадъци (NeuMoDx 96 Molecular System). NeuMoDx Cartridge е конструирана за предотвратяване на замърсяване.
- В лабораториите, в които се извършват и тестове с PCR с отворени епруветки, трябва да се вземат мерки NeuMoDx HCV Quant Test Strip, допълнителните консумативи и реактиви, необходими за тестването, личните предпазни средства като ръкавиците и лабораторните престилки и NeuMoDx System да не се контаминират.
- Чисти ръкавици от нитрилен каучук без талк следва да се носят при боравенето с реактиви и консумативи за NeuMoDx. Трябва да се внимава да не се докосва горната повърхност на NeuMoDx Cartridge, повърхността на запечатващото фолио на NeuMoDx HCV Quant Test Strip и NeuMoDx Extraction Plate или горната повърхност на NeuMoDx Lysis Buffer 3; при боравенето с консумативите и реактивите може да се докосват само страничните повърхности.
- Информационни листове за безопасност (ИЛБ) са предоставени за всеки съответен реактив (ако е необходимо) на www.qiagen.com/neumodx-ifu
- След извършване на теста измивайте грижливо ръцете си.
- Не пипетирайте с уста. Не пушете, не пийте и не се хранете на места, на които се борави с проби или реактиви.

- С пробите винаги трябва да се борави като с инфекциозни и в съответствие с процедурите за безопасност в лабораторията като описаните в *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁸ и в документ M29-A4 на CLSI.⁹
- Изхвърляйте неизползваните реактиви и отпадъци в съответствие с националните, федералните, регионалните, държавните и местните разпоредби.
- Само за еднократна употреба.



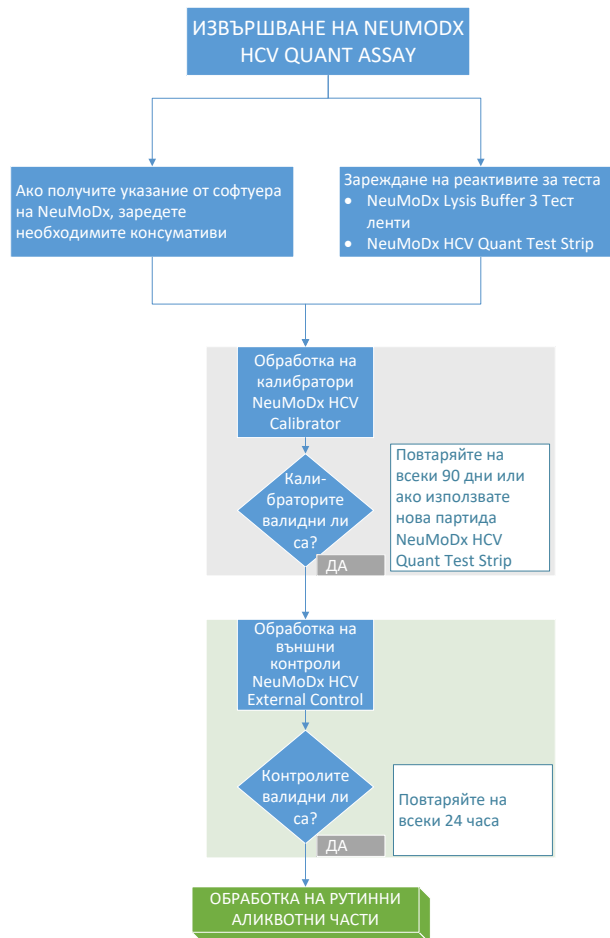
СЪХРАНЕНИЕ, БОРАВЕНЕ И СТАБИЛНОСТ НА ПРОДУКТИТЕ

- Тест-лентите NeuMoDx HCV Quant Test Strip са стабилни в първичната опаковка до посочения срок на годност на фабричния етикет на продукта, когато се съхраняват при температури от 4 до 28 °C.
- Не използвайте консумативи или реактиви след посочения срок на годност.
- Не използвайте за тестове продукт с видимо увредена първична или вторична опаковка.
- Не зареждайте отново продукт за тестове, който е бил зареден преди това в друга NeuMoDx System.
- След като бъде заредена, NeuMoDx HCV Quant Test Strip може да остане в NeuMoDx System до 14 дни. Оставащият срок на годност на заредените тест-ленти се проследява от софтуера и се съобщава на потребителя в реално време. Системата ще съобщи, когато трябва да се извади тест-лента, използвана по-дълго от допустимия срок.

ВЗЕМАНЕ, ПРЕНАСЯНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИ

1. С всички проби, калибратори и контроли трябва да се борави като с материал, който може да предава инфекциозни агенти.
2. Не замразявайте цяла кръв или проби, съхранявани в първични епруветки.
3. За да се подготвят проби от плазма, цялата кръв трябва да се взима в стерилни епруветки с EDTA или ACD като антикоагуланти или в епруветки за подготовка на плазма (PPT). Спазвайте инструкциите за подготовка и съхранение на производителя на епруветките за взимане на проби.
4. За да се подготвят проби от серум, цялата кръв трябва да се взима в епруветки за серум или в епруветки SST. Спазвайте инструкциите за подготовка и съхранение на производителя на епруветките за взимане на проби.
5. Пробите могат да се тестват в първични епруветки за вземане на проби или вторични епруветки за проби. Препоръки за тестване в първични епруветки:
 - a. Проби от плазма: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD #368589) или BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
 - b. Проби от серум: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD #367820) или BD Vacutainer SST™ Tube (BD #367988).
6. Подготвените проби могат да се съхраняват в NeuMoDx System до 8 часа преди обработка. Ако е необходимо повече време за съхранение, се препоръчва пробите да се поставят в хладилник или фризер като вторични аликвотни части.
7. Подготвените проби трябва да се съхраняват при температури 2 – 8 °C не повече от 7 дни преди тестването и максимум 8 часа при стайна температура.
8. Подготвените проби във вторичните епруветки може да се съхраняват при ≤ -20 °C до 24 седмици преди обработка; замразени проби не трябва да се подлагат на повече от два (2) цикъла замразяване/размразяване преди употреба.
 - a. Замразени проби от плазма, подложени на един (1) цикъл замразяване/размразяване, могат да бъдат съхранявани в системата още 8 часа.
 - b. Замразени проби от плазма, подложени на два (2) цикъла замразяване/размразяване, не трябва да бъдат съхранявани в системата повече от 4 часа.
 - c. Замразени проби от серум, подложени на един (1) или два (2) цикъла замразяване/размразяване, трябва да бъдат тествани веднага след размразяването.
 - d. Ако аликвотните части са замразени, ги оставете да се размразят напълно при стайна температура (15 – 30 °C); развъртете аликвотната част, за да се разпредели равномерно.
 - e. Замразяване на плазма/серум в първични епруветки за взимане на проби не е препоръчително.
9. Ако се налага транспортиране на проби, те трябва да бъдат опаковани и етикетирани в съответствие с действащите държавни и/или международни разпоредби.
10. Поставяйте ясни и четливи етикети на пробите, като посочите, че те са за тестване за HCV.
11. Преминете към раздел *Подготовка на теста*.

Общата процедура за извършването на NeuMoDx HCV Quant Assay е резюмирана по-долу на *Фигура 1*.



Фигура 1: Процедура за извършване на NeuMoDx HCV Quant Assay

ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

Подготовка на теста

NeuMoDx HCV Quant Assay може да се извършва директно от първични епруветки за взимане на кръв или аликвотни части от пробата във вторични епруветки. Обработката може да се извършва с една от двете процедури за обработка на обеми на проба – процедура за обработка на обем 550 μ L или процедура за обработка на обем 200 μ L.

1. Поставете етикета с баркода за пробата на епруветка за проби, съвместима с NeuMoDx System. Първичната епруветка за взимане на кръв може да се етикетира и постави директно в носача за епруветки с проби за 32 епруветки след centrifугиране съгласно указанията на производителя. Другият вариант е аликвотна част от плазма да се прехвърли във вторична епруветка за обработка в NeuMoDx System.
2. Ако тествате пробата в първичната епруветка за взимане на проба, поставете епруветката с баркода в носача за епруветки с проби и извадете запушалката преди зареждането в NeuMoDx System. Минималните обеми **над** левкоцитния слой са посочени по-долу и ще бъдат спазени, ако пробите се взимат и обработват според инструкциите на производителя на епруветката. Работните характеристики не се гарантирани при неправилно взети проби.

Вид епруветка	Минимален необходим обем проба	
	Процедура за обем 550 mL	Процедура за обем 200 mL
SST – 3,5 mL	1550 mL	1200 mL
PPT/SST – 5,0 mL	1800 mL	1450 mL
PPT/SST – 8,5 mL	2500 mL	2200 mL
K ₂ EDTA/серум – 4,0 mL	1050 mL	700 mL
K ₂ EDTA/серум – 6,0 mL	1250 mL	900 mL
K ₂ EDTA/серум – 10,0 mL	1600 mL	1250 mL

3. Ако използвате вторична епруветка:
- Развъртете внимателно пробата, за да се разпредели равномерно
 - Като използвате нова преносна пипета за всяка проба, прехвърлете аликвотна част от плазмата или серума в епруветката с баркода за пробата, съвместима с NeuMoDx System, като спазвате посочените по-долу обеми:

Носач за епруветки с проби	Размер на епруветката	Минимален необходим обем проба	
		Процедура за обем 550 mL	Процедура за обем 200 mL
32-Tube Specimen Tube Carrier (Носач за епруветки с проби за 32 епруветки)	11 – 14 mm диаметър на 60 – 120 mm височина	700 mL	400 mL
24-Tube Specimen Tube Carrier (Носач за епруветки с проби за 24 епруветки)	14,5 – 18 mm диаметър на 60 – 120 mm височина	1100 mL	800 mL
Low Volume Specimen Tube Carrier (Носач за епруветки с проби с малък обем)	1,5-mL епруветка с конично дъно за микроцентрифуга	650 mL	300 mL

- Трябва да се внимава да не се прехвърлят съсиреци от аликвотната част в епруветката за проба.

Работа с NeuMoDx System

Подробни указания ще намерите в Ръководствата за оператора на NeuMoDx 288 и 96 Molecular System (ном. № 40600108 и 40600317)

- Заредете заявката за теста на NeuMoDx System според процедурата за желания обем от пробата и типа на епруветката за проби.
 - 550 µL обем от пробата се тества, ако видът на пробата е дефиниран като „Plasma“ (Плазма) или „Serum“ (Серум)
 - 200 µL обем от пробата се тества, ако видът на пробата е дефиниран като „Plasma2“ (Плазма 2) или „Serum2“ (Серум 2)
 - Ако не е дефиниран в заявката за теста, по подразбиране ще се използва вид проба Plasma (Плазма) в Secondary Tube (Вторична епруветка).
- Заредете един или повече носачи на NeuMoDx System Test Strip с NeuMoDx HCV Quant Test Strip и използвайте сензорния екран, за да заредите носачите с тест-лентите в NeuMoDx System.
- Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, добавете необходимите консумативи в носачите за консумативи на NeuMoDx System и използвайте сензорния екран, за да заредите носачите в NeuMoDx System.
- Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, сменете NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, изпразнете бутилката с отпадъци от запълването, съда за биорискови отпадъци (само за система NeuMoDx 288 Molecular System), кошчето за отпадъци от връхчета (само за NeuMoDx 96 Molecular System) или кошчето за биорискови отпадъци (само за NeuMoDx 96 Molecular System), ако е необходимо.
- Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, обработете калибратори NeuMoDx HCV Calibrator и/или външни контроли NeuMoDx HCV External Control. Допълнителна информация за калибраторите и контролите може да намерите в раздела *Обработка на резултатите*.
- Заредете епруветките за проби/калибратори/контроли в носач за епруветки с проби и извадете запушалките от всички епруветки.
- Поставете носача за епруветки с проби на полицата на автоматичното зареждащо устройство и използвайте сензорния екран, за да заредите носача(ите) в NeuMoDx System. Това ще стартира обработката на заредените проби за посочените тестове, стига в системата да има валидна заявка за теста.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. NeuMoDx HCV Quant Test Strip може да се използва само на системи NeuMoDx System.
2. Работните характеристики на NeuMoDx HCV Quant Test Strip са установени за проби от плазма, подготвени с EDTA/ACD като антикоагуланти, или проби от серум, подготвени в епруветки със серумен сепаратор. Употребата на NeuMoDx HCV Quant Test Strip с други източници не е проверена и работните характеристики не са известни за други видове проби.
3. Работните характеристики на NeuMoDx HCV Quant Test Strip са установени за тестване с първични епруветки BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tube, BD PPT Plasma Preparation Tube, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube и BD SST Tube.
4. Боравенето с проби извън условията за съхранение може да окаже отрицателно влияние върху количествената точност на NeuMoDx HCV Quant Assay, но е по-малко вероятно да окаже влияние върху процента на обявяване на качествените резултати (Positive (положителен)/Negative (отрицателен)).
5. Съхраняването на проби от серум в системата след продължително съхранение в замразено състояние и подлагане на два цикъла замразяване-размразяване без незабавно тестване може да окаже отрицателно влияние върху количествената точност на NeuMoDx HCV Quant Assay.
6. Леко повишаване на границата на откриване и долната граница на количествено определяне на NeuMoDx HCV Quant Assay е наблюдавано при използване на процедура за 200 µL обем от пробата.
7. NeuMoDx HCV Quant Assay не трябва да се използва с алиquotни части от хепаринизирани човешки проби.
8. Тъй като откриването на HCV зависи от броя на вирусните частици с прицелната РНК в алиquotната част, надеждните резултати зависят от правилното взимане, боравене и съхранение на пробите.
9. Калибраторите NeuMoDx HCV Calibrator и външните контроли NeuMoDx HCV External Control трябва да се обработват съгласно препоръките в листовките в опаковките при получаване на съответното указание от софтуера на NeuMoDx System преди обработката на рутинни клинични алиquotни части.
10. Грешни резултати от тестовете могат да се получат от неправилно взимане, боравене и съхранение на проби, техническа грешка или объркване на епруветки с проби. Освен това грешни отрицателни резултати могат да се получат, защото броят на вирусните частици в алиquotната част е под границата на откриването на NeuMoDx HCV Quant Assay.
11. С NeuMoDx System може да работи само персонал, обучен в употребата на NeuMoDx System.
12. Ако не се амплифицират прицелните нуклеинови киселини както за HCV, така и за SPC2, ще бъде съобщен невалиден резултат (Indeterminate (неопределен), No Result (няма резултат) или Unresolved (неполучен)) и тестът трябва да се повтори.
13. Ако резултатът от NeuMoDx HCV Quant Assay е Positive (положителен), но стойността на количественото определяне е извън границите, NeuMoDx System ще съобщи дали откритият HCV е *под* долната граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ), или *над* горната граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
14. В случай че откритият HCV е *под* LLoQ, NeuMoDx HCV Quant Assay може да се повтори (ако е желателно) с друга алиquotна част от пробата.
15. В случай че откритият HCV е *над* ULoQ, NeuMoDx HCV Quant Assay трябва да се повтори с разрежена алиquotна част от първоначалната проба. Препоръчителното разреждане е 1:100 или 1:1000 в HCV-отрицателна плазма или Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Концентрацията на първоначалната проба се изчислява по следния начин:
$$\text{концентрацията на първоначалната проба} = \text{Log}_{10} (\text{фактора на разреждане}) + \text{съобщената концентрация на разредената алиquotна част}$$
16. Инцидентното наличие на инхибитори на PCR в плазмата и серума може да доведе до грешка в количественото определяне на системата. В този случай се препоръчва тестът да се повтори със същата проба, разрежена в Basematrix при съотношение 1:10 или 1:100.
17. Положителен резултат не означава непременно наличие на жизнеспособни организми. Положителен резултат обаче показва вероятно наличие на РНК на вируса на хепатит С.
18. Делеция или мутации в прицелните консервирани региони за NeuMoDx HCV Quant Assay могат да повлияят на откриването или да доведат до грешен резултат с NeuMoDx HCV Quant Test Strip.
19. Резултатите от NeuMoDx HCV Quant Assay трябва да се използват в допълнение към клиничните наблюдения и останалата информация, с която лекарят разполага; тестът не е предвиден за диагностика на инфекция.
20. За да се предотврати замърсяване, се препоръчва спазване на добрата лабораторна практика, включително смяната на ръкавиците преди боравене с проба от пациент.

ОБРАБОТКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Достъпните резултати може да се разглеждат и отпечатват от раздела „Results“ (Резултати) в прозореца „Results“ (Резултати) на сензорния екран на NeuMoDx System. Резултатите от NeuMoDx HCV Quant Assay се генерират автоматично от софтуера на NeuMoDx System с алгоритъм за взимане на решение и параметри за обработка на резултатите, посочени в NeuMoDx HCV Assay Definition File (HCV ADF). Един резултат може да бъде съобщен като Negative (Отрицателен), Positive (Положителен) със съобщена концентрация на HCV, Positive (Положителен) над ULoQ, Positive (Положителен) под LLoQ, Indeterminate (Неопределен) (IND), Unresolved (Неполучен) (UNR) или No Result (Няма резултат) (NR) в зависимост от състоянието на амплификацията на прицелната нуклеинова киселина и контролата за обработка на аликвотните части. Резултати се съобщават според алгоритъма за взимане на решение във файла с дефиниция за анализа (Assay Definition File, ADF), резюмиран в Таблица 1 по-долу.

Таблица 1. Резюме на алгоритъма за взимане на решение на NeuMoDx HCV Quant Assay

РЕЗУЛТАТ	Прицелна нуклеинова киселина на HCV	Контрола за обработката на аликвотни части (Sample Process Control, SPC2)	Интерпретация на резултатите
Positive (Положителен) със съобщена концентрация	Amplified (Има амплификация) $0,9 \leq [HCV] \leq 8,2 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ (процедура 550 μL) $1,5 \leq [HCV] \leq 8,2 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ (процедура 200 μL)	Amplified (Има амплификация) или Not Amplified (Няма амплификация)	HCV RNA detected within quantitative range (PHK на HCV е открита в количествения диапазон)
Positive (Положителен), над ULoQ	Amplified (Има амплификация) [HCV] > 8,2 $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$	Amplified (Има амплификация) или Not Amplified (Няма амплификация)	HCV RNA detected above quantitative range (PHK на HCV е открита над количествения диапазон)
Positive (Положителен), под LLoQ	Amplified (Има амплификация) [HCV] < 0,9 $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ (процедура 550 μL) [HCV] < 1,5 $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ (процедура 200 μL)	Amplified (Има амплификация) или Not Amplified (Няма амплификация)	HCV RNA detected below quantitative range (PHK на HCV е открита под количествения диапазон)
Negative (Отрицателен)	Not Amplified (Няма амплификация)	Amplified (Има амплификация)	HCV RNA not detected (Не е открита PHK на HCV)
Indeterminate (Неопределен)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Няма амплификация, Установена е грешка в системата, Обработката на аликвотни части е приключена)		All target results were invalid; retest sample (Всички резултати за прицелната нуклеинова киселина са невалидни; тествайте аликвотната част отново)†
No Result (Няма резултат)*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Няма амплификация, Установена е грешка в системата, Обработката на аликвотни части е прекратена)		Sample processing was aborted; retest sample (Обработката на аликвотните части е прекратена; тествайте аликвотната част отново)†
Unresolved (Неполучен)	Not Amplified, No System Error Detected (Няма амплификация, Не е установена грешка в системата)		All target results were invalid; retest sample (Всички резултати за прицелната нуклеинова киселина са невалидни; тествайте аликвотната част отново)†

* Флаг No Result (Няма резултат) се съобщава само при софтуер на NeuMoDx System с версия от 1.8 нагоре.

† NeuMoDx System има възможност за автоматично изпълнение на Rerun (Повторна обработка)/Repeat (Повторение), която крайният потребител може да избере, за да бъде сигурно, че при IND (Неопределен)/UNR (Неполучен)/NR (Няма резултат) автоматично ще се извърши повторна обработка за минимално забавяне на съобщаването на резултатите.

Изчисляване на теста

1. За аликвотни части в рамките на диапазона на количествено определяне на NeuMoDx HCV Quant Assay концентрацията на PHK на HCV в аликвотните части се изчислява със съхранената стандартна крива заедно с коефициента на калибрация и обема на пробата.
 - a. Коефициент на калибрация се изчислява в зависимост от резултатите от обработката на калибратори NeuMoDx HCV Calibrator, за да се установи валидността на стандартната крива за конкретна партида NeuMoDx HCV Quant Test Strip на дадена NeuMoDx System.
 - b. Коефициентът на калибрация се включва в окончателното определяне на концентрацията на PHK на HCV.

- c. Софтуерът на NeuMoDx отчита входния обем от пробата при определянето на концентрацията на РНК на HCV на един mL проба.
2. Резултатите от NeuMoDx HCV Quant Assay се съобщават в Log₁₀ IU/mL.
3. Полученото количествено определяне на неизвестните аликвотни части е проследимо по 5^{-th} Международен стандарт за HCV на Световната здравна организация (СЗО).

Калибрация на теста

Валидна калибрация според стандартната крива е необходима за количественото определяне на РНК на HCV в пробите. За генерирането на валидни резултати трябва да се извърши калибрация на теста с външни калибратори, предоставени от NeuMoDx Molecular, Inc.

Калибратори

1. Калибраторите Набор NeuMoDx HCV Calibrator трябва да се обработят с всяка нова партида тест-ленти NeuMoDx HCV Quant Test Strip при зареждане на нов файл с дефиниция за анализа (HCV Assay Definition File) в NeuMoDx System, ако текущият набор калибратори е с изтекъл срок на валидност (за момента – 90 дни) или ако софтуерът на NeuMoDx System бъде променен.
2. Софтуерът на NeuMoDx System ще уведоми потребителя кога трябва да се обработят калибраторите. Нова партида тест-ленти не може да се използва за тестването, докато калибраторите не бъдат успешно обработени.
3. Валидността на калибрацията се установява по следния начин:
 - a) Набор от два калибратора – един (1) висок и един (1) нисък – трябва да се обработи, за да се установи валидността.
 - b) Поне два (2) от трите (3) репликата трябва да дадат резултати в рамките на предварително дефинирани параметри. Номиналната прицелна стойност на нисък калибратор е 3 Log₁₀ IU/mL, а тази на висок калибратор – 5 Log₁₀ IU/mL.
 - c) Изчислява се коефициент на калибрация за отчитане на очакваната вариация между партидите тест-ленти. Този коефициент на калибрация се използва при определянето на окончателната концентрация на HCV.
4. Ако единият или и двата калибратора не издържат проверката за валидност, обработката на неиздържалите проверката калибратори трябва да се повтори с ново шише. В случай че единият калибратор не издържи проверката за валидност, може да се повтори само неиздържалият калибратор – системата не изисква от потребителя да обработва повторно и двата калибратора.
5. Ако калибраторите не издържат проверката за валидност за пореден път, се обърнете към NeuMoDx Molecular, Inc.

Контрол на качеството

В местните разпоредби обикновено се посочва, че лабораторията отговаря за процедурите за вътрешен качествен контрол, чрез които се следи точността и прецизността на цялостния аналитичен процес, и трябва да установи броя, вида и честотата на тестването на контролните материали с проверени спецификации за работни характеристики за немодифицирана одобрена тестова система.

Външни контроли

1. Положителни и отрицателни външни контроли трябва да се обработват на всеки 24 часа по време на тестването с NeuMoDx HCV Quant Assay. Ако няма резултати от набор валидни външни контроли, софтуерът на NeuMoDx System ще уведоми потребителя, че контролите трябва да се обработят, преди да могат да се съобщават резултати за аликвотните части.
2. Валидността на външните контроли ще бъде оценена от NeuMoDx System според очаквания резултат. Положителната контрола трябва да даде положителен резултат за HCV, а отрицателната контрола трябва да даде отрицателен резултат за HCV.
3. Обработката на несъответстващи резултати за външни контроли трябва да се извърши по следния начин:
 - a) Positive (Положителен) резултат от теста, съобщен за аликвотна част с отрицателна контрола, означава проблем с контаминация на пробата.
 - b) Negative (отрицателен) резултат от теста, съобщен за аликвотна част с положителна контрола, може да означава проблем с реактив или апарата.
 - c) Във всеки от описаните по-горе случаи или ако резултатът е Indeterminate (Неопределен) (IND) или No Result (Няма резултат) (NR), повторете обработката на външни контроли NeuMoDx HCV External Control с пресни шишета от контролата(ите), които не са издържали проверката за валидност.
 - d) Ако положителен NeuMoDx HCV External Control продължава да дава Negative (Отрицателен) резултат, се обърнете към отдела за техническо обслужване на NeuMoDx.
 - e) Ако отрицателна външна контрола NeuMoDx HCV External Control продължава да дава Positive (Положителен) резултат, се опитайте да отстраните всички потенциални източници на замърсяване, включително като смените всички реактиви, преди да се обърнете към отдела за техническо обслужване на NeuMoDx.

Контроли (вътрешни) за обработката на аликвотните части

Екзогенен контрол за обработката на аликвотните части (Sample Process Control, SPC2) е включен в NeuMoDx Extraction Plate и преминава по целия процес за извличане и амплификация на нуклеинови киселини с RT-PCR в реално време с всяка аликвотна част. Праймери и сонда, специфични за SPC2, също са включени във всяка NeuMoDx HCV Quant Test Strip и позволяват откриване на наличие на SPC2 заедно с прицелната РНК на HCV (ако има) чрез мултиплексна RT-real-time PCR. Откриването на амплификация на SPC2 позволява на софтуера на NeuMoDx System да следи ефективността на процедурите за извличане и амплификация с RT-PCR на РНК.

Невалидни резултати

Ако NeuMoDx HCV Quant Assay, извършен на NeuMoDx System, не даде валиден резултат след приключването на обработката на алиquotните части, резултатът ще се съобщи като Indeterminate (Неопределен) (IND), No Result (Няма резултат) (NR) или Unresolved (Неполучен) (UNR) според вида на възникналата грешка.

Резултат IND ще се съобщи, ако бъде установена грешка в NeuMoDx System по време на обработката на алиquotната част. Ако бъде съобщен резултат IND, се препоръчва повторно тестване.

Резултат UNR ще се съобщи, ако не бъде открита валидна амплификация на РНК на HCV или SPC2 при липса на грешки в системата, което означава евентуален проблем в реактивите или наличие на инхибитори. Ако бъде съобщен резултат UNR, повторното тестване е препоръчителната първа стъпка. Ако и повторното тестване е неуспешно, разредена проба може да се използва за смекчаване на ефектите от евентуално инхибиране на алиquotната част.

Ако NeuMoDx HCV Quant Assay, извършен на NeuMoDx System, не даде валиден резултат и обработката на алиquotни части бъде прекратена преждевременно, резултатът ще се съобщи като No Result (Няма резултат) (NR). Ако бъде съобщен резултат NR, се препоръчва повторно тестване.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитична чувствителност – граница на откриването по стандарта на СЗО

Аналитичната чувствителност на NeuMoDx HCV Quant Assay е характеризирана с тестване на отрицателни проби и серия разреждания по 5^{-ия} Международен стандарт на СЗО (генотип 1) в подбрани отрицателни човешки плазма и серум за определяне на границата на откриване (Limit of Detection, LoD) на системи NeuMoDx System. LoD се дефинира като най-ниското прицелно ниво, откривано в 95% от случаите по анализ тип Probit. Проучването е извършено в продължение на 3 дни с различни системи с различни партиди реактиви NeuMoDx. Всяка система (N288 и N96) обработва по 18 репликата на ден при всяко ниво на разреждане. Процентите на откриване са представени в Таблица 2. Извършено е допълнително проучване за определяне на LoD на NeuMoDx HCV Quant Assay, когато се използва процедурата за 200 µL обем от пробата, като резултатите от проучването са показани в Таблица 3.

Таблица 2. Проценти на откриване на положителен резултат за определяне на LoD на NeuMoDx HCV Quant Assay – процедура за 550 µL

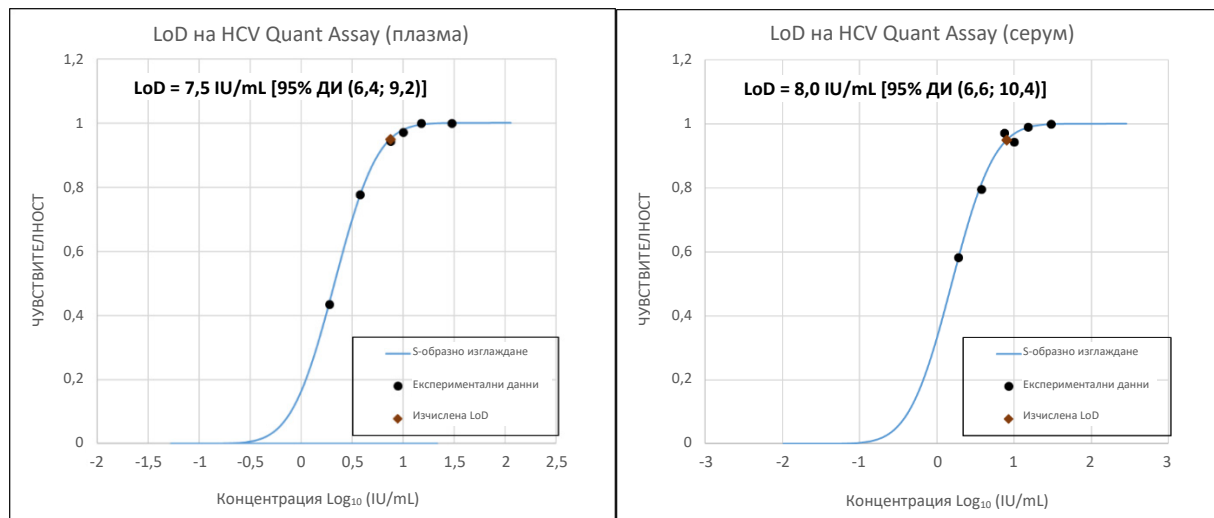
Прицелна концентрация [IU/mL]	Прицелна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	ПЛАЗМА			СЕРУМ		
		Брой валидни тестове	Брой положителни	Процент откриване	Брой валидни тестове	Брой положителни	Процент откриване
30	1,48	108	108	100%	108	108	100%
15	1,18	108	108	100%	108	107	99%
10	1,00	108	105	97%	108	102	94%
7,5	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 (Отр.)	0	108	0	0%	107	1	0,93%

Таблица 3. Проценти на откриване на положителен резултат за определяне на LoD на NeuMoDx HCV Quant Assay – процедура за 200 µL

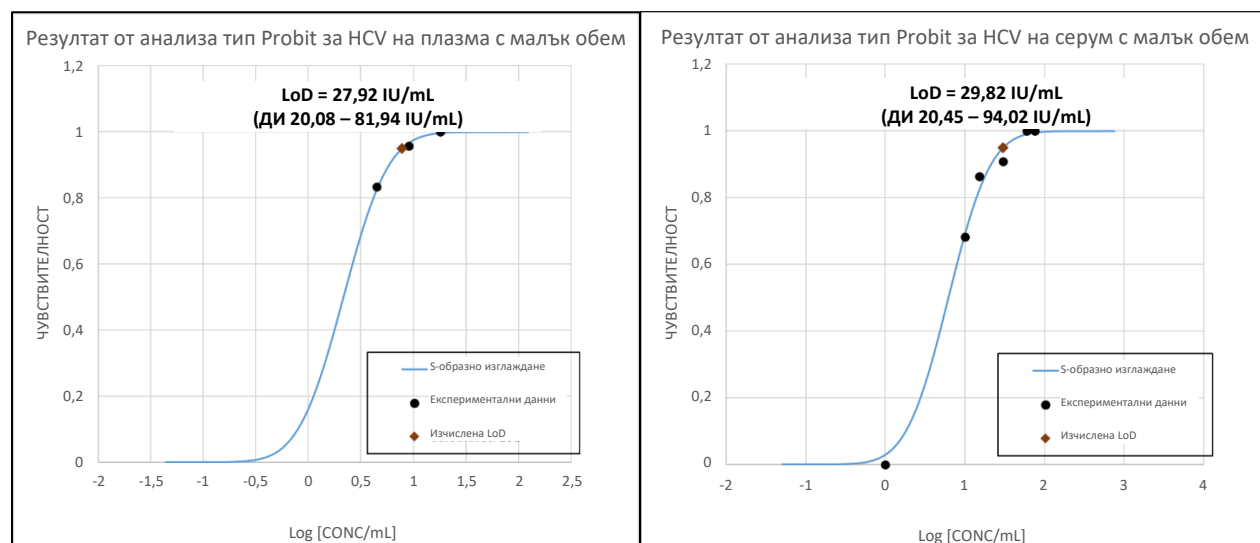
Прицелна концентрация [IU/mL]	Прицелна концентрация [og ₁₀ IU/mL]	ПЛАЗМА			СЕРУМ		
		Брой валидни тестове	Брой положителни	Процент откриване	Брой валидни тестове	Брой положителни	Процент откриване
75	1,88	N/A (Не е приложимо)	N/A (Не е приложимо)	N/A (Не е приложимо)	22	22	100%
60	1,78	22	22	100%	22	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 (Отр.)	0	22	0	0%	22	0	0%

LoD на NeuMoDx HCV Quant Assay при плазма за всички генотипове е определена като 7,5 IU/mL (95% ДИ от 6,4 до 9,2 IU/mL) [(0,9 Log₁₀ IU/mL) (95% ДИ 0,8 до 1,0 Log₁₀ IU/mL)] при тестване на NeuMoDx 288 Molecular System с процедурата за 550 µL обем от пробата (Фигура 2). LoD на NeuMoDx HCV Quant Assay за проби от серум е определена като 8,0 IU/mL (95% ДИ 6,6 – 10,4 IU/mL) [(0,9 Log₁₀ IU/mL) (95% ДИ 0,8 – 1,0 Log₁₀ IU/mL)] с процедурата за 550 µL обем от пробата (Фигура 2); обявената стойност на LoD и за двата вида проби с процедурата за обработка на 550 µL обем от пробата е **8,0 IU/mL (0,9 Log₁₀ IU/mL)**.

LoD на анализа NeuMoDx HCV Quant Assay с процедурата за 200 µL обем от пробата е определена като 27,9 IU/mL (95% ДИ 20,1 – 81,9) за проби от плазма и 29,8 IU/mL (95% ДИ 20,5 – 94,0) за проби от серум (Фигура 3); обявената стойност на LoD и за двата вида проби с процедурата за обработка на 200 µL обем от пробата е **30,0 IU/mL (1,5 Log₁₀ IU/mL)**.



Фигура 2: Анализ тип Probit, използван за определяне на LoD на NeuMoDx HCV Quant Assay, плазма (вляво) и серум (вдясно) – процедура за 550 µL



Фигура 3: Анализ тип Probit, използван за определяне на LoD на NeuMoDx HCV Quant Assay, плазма (вляво) и серум (вдясно) – процедура за 200 µL

Аналитична чувствителност – граница на количествено определяне – долна граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) по стандарта на СЗО

Долната граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) се дефинира като най-ниското прицелно ниво, при което се постига > 95% откриване и TAE ≤ 1,0. За да се определи LLoQ, общата аналитична грешка (Total Analytical Error, TAE) е изчислена за всяко от прицелните нива на HCV, при което се съобщава > 95% откриване, като част от изчислението на LoD. TAE се дефинира по следния начин:

$$TAE = \text{отклонение} + 2 \times SD \quad [\text{статистика на Westgard}]$$

Отклонението е абсолютната стойност на разликата между средната изчислена концентрация и очакваната концентрация. SD е стандартното отклонение на количествено определената стойност на алиquotната част.

Съвкупните резултати за 6 нива на проби от плазма и серум с HCV, тествани в проучването за LLoQ с генотип 1, с процедурата за 550 µL обем от пробата, са представени в Таблица 4. Резултатите от допълнителното проучване с процедурата за 200 µL обем от пробата са представени в Таблица 5.

Таблица 4. LLoQ на NeuMoDx HCV Quant Assay, с отклонението и TAE – процедура за 550 µL

Прицелна концентрация [IU/mL]	Прицелна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Плазма					Серум				
		Средна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Откриване (%)	SD	Отклонение	TAE	Средна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Откриване (%)	SD	Отклонение	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

Таблица 5. LLoQ на NeuMoDx HCV Quant Assay, с отклонението и TAE – процедура за 200 µL

Прицелна концентрация [IU/mL]	Прицелна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Плазма					Серум				
		Средна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Откриване (%)	SD	Отклонение	TAE	Средна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Откриване (%)	SD	Отклонение	TAE
75	1,88	N/A (Не е приложимо)	N/A (Не е приложимо)	N/A (Не е приложимо)	N/A (Не е приложимо)	N/A (Не е приложимо)	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

Определената LLoQ за NeuMoDx HCV Quant Assay е 7,7 IU/mL (0,9 Log₁₀ IU/mL) за плазма и 8,4 IU/mL (0,9 Log₁₀ IU/mL) за серум с процедурата за 550 µL обем от пробата; определената LLoQ както за плазма, така и за серум е **8,4 IU/mL (0,9 Log₁₀ IU/mL)** с процедурата за 550 µL обем от пробата.

Определената LLoQ за NeuMoDx HCV Quant Assay по стандарта на СЗО е 30,0 IU/mL (1,5 Log₁₀ IU/mL) за плазма и 29,8 IU/mL (1,37 Log₁₀ IU/mL) за серум с процедурата за 200 µL обем от пробата; определената LLoQ както за плазма, така и за серум е **30,0 IU/mL (0,9 Log₁₀ IU/mL)** с процедурата за 200 µL обем от пробата.

Аналитична чувствителност – LoD и LLoQ за всички генотипове на HCV

LoD е първоначално установена за генотип 1 (5⁻⁴ Международен стандарт на СЗО) и след това е извършено допълнително тестване около установената LoD с всеки от останалите 5 генотипа. Тридесет и шест (36) репликата при нива, съответстващи на 2X, 1X и 0,5X горната граница на LoD в 95% ДИ, са тествани с NeuMoDx HCV Quant Assay за плазма, с използване на процедурата за 550 µL обем от пробата. Процентът на положителните резултати за всеки генотип при всяко от тези тествани нива е нанесен в таблица и използван за изчисляването на LoD с анализ тип Probit.

Общата аналитична грешка при тези тествани нива също е изчислена. Най-ниското ниво с 95% откриване на положителни резултати и изчислена TAE ≤ 1,0 отново се счита за LLoQ за генотипа. Тези резултати потвърждават отличните работни характеристики на NeuMoDx HCV Quant Assay при откриване, равностойни за всичките шест генотипове в диапазона 4,5 – 7,5 IU/mL, което се потвърждава и от резултатите, получени по 5⁻⁴ Международен стандарт на СЗО (генотип 1). Като цяло LoD на NeuMoDx HCV Quant Assay за всички генотипове е определена като 7,5 IU/mL (0,88 Log₁₀ IU/mL), а LLoQ е определена като максимална стойност 7,7 IU/mL (0,9 Log₁₀ IU/mL) според съобщеното за тестването по 5⁻⁴ Международен стандарт на СЗО (генотип 1, по-горе). В Таблица 6 са представени получените резултати за LoD и LLoQ от тестването за генотиповете на HCV при плазма.

Таблица 6. Генотипове HCV изпитани в плазма с използване на процедура за 550 µL обем от проба

Генотип	LoD [IU/mL]	LLoQ [IU/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

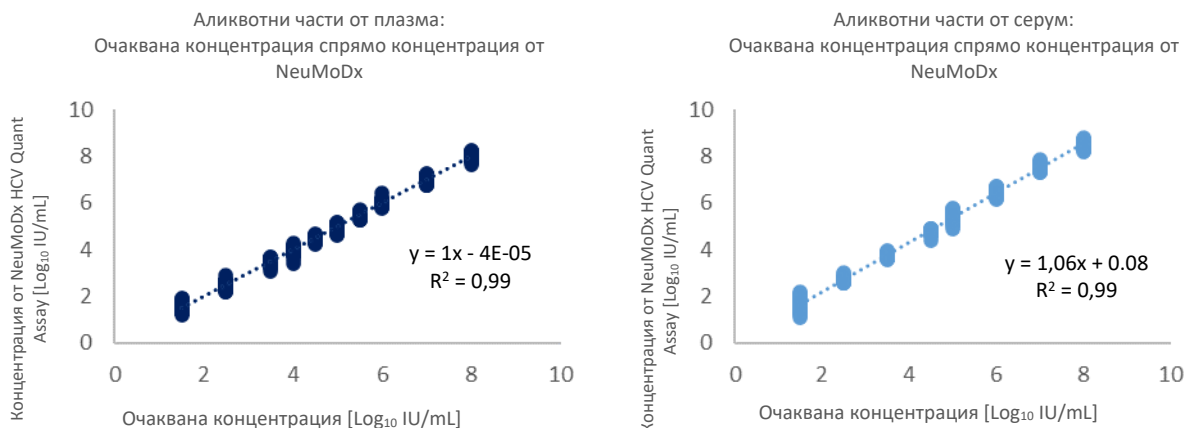
Въз основа на резултата от посочените по-горе изследвания, NeuMoDx обявява LoD за **8,0 IU/mL (0,9 Log₁₀ IU/mL)**, а LLoQ – за **8,4 IU/mL (0,9 Log₁₀ IU/mL)** за количествения анализ NeuMoDx HCV Quant Assay в **плазма и серум** с **процедурата за 550 µL обем от пробата**.

Обявената стойност на LoD и LLoQ за NeuMoDx HCV Quant Assay и при **двата вида проби (плазма и серум)** с **процедурата за 550 µL обем от пробата е 30,0 IU/mL (1,5 Log₁₀ IU/mL)**.

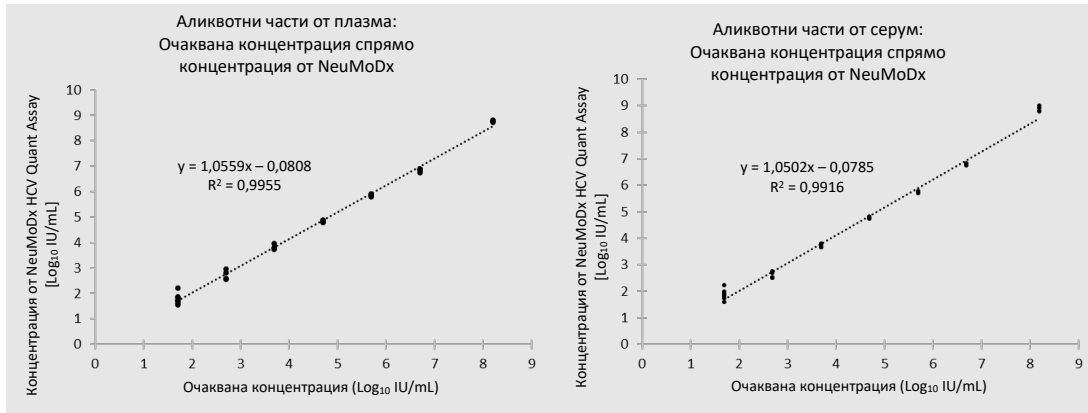
Аналитична чувствителност – линейност и определяне на горна граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)

Линейността и горната граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) на NeuMoDx HCV Quant Assay са установени при плазма с подготовка на серия разреждания с HCV Armored RNA® (Asuragen Inc., Austin, TX) и AcroMetrix™ High Control HCV (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) с установена проследимост по 5^{-^{PM}} Международен стандарт на СЗО. Панел от 11 елемента е подготвен в групирана отрицателна за HCV плазма, за да се обхване диапазон на концентрацията 8,2 – 1,5 Log₁₀ IU/mL. NeuMoDx HCV Quant Assay демонстрира способност за количествено определяне на HCV в целия линеен диапазон 8 Log₁₀ IU/mL с точност ±0,3 Log₁₀ IU/mL според стандартната грешка, изчислена от 95%-ния доверителен интервал. Няма съществени ползи при регресионно изглаждане от 2^{-^{PM}} и 3^{-^{PM}} ред. ULoQ при плазма е определена като 8,2 Log₁₀ IU/mL. Последващо проучване е извършено за демонстриране на равностойността на матриците, като анализът сравнява количествените резултати от NeuMoDx HCV за аликвотни части, подготвени с плазма и серум, с два различни модела на регресионно изглаждане – инструментът за регресия в MS Excel и Пасинг-Баблок. Резултатите показват силна корелация със стойности на слоуп и интерсепт, много близки до 1,00 и 0,00, съответно, и стойност R² 0,99 (инструмент за регресия в MS Excel) или стойност ρ 0,600 (Passing-Bablok). Концентрациите от анализа за HCV, съобщени от NeuMoDx System, в сравнение с очакваните стойности са представени на *Фигура 4*.

Линейността и ULoQ след това са проверени с процедурата за 200 µL обем от пробата. Извършени са сравнения за равностойност между концентрациите, съобщени от софтуера NeuMoDx за процедурите за 200 µL и 550 µL. Регресионният анализ по Deming и по Passing-Bablok показва отлична корелация и слоуп близо до 1 и минимални интерсепти (отклонение) на съобщените концентрации за двете аликвотни части – от плазма и серум – в целия линеен диапазон. Сравнение по Bland-Altman на съобщената концентрация за процедурата за 200 µL обем от пробата спрямо средната съобщена концентрация за двете процедури – за 200 µL и 550 µL обем от пробата – показва минимално отклонение, придаващо точност на алгоритъма, използван за генерирането на резултатите от процедурата за 200 µL. Освен това, проста линейна регресия, сравняваща очакваната спрямо съобщената концентрация за процедурата за 200 µL, дава слоуп близо до 1, демонстриращ отлична корелация (*Фигура 5*). Взети заедно, тези сравнения демонстрират точно количествено определяне на HCV в целия линеен диапазон на NeuMoDx HCV Quant Assay с процедурата за 200 µL обем от пробата.



Фигура 4: Линеен диапазон на NeuMoDx HCV Quant Assay при плазма (вляво) и серум (вдясно) – процедура за 550 µL



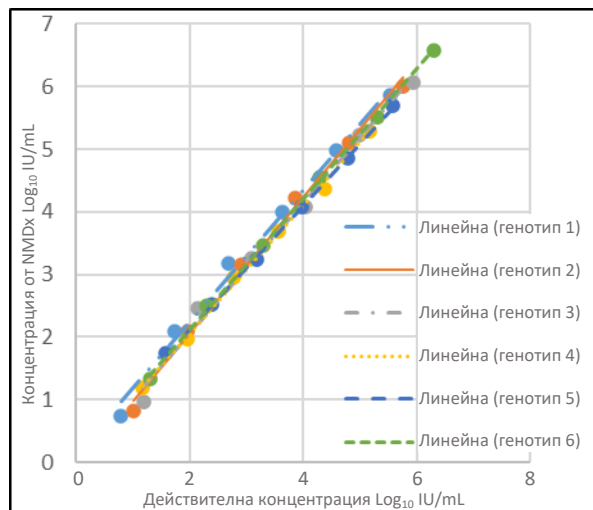
Фигура 5: Линеен диапазон на NeuMoDx HCV Quant Assay при плазма (вляво) и серум (вдясно) – процедура за 200 µL

Аналитична чувствителност – линейност по всички генотипове

Линейността на NeuMoDx HCV Quant Assay по шест генотипа на HCV е характеризирана с тестване на поне четири (4) различни концентрации от всеки генотип на HCV, подготвени в групирана HCV-отрицателна плазма. Тестваните в това проучване нива на прицелната нуклеинова киселина на HCV зависят от концентрацията на изходната проба и затова се различават при различните генотипове. Проучването е извършено с всеки генотип с 6 репликата при всяко ниво. Линейността за шестте генотипа на HCV е представена в Таблица 7 и Фигура 6.

Таблица 7. Линейност на NeuMoDx HCV Quant Assay по всички генотипове

Генотип	Уравнение за линейност y = количественото определяне от NeuMoDx HCV Assay x = очакваното количествено определяне	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



Фигура 6: Линейност на NeuMoDx HCV Quant Assay по всички генотипове

Аналитична специфичност – кръстосана реактивност

Аналитичната специфичност е демонстрирана със скрининг на 33 организма, често срещани в проби от кръв/плазма, както и видове, филогенетично сходни с HCV, за кръстосана реактивност. Организмите са подготвени в групи по 4 – 6 организма и са тествани при висока концентрация. Тестваните организми са дадени в *Таблица 8*. Не се наблюдава кръстосана реактивност с нито един от тестваните организми, което потвърждава 100% аналитична специфичност на NeuMoDx HCV Quant Assay.

Таблица 8. Патогени, използвани за демонстриране на аналитична специфичност

Неприцелни организми						
Аденовирус 2	Денге V1	Хепатит А	Човешки имунодефицитен вирус 2	Човешки Т-лимфотропен вирус 1	Propionibacterium acnes	Вирус „Западен Нил“
Аденовирус 5	Денге V2	Хепатит В	Човешки папиломавирус 16	Човешки Т-лимфотропен вирус 2	Рубеола	Жълта треска
Candida albicans	Денге V3	Вирус херпес симплекс (HSV) 1	Човешки папиломавирус 18	Грипен вирус А	Енцефалит Сейнт Луис	Вирус Зика
Chlamydia trachomatis	Денге V4	Вирус херпес симплекс (HSV) 2	Човешки вирус херпес 6b	Neisseria gonorrhoeae	Staphylococcus aureus	
Цитомегаловирус	Вирус на Epstein-Barr	Човешки имунодефицитен вирус-1	Човешки вирус херпес 8	Парвовирус В19	Staphylococcus epidermidis	

Аналитична специфичност – интерфериращи вещества, коменсални организми

NeuMoDx HCV Quant Assay е проверен за интерференция в присъствието на неприцелни организми със същите групи организми като подготвените за тестването на кръстосаната реактивност, изброени по-горе в *Таблица 8*. В отрицателна за HCV плазма са добавени организмите, групирани по 4 – 6, и също така е добавена положителна контрола за HCV при концентрация 1,4 Log₁₀ IU/mL. Не се наблюдава съществена интерференция в присъствието на тези коменсални организми, за което свидетелства минималното отклонение на количественото определяне от контролните проби, които не съдържат интерфериращ агент.

Аналитична специфичност – интерфериращи вещества, ендогенни и екзогенни вещества

NeuMoDx HCV Quant Assay е проверен в присъствието на типични екзогенни и ендогенни интерфериращи вещества, срещани в клинични проби от плазма с HCV. Те включват абнормно високи нива на кръвни компоненти, както и обичайни антивирусни лекарства, класифицирани в *Таблица 9*. Всяко вещество е добавено към подбрана отрицателна за HCV човешка плазма с добавени 1,7 Log₁₀ IU/mL HCV и аликвотните части са анализирани за интерференция. Освен това плазма от обичайно болестно състояние, свързано с инфекция с хепатит С, също е тествана за потенциална интерференция. Средната концентрация и отклонение на всички тествани вещества са дадени в *Таблица 10*. Нито едно от екзогенните и ендогенните вещества не се отразява на специфичността на NeuMoDx HCV Quant Assay.

Таблица 9. Тестване за интерференция – екзогенни агенти (класификации на лекарствата)

	Продукт	Класифициране		Продукт	Класифициране
Група 1	Софосбувир	Антивирусно лекарство против HCV с пряко действие	Група 2	Паритапревир	Инхибитор на HCV NS3/4A протеаза
	Ледипасвир	Инхибитор на HCV		Омбитасвир	Антивирусно лекарство против HCV
	Велпатасвир	Инхибитор на HCV NS5A		Ритонавир	Инхибитор на HIV протеаза
	Кларитромицин	Антибиотик		Абакавир сулфат	Инхибитор на обратната транскриптаза
	Интерферон алфа-2а	Имуномодулятор		Рибавирин	Имуномодулятор
Група 3	Гразопревир	Инхибитор на HCV NS3/4A протеаза	Група 4	Ефавиренц	Инхибитор на обратната транскриптаза
	Елбасвир	Инхибитор на HCV NS5A		Лопинавир	Инхибитор на протеаза
	Тенофовир дисопроксил	Антивирусно лекарство против HBV/HIV		Азитромицин	Антибиотик
	Ламивудин	Антивирусно лекарство против HBV/HIV		Долутегравир	Антивирусно лекарство против HIV
	Валганцикловир	Антивирусно лекарство против CMV		Симепревир	Инхибитор на HCV NS3/4A протеаза
Група 5	Емтрицитабин	Антивирусно лекарство против HIV			
	Ралтегравир	Антивирусно лекарство против HIV			
	Амоксицилин	Антибиотик			
	Рилпивирин	Антивирусно лекарство против HIV			
	Дасабувир	Антивирусно лекарство против HCV с пряко действие			
	Глекапревир	Инхибитор на HCV NS3/4A протеаза			

Таблица 10. Тестване за интерференция – екзогенни и ендогенни агенти

Ендогенни	Средна концентрация Log ₁₀ IU/mL	Отклонение Log ₁₀ IU/mL
Хемоглобин	1,61	0,28
Триглицериди	1,31	-0,02
Билирубин	1,47	0,14
Албумин	1,47	0,14
Екзогенни (лекарства)	Средна концентрация Log ₁₀ IU/mL	Отклонение Log ₁₀ IU/mL
Група 1: Зидовудин (Zidovudine, ZDV), саквинавир, ритонавир, кларитромицин, интерферон алфа-2a, интерферон алфа-2b	1,48	0,15
Група 2: Абакавир сулфат, ампренавир, рибавирин, ентекавир, флуоксетин, валацикловир хидрохлорид	1,40	0,07
Група 3: Тенофовир дисопроксил, ламивудин, ганцикловир, валганцикловир, невирапин	1,40	0,07
Група 4: Ефавиренц, лопинавир, енфувиртид, ципрофлоксацин, пароксетин,	1,51	0,18
Група 5: Адефовир (дипивоксил), азитромицин, индинавир сулфат, серталин	1,40	0,07
Болестно състояние	Средна концентрация Log ₁₀ IU/mL	Отклонение Log ₁₀ IU/mL
Антинуклеарно антитяло (Antinuclear Antibody, ANA)	1,53	0,18
Системен лупус еритематодес (Systemic Lupus Erythematosus, SLE)	1,29	-0,06
Ревматоиден артрит	1,39	0,04
Антитела срещу HBV	1,45	0,10
Алкохолна цироза	1,43	0,08
Ревматоиден фактор	1,43	0,08
Неалкохолен стеатохепатит (Non-Alcoholic Steatohepatitis, NASH)	1,32	-0,03

Вътрешнолабораторна прецизност

Прецизността на NeuMoDx HCV Quant Assay е определена с тестване на панел от 7 проби с HCV, подготвени (с HCV Armored RNA и AcroMetrix HCV Control) с три системи NeuMoDx System, в продължение на 12 дни. Характеризирани са прецизността в рамките на обработка, в рамките на деня и в рамките на системата и общото стандартно отклонение е определено като $\leq 0,26 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$. Не е установена съществена разлика в работните характеристики в различните системи, дни или серии, както е показано в Таблица 11. Прецизността между различните оператори не е характеризирана, защото операторът не играе съществена роля при обработката на аликвотни части с NeuMoDx System.

Таблица 11. Вътрешнолабораторна прецизност – NeuMoDx HCV Quant Assay на системи NeuMoDx System

	Прицелна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Средна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	SD в рамките на системата	SD в рамките на деня	SD в рамките на обработката	Вътрешнолабораторно (общо) 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

Възпроизводимост на резултатите от различни партии

Възпроизводимостта на резултатите от различни партии NeuMoDx HCV Quant Assay е определена с три различни партии основни реактиви – NeuMoDx Lysis Buffer 3, пластини за извличане NeuMoDx Extraction Plate и тест-ленти NeuMoDx HCV Quant Test Strip. Панел от 7 проби с HCV (с HCV Armored RNA и AcroMetrix HCV Control) е използван за оценка на работните характеристики. Тестването е извършено с три партии реактиви на три системи в продължение на 6 дни. Вариацията в рамките на една партида и между различните партии е анализирана и резултатите са представени в *Таблица 12*. Максималното общо отклонение е 0,24 Log₁₀ IU/mL, а максималното общо SD е 0,33 Log₁₀ IU/mL. Не е установена съществена разлика в работните характеристики между различните партии, като количественото определяне на всички елементи от панела е в рамките на допустимото отклонение по спецификация.

Таблица 12. Възпроизводимост на резултатите от различни партии – NeuMoDx HCV Quant Assay

	Прицелна концентрация [Log ₁₀ IU/mL]	Средна концентрация ОБЩО [Log ₁₀ IU/mL]	n (Валидни резултати на една партида)	АБСОЛЮТНО ОТКЛОНЕНИЕ	SD между партидите	SD в рамките на партидата	Общо 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

Ефективност на контролата

SPC2 е включен в NeuMoDx HCV Quant Assay за съобщаване на проблеми при технологичните стъпки или инхибиране, влошаващо работните характеристики на анализа. Ефективността е тествана при представителни условия за критични проблеми при технологичните стъпки, които биха могли да възникнат по време на обработката на алиquotната част и които *може да не бъдат засечени* от датчиците, които следят работните характеристики на NeuMoDx System. Положителни (3 Log₁₀ IU/mL) и отрицателни проби са проверени в присъствието на контрола при следните условия: наличие на инхибитор, няма на капан реактив за промивка и няма издухване на промивката. Неефективна обработка с отрицателно отражение върху откриването/количественото определяне на HCV се следи паралелно с работните характеристики на прицелната нуклеинова киселина на SPC2, както е показано в *Таблица 13*. Във всички тествани случаи е демонстрирано, че контролата за обработка на алиquotните части е проследил правилно неефективността на обработката и наличието на инхибитори или очакваната неефективност на обработката няма съществено отрицателно отражение върху откриването и количественото определяне както на SPC2, така и на HCV. Следователно SPC2 демонстрира успешно и ефективно следене на работните характеристики на анализа на NeuMoDx System.

Таблица 13. Ефективност на контролата за обработка на аликвотните части

Тестван проблем при технологичните стъпки	Състояние на амплификацията на контролата за обработка на аликвотните части	Състояние на амплификацията на прицелната нуклеинова киселина на HCV	Резултат от анализа
Presence of Inhibitor (Наличие на инхибитор)	Not Amplified (Няма амплификация)	Not Amplified (Няма амплификация)	Unresolved (Неполучен)
No Wash Delivered (Няма накапана промивка)	Not Amplified (Няма амплификация)	Not Amplified (Няма амплификация)	Unresolved (Неполучен)
No Wash Blowout (Няма издуване на промивката)	Amplified (Има амплификация)	Amplified (Има амплификация)	Positive (Положителен) с количествено определяне в рамките на 0,3 Log ₁₀ IU/mL от контролата

Процент валидни резултати

Ретроспективен анализ на данните, получени по време на проверката на работните характеристики на NeuMoDx HCV Quant Assay на системи NeuMoDx System, е използван за определяне на процента на валидните резултати. Валидните резултати от тестовете се обявяват като Positive (положителен) или Negative (отрицателен); невалидните резултати от тестовете могат да бъдат съобщени като Indeterminate (IND) (неопределен) или Unresolved (UNR) (неполучен) според състоянието на амплификацията на прицелната нуклеинова киселина и контрола за обработката на аликвотните части. Обявяване на резултат IND обикновено се дължи на грешка в прибора, предизвикваща неуспешна амплификация на прицелната нуклеинова киселина и/или вътрешната контрола за обработка. Резултат UNR се обявява за аликвотните части, когато както прицелната нуклеинова киселина, така и вътрешната контрола за обработка не се амплифицират при отсъствие на засечен проблем в апарата. В ретроспективния анализ са включени 1962 отделни резултата от NeuMoDx HCV Quant Assay, включително данни, получени от проби от серум и проби от плазма на двата апарата – NeuMoDx 288 и NeuMoDx 96 System. Процентът UNR е определен като 0,61% (12/1962), а процентът IND е определен като 0,41% (8/1962), което отговаря на критериите за приемане на анализа. Съответно процентът валидни резултати от NeuMoDx HCV Quant Assay в различните клинични матрикси и апарати NeuMoDx Systems е окончателно определен като 99,0% с 95% ДИ (98,4 – 99,3).

Кръстосана контаминация

Процентът кръстосана контаминация за NeuMoDx HCV Quant Assay е определен с тестване на три набора от проби с HCV с редуващи се високи положителни и отрицателни проби. Като цяло, това включва тестване на 144 репликата на отрицателна за HCV човешка проба и 144 репликата на високо титрувана проба с HCV при 8,2 Log₁₀ IU/mL. Всичките 144 репликата на отрицателната проба са съобщени като отрицателни, което демонстрира, че няма кръстосана контаминация по време на обработката на аликвотните части на NeuMoDx System.

Равностойност на резултатите от проби в различни матрикси

Тестването е извършено за демонстриране на равностойността на резултатите от проби в различни матрикси между цяла кръв, взета в епруветки с етилендиаминететраоцетна киселина (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) и епруветки с цитрат-декстроза (Acid Citrate Dextrose, ACD) за подготовката на плазма. Извършено е допълнително тестване за определяне на равностойността на резултатите от пресни и замразени проби от плазма (взети в двата вида епруветки), както и от пресни и замразени проби от серум. Пресните проби са съхранявани при 4 °C, преди в тях да бъдат добавени четири нива на HCV и да бъдат тествани за равностойност. След това аликвотните части са замразени за минимум 24 часа при –20°C. След този период на съхранение в замразено състояние пробите са размразени и тествани отново. Резултатите от пресните спрямо замразените проби от серум и плазма и пробите от плазма с EDTA спрямо тези с ACD са сравнени за равностойност посредством регресионен анализ. Данните демонстрират отлична равностойност между пробите от плазма с EDTA и ACD, пресните и замразените проби от плазма и пресните и замразените проби от серум.

Извършено е допълнително тестване за демонстриране на равностойността на работните характеристики на NeuMoDx HCV Quant Assay при първични спрямо вторични проби. Панели от отрицателни за HCV проби от донори с добавена прицелна нуклеинова киселина на HCV (AccuPlex™ Recombinant HCV Control) и от положителни за HCV проби от донори най-напред са обработени от първичните епруветки за проби. След обработката на първичната епруветка от останалото количество плазма или серум от всяка проба е отделена аликвотна част във вторична епруветка за проби и е обработена отново. Не е установена съществена разлика в съобщените резултати между обработката на първичните и вторичните епруветки с проби.

Сравнение на клиничните методи

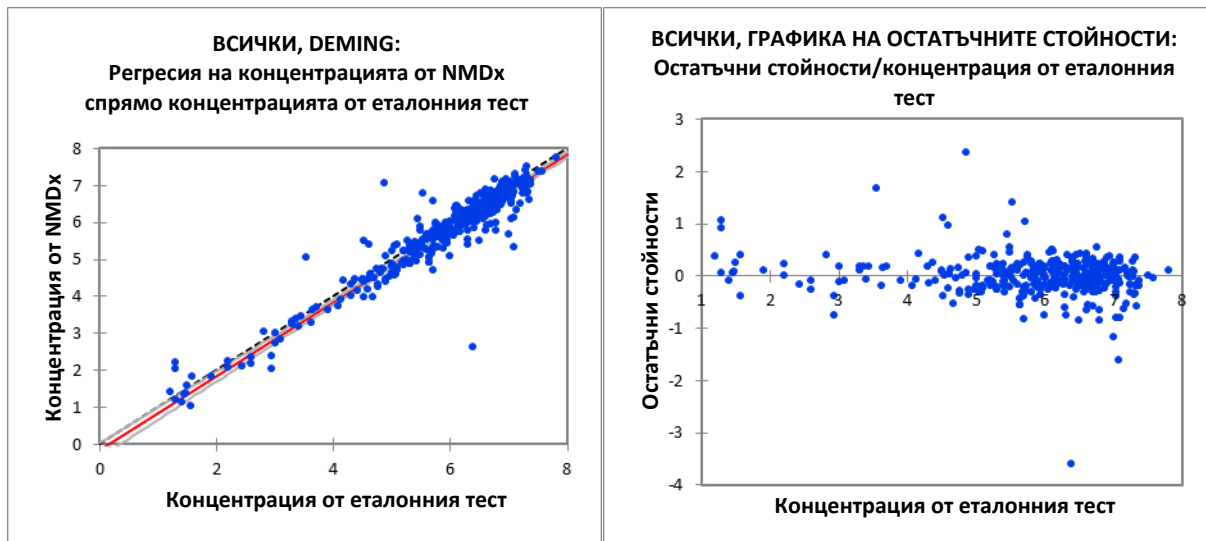
Качествените и количествените работни характеристики на NeuMoDx HCV Quant Assay са оценени спрямо одобрени от FDA/CE анализи за сравнение с тестване на неразредени клинични проби от заразени с HCV пациенти. Тестването е извършено вътрешно в NeuMoDx чрез „едностранно заслепено“ проучване на анонимизирани, остатъчни, клинични проби, получени от шест външни референтни лаборатории. Общо 323 проби от плазма и 336 проби от серум са обработени с NeuMoDx HCV Quant Assay по (едностранно) „заслепено“ принцип в различни системи NeuMoDx Molecular System. От тях 35 аликвотни части от плазма и 13 аликвотни части от серум са обработени на ДВАТА апарата – NeuMoDx 288 и 96 Molecular System. Някои от аликвотните части, дали НЕВАЛИДЕН резултат, не са могли да бъдат обработени повторно поради липса на достатъчно количество аликвотна част.

Грешките в обработката и системата, получени в различните системи NeuMoDx Molecular System, са минимални и изпълняват критериите. Общо 4 indeterminate (IND) (неопределен) резултата са получени първоначално за аликвотни части от плазма и 4 за аликвотни части от серум, което дава общ първоначален процент IND 1% (95% ДИ 0,5% – 3%) за плазма и 1% (95% ДИ 0,4% – 3%) за серум. Общо 3 UNRESOLVED (UNR) (НЕПОЛУЧЕН) резултата са съобщени първоначално за аликвотни части от плазма и 5 за аликвотни части от серум, което дава общо процент 1% (95% ДИ 0,2% – 3%) за плазма и 1% (95% ДИ 0,6% – 4%) за серум.

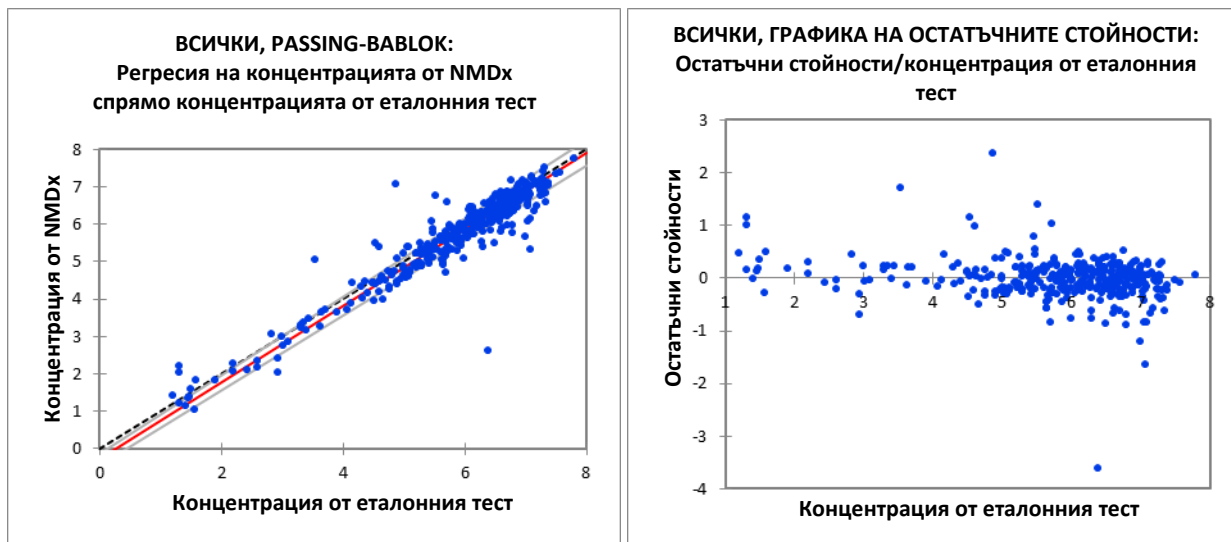
Пробите, дали невалидни резултати (IND/UNR) или „Quantitation Error“ (Грешка в количественото определяне), са тествани повторно, когато е останал достатъчен обем; стъпка за разреждане е изпълнена на някои аликвотни части, за да бъдат получени валидни резултати. От 13-те проби с достатъчен обем за повтаряне (разредени ИЛИ неразредени) е получен валиден резултат.

От всичките 321 получени валидни резултати за проби от плазма и 334 получени валидни резултати за аликвотни части от серум, 206 аликвотни части от плазма и 154 аликвотни части от серум са съобщени като положителни от NeuMoDx HCV Quant Assay със съответните стойности на концентрацията, зададени от еталонните тестове. Регресионни анализи по Deming и Passing-Bablok са използвани за определяне на корелацията между стойностите на концентрацията от NeuMoDx HCV Quant Assay и съобщените стойности от еталонните тестове за аликвотни части от плазма и аликвотни части от серум.

Графики на равностойността са генерирани за представяне на корелацията между концентрациите от NeuMoDx HCV Quant Assay и стойностите на концентрацията от еталонните тестове за всички тествани аликвотни части с регресионно изглаждане по Deming и Passing-Bablok и са представени на *Фигура 7* и *Фигура 8*. Качеството на регресионното изглаждане по Деминг е илюстрирано с коефициент на слоуп 1,00 с 95% ДИ (0,97 – 1,03) и интерсепт (отклонение) -0,16 с 95% ДИ (-0,37 – 0,06), с което се демонстрира, че резултатите за концентрацията, получени от NeuMoDx HCV Quant Assay и еталонните тестове, са с висока корелация и допустимо отклонение. Качеството на линейното изглаждане по Passing-Bablok е илюстрирано с коефициент на слоуп 1,02 с 95% ДИ (0,99 – 1,05) и интерсепт (отклонение) -0,28 с 95% ДИ (-0,43 – 0,14), с което се демонстрира, че резултатите за концентрацията, получени от NeuMoDx HCV Quant Assay и еталонните тестове, са с висока корелация и допустимо отклонение, както се вижда от *Таблица 14*.



Фигура 7: Графики на равностойността (вляво) и остатъчните стойности (вдясно) – кумулативен анализ (в двете системи NeuMoDx System) на резултатите от NeuMoDx HCV Quant Assay в сравнение с резултатите от еталонните тестове за ВСИЧКИ аликвотни части с регресионен анализ по Deming.



Фигура 8: Графики на равностойността (вляво) и остатъчните стойности (вдясно) – кумулативен анализ (в двете системи NeuMoDx System) на резултатите от NeuMoDx HCV Quant Assay в сравнение с резултатите от еталонните тестове за ВСИЧКИ аликвотни части с регресионен анализ по Passing-Bablok.

Таблица 14. Резюме на линейния регресионен анализ по Деминг и Пасинг-Баблок

	Анализ по Deming		Анализ по Passing-Bablok	
	Интерсепт	Коефициент на наклон	Интерсепт	Коефициент на наклон
КУМУЛАТИВНИ (всички плазма + серум)	-0,16 95% ДИ (-0,37,0,06)	1,00 95% ДИ (0,97,1,03)	-0,28 95% ДИ (-0,43,-0,14)	1,02 95% ДИ (0,99,1,05)

От всичките получени 655 валидни резултата за проби от плазма и проби от серум с NeuMoDx HCV Quant Assay 361 са съобщени като положителни от еталонните тестове за HCV, а 294 са съобщени като отрицателни. Чувствителността и специфичността на NeuMoDx HCV Quant Assay са изчислени с данни от всички валидни клинични аликвотни части в сравнение с еталонния тест и са събрани и представени в Таблица 15. От всичките 361 тествани положителни аликвотни части 360 са съобщени като положителни и от NeuMoDx HCV Quant Assay, което демонстрира 99,7% чувствителност с 95% ДИ (98,2% – 100%). От всичките 294 тествани отрицателни аликвотни части 271 са съобщени като отрицателни и от NeuMoDx HCV Quant Assay, което демонстрира 92,2% специфичност с 95% ДИ (88,3% – 94,9%).

Равностойността на резултатите от NeuMoDx HCV Quant Assay е демонстрирана чрез високата корелация на резултатите за работните характеристики на анализа между NeuMoDx 288 Molecular System, NeuMoDx 96 Molecular System и еталонен тест за проби от плазма и проби от серум.

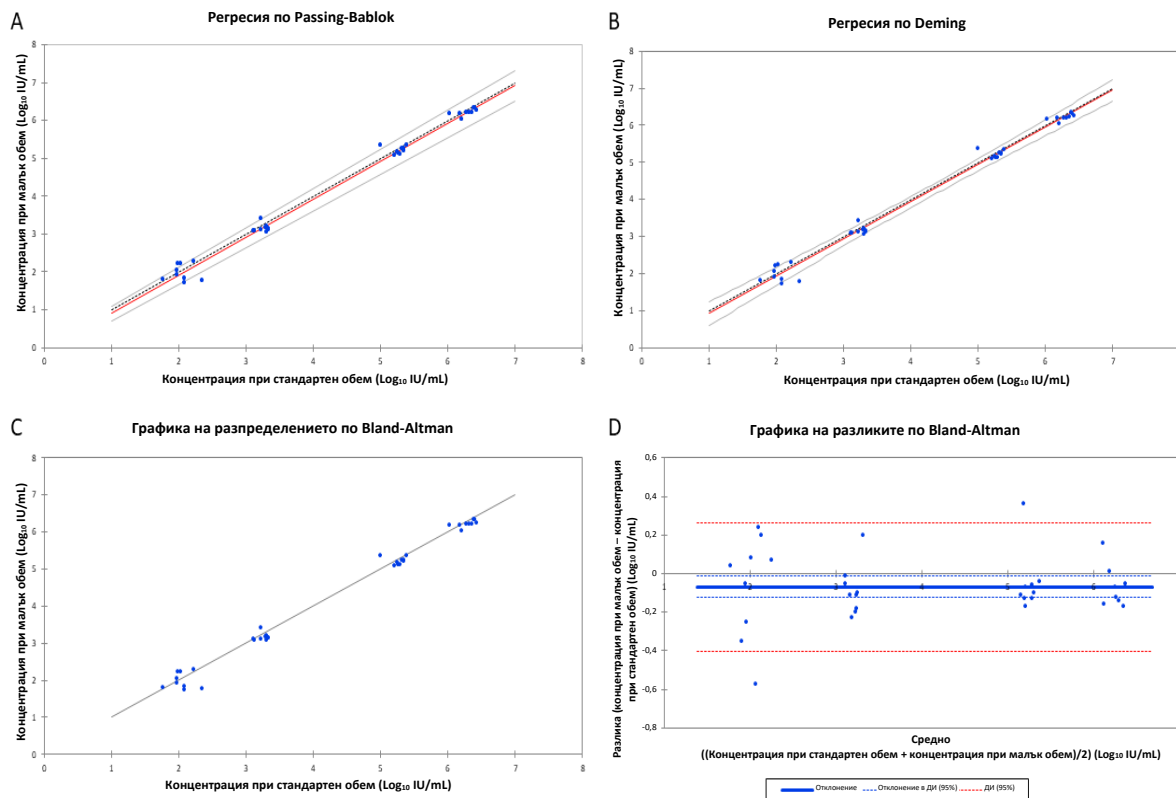
Таблица 15. Резултати от сравнението на качествените методи за NeuMoDx HCV Quant Assay в сравнение с еталонни тестове – плазма и серум

	Еталонен анализ (Положителен)	Еталонен анализ (Отрицателен)	ОБЩО
NeuMoDx HCV Quant Assay (POS) (Пол.)	360	23	383
NeuMoDx HCV Quant Assay (NEG) (Отр.)	1	271	272
ОБЩО	361	294	655
ЧУВСТВТЕЛНОСТ = 99,7% 95% ДИ (98,2% – 100%) * СПЕЦИФИЧНОСТ = 92,2% 95% ДИ (88,3% – 94,9%)			

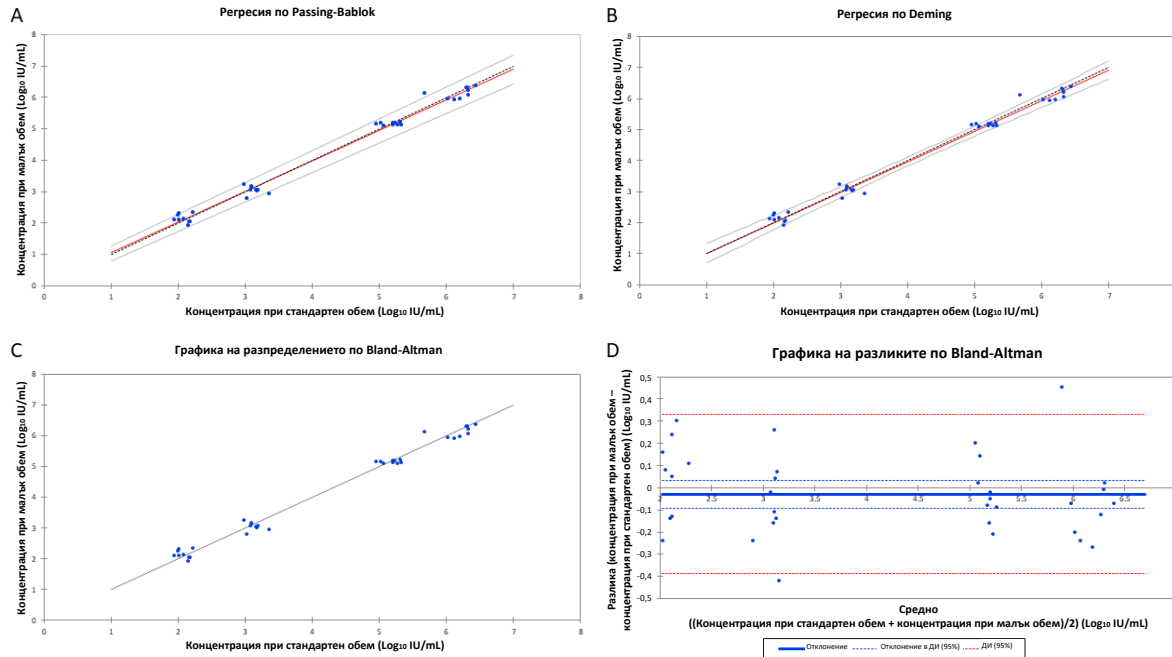
*** ЗАБЕЛЕЖКА:** $LLoQ$ за NeuMoDx HCV Quant Assay е $0,9 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$, което е по-ниско от анализа за сравнение, използван като еталонен тест. Извършен е последващ анализ с изключване на 9 аликвотни части, в които HCV е открит от NeuMoDx, но които са съобщени като отрицателни от анализа за сравнение. След изключването на тези 9 аликвотни части специфичността на NeuMoDx HCV Quant Assay е преизчислена на 95,1% с 95% ДИ (91,7 – 97,2).

Тестване на фабрикувани проби – процедура за 200 μL обем от пробата

Количествената корелация между процедурите за 200 μL и 550 μL обем от пробата е потвърдена с панел, включващ отделни HCV-отрицателни аликвотни части от плазма и серум с добавка от четири известна нива на материал Accuplex HCV Control, с проследимост по 5-ия Международен стандарт на СЗО за РНК на HCV за тестове за нуклеинови киселини. Тези отделни проби от плазма и серум са обработени с процедурите за 550 μL и 200 μL обем от пробата при общо 324 извършени теста. Сравненията за равностойност между концентрацията, съобщена от софтуера NeuMoDx при процедурите за 200 μL и 550 μL обем от пробата, с тази от фабрикувания панел са извършени за всяка отделна аликвотна част. Регресионните анализи по Deming и по Passing-Bablok имат съответно slope 1,003 и 1,000 с интерсепт -0,082 и -0,085 за плазма и 0,974 и 0,984 с интерсепт 0,086 и 0,037 за серум, което демонстрира отлична съгласуваност на количествените определяния на HCV между процедурите за обработка на двата обема. Сравнение по Bland-Altman показва минимално отклонение между двете процедури. Освен това прости линейни регресионни анализи на очакваната спрямо съобщената концентрация за процедурата за 200 μL дават slope 1,0432 и корелационен коефициент 0,994 (плазма) и 1,0007 и 0,993 (серум), което потвърждава отличните работни характеристики при използването на процедурата за 200 μL обем от пробата за NeuMoDx HCV Quant Assay. Резултатите от тези изследвания са обобщени по-долу на *Фигура 9* и *Фигура 10*.



Фигура 9: Графика на равностойността – сравнения на съобщените концентрации при процедурата за 200 μL обем на пробата спрямо тези при процедурата за 550 μL обем на пробата. А) Регресия по Passing-Bablok. В) Регресия по Deming. С) Графика на разпределението по Bland-Altman
 Д) Графика на разликите по Bland-Altman – проби от плазма



Фигура 10: Графика на равностойността – сравнения на съобщените концентрации при процедурата за 200 µL обем на пробата спрямо тези при процедурата за 550 µL обем на пробата. А) Регресия по Passing-Bablok. В) Регресия по Deming. С) Графика на разпределението по Bland-Altman
 D) Графика на разликите по Bland-Altman – проби от серум

ЦИТИРАНИ ИЗТОЧНИЦИ















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


ТЪРГОВСКИ МАРКИ

NeuMoDx™ и NeuDry™ са търговски марки на NeuMoDx Molecular, Inc.
 AcroMetrix™ е търговска марка на Thermo Fisher Scientific.
 Armored RNA® е регистрирана търговска марка на Asuragen, Inc.
 BD Vacutainer® е регистрирана търговска марка на Becton, Dickinson and Company
 BD, PPT™ и SST™ са търговски марки на Becton, Dickinson and Company
 TaqMan® е регистрирана търговска марка на Roche Molecular Systems, Inc.

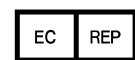
Всички останали наименования на продукти, търговски марки и регистрирани търговски марки, фигуриращи в настоящия документ, са собственост на съответните им притежатели.

ЛЕГЕНДА НА СИМВОЛИТЕ

 Rx only	За употреба само по лекарско предписание		Ограничение за температура
	Производител		Само за еднократна употреба
	Медицинско изделие за <i>invitro</i> диагностика		Съдържанието е достатъчно за <n> теста
	Упълномощен представител в Европейската общност		Вижте инструкциите за употреба
	Каталожен номер		Внимание
	Код на партида		Биологични рискове
	Срок на годност		Маркировка CE

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

Възложител
 (АВСТРАЛИЯ):
 QIAGEN Pty Ltd
 Level 2 Chadstone Place
 1341 Dandenong Rd
 Chadstone VIC 3148

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

 2797

Техническа поддръжка/Докладване на бдителност: support@qiagen.com

Патент: www.neumodx.com/patents