

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

ΠΡΟΣΟΧΗ: Μόνο για εξαγωγή από τις ΗΠΑ

**IVD Για *in vitro* διαγνωστική χρήση με τα συστήματα NeuMoDx 288 και NeuMoDx 96 Molecular System**


Για ενημερώσεις του φύλλου οδηγιών, επισκεφτείτε τη διεύθυνση: [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)  
 Για αναλυτικές οδηγίες, ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο χρήσης του συστήματος NeuMoDx 288 Molecular System, P/N 40600108  
 Για αναλυτικές οδηγίες, ανατρέξτε στο Εγχειρίδιο χρήσης του συστήματος NeuMoDx 96 Molecular System, P/N 40600317

**ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ**

Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, που εκτελείται στα συστήματα NeuMoDx 96 Molecular System και NeuMoDx 288 Molecular System (συστήματα NeuMoDx System), είναι μια αυτοματοποιημένη, ποσοτική και ποιοτική *in vitro* διαγνωστική εξέταση ενίσχυσης με ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος, που σχεδιάστηκε για την ποσοτικοποίηση και την ανίχνευση του RNA του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας τύπου 1 (HIV-1) σε ανθρώπινο πλάσμα.

Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay προορίζεται για χρήση σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα και άλλους εργαστηριακούς δείκτες για την πρόγνωση της νόσου, ως βοήθημα για την κλινική διαχείριση ασθενών που έχουν μολυνθεί με τον HIV-1 καθώς και για την παρακολούθηση των επιδράσεων της αντιρετροϊκής θεραπείας, όπως μετράται μέσω των μεταβολών των επιπέδων του RNA του HIV-1 στο πλάσμα. Η μέθοδος προσδιορισμού μπορεί να ποσοτικοποιήσει το RNA του HIV-1 σε τιμές που κυμαίνονται από 34,2 έως 5,0 x 10<sup>7</sup> IU/mL (1,5-7,7 log<sub>10</sub> IU/mL). Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay είναι επικυρωμένη για την ποσοτικοποίηση του RNA του ιού HIV-1 των ομάδων M (υποτύποι A, B, C, D, F, G, H, K, CRF01\_AE, CRF02\_AG) N, O και P.

Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay προορίζεται να χρησιμοποιηθεί ως βοήθημα στη διάγνωση της λοίμωξης από τον HIV-1, περιλαμβανομένων της οξείας ή της πρωτοπαθούς λοίμωξης. Η παρουσία του RNA του HIV-1 στο πλάσμα ασθενών χωρίς αντισώματα στον HIV-1 είναι ενδεικτική οξείας ή πρωτοπαθούς λοίμωξης από τον HIV-1. Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως συμπληρωματική εξέταση για δοκίμια που εμφανίζουν επαναλαμβανόμενα αντιδρώντα αποτελέσματα με εγκεκριμένες ανοσοδοκιμασίες για τον HIV ως επιβεβαίωση της λοίμωξης από HIV-1.

Η μέθοδος NeuMoDx HIV-1 Quant Assay δεν προορίζεται για χρήση ως εξέταση ελέγχου δότη για τον HIV-1 για την παρουσία του HIV-1 σε αίμα ή προϊόντα αίματος.

**ΣΥΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ**

Για την προετοιμασία του πλάσματος μπορεί να χρησιμοποιηθεί ανθρώπινο ολικό αίμα που έχει συλλεχθεί μέσα σε σειρά σωληνάρια συλλογής αίματος που περιέχουν είτε αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) είτε κιτρικό οξύ-δεξτρόζη (Acid Citrate Dextrose, ACD) ως αντιπηκτικό παράγοντα ή μέσα σε σωληνάρια για την προετοιμασία του πλάσματος (Plasma Preparation Tubes, PPT). Για την προετοιμασία για την εξέταση φορτώνεται στο σύστημα NeuMoDx System πλάσμα μέσα σε δευτερεύον σωληνάριο δοκιμίου ή κλασματοποιημένο αίμα μέσα σε πρωτογενές σωληνάριο δοκιμίου συμβατό με το σύστημα NeuMoDx System με τη χρήση καθορισμένου φορέα σωληναρίων δοκιμίου για να ξεκινήσει η επεξεργασία. Για κάθε δοκίμιο, ένα κλάσμα δείγματος πλάσματος 600 μL αναμειγνύεται με ρυθμιστικό διάλυμα NeuMoDx Lysis Buffer 3 και το σύστημα NeuMoDx System εκτελεί αυτόματα όλα τα βήματα που απαιτούνται για την εκχύλιση του στοχευόμενου νουκλεϊκού οξέως, την προετοιμασία του απομονωμένου RNA για αντίστροφη μεταγραφή με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) και, εφόσον υπάρχουν, για την ενίσχυση και ανίχνευση των προϊόντων της ενίσχυσης (τμήματα του γονιδιώματος του HIV-1 σε συντηρημένες περιοχές). Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay περιλαμβάνει έναν μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος (Sample Process Control, SPC2) RNA, για διευκόλυνση της παρακολούθησης για παρουσία δυναμικών ανασταλτικών ουσιών και για αστοχίες του συστήματος NeuMoDx System ή των αντιδραστηρίων που ενδέχεται να προκύψουν κατά τη διάρκεια της διαδικασίας εκχύλισης και ενίσχυσης.

Ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV) είναι ο αιτιολογικός παράγοντας του συνδρόμου της επίκτητης ανοσοανεπάρκειας (AIDS) και διακρίνεται σε δύο μείζονες τύπους, ο συνηθέστερος και πλέον παθογόνος από τους οποίους είναι ο HIV τύπου 1 (HIV-1). Ο HIV-1 μπορεί να μεταδοθεί μέσω σεξουαλικής επαφής, μέσω έκθεσης σε μολυσμένο αίμα ή σε μολυσμένα προϊόντα αίματος ή από μια μολυσμένη μητέρα στο έμβρυο.<sup>1-4</sup> Η οξεία λοίμωξη από τον HIV-1 χαρακτηρίζεται από συμπτώματα γριπώδους συνδρομής, εκδηλώνεται 3 έως 5 εβδομάδες μετά την αρχική λοίμωξη και συνοδεύεται από υψηλά επίπεδα ιαμιάς. Η ειδική για τον HIV-1 ανοσοαπάντηση ανιχνεύεται εντός 4 έως 6 εβδομάδων από την έναρξη των συμπτωμάτων.<sup>5-9</sup>

Με την ορομετατροπή, οι περισσότεροι ασθενείς εισέρχονται σε μια ασυμπτωματική φάση που μπορεί να διαρκέσει για χρόνια. Η ποσοτική μέτρηση των επιπέδων του RNA του HIV-1 στο περιφερικό αίμα έχει συνεισφέρει πολύ στην κατανόηση της παθογένεσης της λοίμωξης από τον HIV-1 και έχει καταδειχθεί ότι είναι μια ουσιαστική παράμετρος στην πρόγνωση και στη διαχείριση των ατόμων που έχουν μολυνθεί με τον HIV-1.<sup>10-11</sup> Οι αποφάσεις που αφορούν την έναρξη ή τις μεταβολές της αντιρετροϊκής θεραπείας καθοδηγούνται από την παρακολούθηση των επιπέδων του RNA του HIV-1 στο πλάσμα (ικό φορτίο), του αριθμού των CD4+ T-κυττάρων, καθώς της κλινικής κατάστασης του ασθενούς.<sup>12-17</sup> Ο στόχος της αντιρετροϊκής θεραπείας είναι να κατασταλεί η αντιγραφή του HIV-1 σε επίπεδα χαμηλότερα αυτών που ανιχνεύονται με τις εξετάσεις ικού φορτίου που είναι διαθέσιμες επί του παρόντος. Τα επίπεδα του ιού στο περιφερικό αίμα μπορούν να ποσοτικοποιηθούν με τη μέτρηση του αντιγόνου p24 του HIV στον ορό, με την ποσοτική καλλιέργεια του HIV από το πλάσμα ή με άμεση μέτρηση του ικού RNA στο πλάσμα με χρήση τεχνολογιών ενίσχυσης νουκλεϊκού οξέος ή ενίσχυσης σήματος.<sup>9-11</sup> Μοριακές τεχνικές όπως η διαμεσολαβόμενη από αντίστροφη μεταγραφή αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης χρησιμοποιούνται ευρέως για την ενίσχυση νουκλεϊκών οξέων.<sup>11</sup> Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay χρησιμοποιεί τεχνολογία RT-PCR με ομοιογενή ανίχνευση φθορισμού πραγματικού χρόνου. Η μέθοδος

προσδιορισμού περιλαμβάνει ενίσχυση και ανίχνευση διπλού στόχου, στοχεύοντας δύο ανεξάρτητες περιοχές του γονιδιώματος του HIV-1. Επιπλέον, ο εκφυλισμένος σχεδιασμός της μεθόδου προσδιορισμού καθιστά εφικτή την ανίχνευση διαφόρων υποτύπων της ομάδας M (A, B, C, D, F, G, H, K), περιλαμβανομένων κυκλοφορούντων ανασυνδυασμένων μορφών, καθώς και απομονωθέντων στελεχών των ομάδων N, O και P. Τα αποτελέσματα της μεθόδου προσδιορισμού αναφέρονται σε Διεθνείς Μονάδες ανά mL (IU/mL).

### ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay συνδυάζει αυτοματοποιημένη εκχύλιση RNA και ενίσχυση/ανίχνευση μέσω RT-PCR πραγματικού χρόνου. Δοκίμια ολικού αίματος συλλέγονται μέσα σε σωληνάρια με EDTA ή ACD, ή σε σωληνάρια PPT για την προετοιμασία του πλάσματος. Το κύριο (κλασματοποιημένο) δοκίμιο αίματος ή ένα κλάσμα πλάσματος σε συμβατό δευτερεύον σωληνάριο δοκιμίου σημαίνεται με γραμμωτό κωδικό και τοποθετείται στο σύστημα NeuMoDx System. Το σύστημα NeuMoDx System αναρροφά αυτόματα ένα κλάσμα από το πλάσμα για ανάμιξη με το ρυθμιστικό διάλυμα NeuMoDx Lysis Buffer 3 και τα αντιδραστήρια που περιέχονται στην πλάκα NeuMoDx Extraction Plate, ώστε να ξεκινήσει η επεξεργασία. Το NeuMoDx System αυτοματοποιεί και ενσωματώνει την εκχύλιση και τη συγκέντρωση του RNA, την προετοιμασία των αντιδραστηρίων και την ενίσχυση/ανίχνευση νουκλεϊκού οξέος των στοχευόμενων αλληλουχιών με τη χρήση RT-PCR πραγματικού χρόνου. Ο μάρτυρας επεξεργασίας δείγματος (Sample Process Control, SPC2) που περιλαμβάνεται βοηθά στην παρακολούθηση για την παρουσία ανασταλτικών ουσιών και τυχόν αστοχιών του συστήματος, της διαδικασίας ή των αντιδραστηρίων. Δεν απαιτείται καμία παρέμβαση από το χειριστή μετά τη φόρτωση του δοκιμίου στο NeuMoDx System.

Το σύστημα NeuMoDx System χρησιμοποιεί έναν συνδυασμό θερμότητας, λυτικού ενζύμου και αντιδραστηρίων εκχύλισης για την αυτόματη εκτέλεση λύσης, εκχύλισης RNA και απομάκρυνσης των αναστολέων. Τα αποδεσμευμένα νουκλεϊκά οξέα συλλαμβάνονται από παραμαγνητικά σωματίδια. Τα σωματίδια, μαζί με το δεσμευμένο νουκλεϊκό οξύ, φορτώνονται στη φύσιγγα NeuMoDx Cartridge, όπου τα μη δεσμευμένα στοιχεία εκπλένονται με το αντιδραστήριο NeuMoDx Wash Reagent. Στη συνέχεια, το δεσμευμένο RNA εκλύεται με τη χρήση του αντιδραστηρίου NeuMoDx Release Reagent. Το σύστημα NeuMoDx System χρησιμοποιεί το εκλυόμενο RNA για την εκ νέου ενυδάτωση των αποκλειστικών αντιδραστηρίων ενίσχυσης NeuDry™ που περιέχουν όλα τα απαραίτητα στοιχεία για την ενίσχυση των στόχων HIV-1 και SPC2. Με αυτόν τον τρόπο, είναι δυνατή η ταυτόχρονη ενίσχυση και ανίχνευση των αλληλουχιών RNA τόσο του στόχου όσο και του μάρτυρα. Μετά την ανασύσταση των αφυδατωμένων αντιδραστηρίων RT-PCR, το σύστημα NeuMoDx System διανέμει το προετοιμασμένο, έτοιμο για RT-PCR μίγμα σε έναν θάλαμο PCR (ανά δοκίμιο) της φύσιγγας NeuMoDx Cartridge. Η αντίστροφη μεταγραφή, η ενίσχυση και η ανίχνευση των αλληλουχιών μάρτυρα και στόχου (εάν υπάρχουν) πραγματοποιούνται στον θάλαμο PCR. Η φύσιγγα NeuMoDx Cartridge έχει σχεδιαστεί έτσι ώστε να περιορίζει το αμπλικόνιο μετά την RT-PCR, εξαλείφοντας ουσιαστικά τον κίνδυνο επιμόλυνσης μετά την ενίσχυση.

Οι ενισχυμένοι στόχοι ανιχνεύονται σε πραγματικό χρόνο μέσω χημείας ανιχνευτών υδρόλυσης (κοινώς αναφέρεται ως χημεία TaqMan®), με τη χρήση μορίων ανιχνευτή φθορίζοντος ολιγονουκλεοτιδίου ειδικών για τα αμπλικόνια των αντίστοιχων στόχων. Οι ανιχνευτές TaqMan αποτελούνται από ένα φθοροφόρο ομοιοπολικά προσαρτημένο στο άκρο 5' του ολιγονουκλεοτιδίου ανιχνευτή και έναν αναστολέα στο άκρο 3'. Ενώ ο ανιχνευτής είναι άθικτος, το φθοροφόρο και ο αναστολέας βρίσκονται κοντά, έτσι ώστε το μόριο του αναστολέα να μπορεί να καταστείλει το φθορισμό που εκπέμπεται από το φθοροφόρο μέσω μεταφοράς ενέργειας λόγω συντονισμού κατά Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Οι ανιχνευτές TaqMan έχουν σχεδιαστεί έτσι ώστε να αναδιατάσσονται εντός μιας περιοχής DNA που έχει ενισχυθεί από ένα ειδικό σύνολο εκκινητών. Καθώς η Taq DNA πολυμεράση επεκτείνει τον εκκινητή και συνθέτει τον νέο κλώνο, η δράση της Taq DNA πολυμεράσης στην 5' προς 3' εξωνουκλεασή διασπά τον ανιχνευτή που έχει αναδιαταχθεί σύμφωνα με το πρότυπο. Με τη διάσπαση του ανιχνευτή, το φθοροφόρο απελευθερώνεται και απομακρύνεται από τον αναστολέα, υπερνικώντας έτσι την κατασταλτική επίδραση λόγω της FRET και επιτρέποντας την ανίχνευση του φθοροφόρου. Το φθορίζον σήμα που προκύπτει και ανιχνεύεται στον θερμικό κυκλοποιητή ποσοτικής RT-PCR του συστήματος NeuMoDx System είναι ευθέως ανάλογο προς το φθοροφόρο που απελευθερώνεται και μπορεί να συσχετιστεί με την ποσότητα του στόχου που υπάρχει.

Ένας ανιχνευτής TaqMan, σημασμένος με ένα φθοροφόρο (διέγερση: 490 nm και εκπομπή: 521 nm) στο άκρο 5' και ένας σκοτεινός αναστολέας στο άκρο 3' χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση του RNA του HIV-1. Για την ανίχνευση του SPC2, ο ανιχνευτής TaqMan, σημασμένος με μια εναλλακτική φθορίζουσα χρωστική (Διέγερση: 535 nm και εκπομπή: 556 nm) στο άκρο 5' και έναν σκοτεινό αναστολέα στο άκρο 3'. Το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System παρακολουθεί το σήμα φθορισμού που εκπέμπεται από τους ανιχνευτές TaqMan στο τέλος κάθε κύκλου ενίσχυσης. Όταν ολοκληρωθεί η ενίσχυση, το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System αναλύει τα δεδομένα και αναφέρει ένα αποτέλεσμα [POSITIVE (Θετικό)/NEGATIVE (Αρνητικό)/INDETERMINATE (Απροσδιόριστο)/UNRESOLVED (Χωρίς απάντηση)]. Εάν ένα αποτέλεσμα είναι θετικό και η υπολογισμένη συγκέντρωση είναι εντός των ορίων της ποσοτικοποίησης, το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System παρέχει επίσης μια ποσοτική τιμή που σχετίζεται με το δείγμα.

### ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ/ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ

#### Παρεχόμενα υλικά

REF	Περιεχόμενα	Εξετάσεις ανά τεμάχιο	Εξετάσεις ανά συσκευασία
300500	<b>Ταινία NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip</b> Αφυδατωμένα αντιδραστήρια RT-PCR που περιέχουν ανιχνευτή και εκκινητές TaqMan ειδικά για τον HIV-1 και τον SPC2	16	96

### Επιπλέον υλικά που απαιτούνται (διατίθενται ξεχωριστά)

REF	Περιεχόμενα
100200	<b>Πλάκα NeuMoDx Extraction Plate</b> Αφυδατωμένα παραμαγνητικά σωματίδια, λυτικό ένζυμο και μάρτυρες επεξεργασίας δείγματος
800304	<b>Βαθμονομητές NeuMoDx HIV-1 Calibrator</b> Σετ βαθμονομητών υψηλού και χαμηλού HIV-1 μίας χρήσης για την καθιέρωση της εγκυρότητας της πρότυπης καμπύλης
900301	<b>Εξωτερικοί μάρτυρες NeuMoDx HIV-1 External Control</b> Σετ θετικών και αρνητικών μαρτύρων HIV-1 μίας χρήσης
400600	<b>Ρυθμιστικό διάλυμα NeuMoDx Lysis Buffer 3</b>
400100	<b>Αντιδραστήριο πλύσης NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>Αντιδραστήριο αποδέσμευσης NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>Φύσιγγα NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Ρύγχη Hamilton CO-RE/CO-RE II (300 µL) με φίλτρα</b>
235905	<b>Ρύγχη Hamilton CO-RE/CO-RE II (1.000 µL) με φίλτρα</b>

### Όργανα που απαιτούνται

Σύστημα **NeuMoDx 288 Molecular System** [REF 500100] ή σύστημα **NeuMoDx 96 Molecular System** [REF 500200]



### ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Η ταινία NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip προορίζεται για *in vitro* διαγνωστική χρήση μόνο με τα συστήματα NeuMoDx Molecular System.
- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια ή τα αναλώσιμα μετά την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης.
- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια, αν η σφράγιση ασφαλείας έχει σπάσει ή αν η συσκευασία έχει φθορές κατά την άφιξη.
- Μη χρησιμοποιείτε αναλώσιμα ή αντιδραστήρια, αν το προστατευτικό σακουλάκι είναι ανοικτό ή σκισμένο κατά την άφιξη.
- Για να μπορέσουν να δημιουργηθούν αποτελέσματα εξέτασης για κλινικά δείγματα, πρέπει να υπάρχει μια έγκυρη βαθμονόμηση εξέτασης (που δημιουργείται μέσω επεξεργασίας βαθμονομητών υψηλού και χαμηλού από τους βαθμονομητές NeuMoDx HIV-1 Calibrator [REF 800304]).
- Οι εξωτερικοί μάρτυρες (από τους εξωτερικούς μάρτυρες NeuMoDx HIV-1 External Control [REF 900301]) πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία κάθε 24 ώρες σε όλη τη διάρκεια της εξέτασης με τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.
- Ο ελάχιστος όγκος δοκιμίου των δευτερευόντων κλασμάτων εξαρτάται από το μέγεθος του σωληναρίου/το φορέα σωληναρίων δοκιμίου, όπως καθορίζεται παρακάτω. Κάθε όγκος που είναι μικρότερος από τον ελάχιστο προσδιορισμένο ενδέχεται να προκαλέσει σφάλμα «Quantity Not Sufficient» (Ανεπαρκής ποσότητα).
- Η χρήση δοκιμίων που έχουν αποθηκευτεί σε ακατάλληλες θερμοκρασίες ή για χρονικό διάστημα που υπερβαίνει τους καθορισμένους χρόνους φύλαξης ενδέχεται να προκαλέσει μη έγκυρα ή εσφαλμένα αποτελέσματα.
- Αποφεύγετε την επιμόλυνση όλων των αντιδραστηρίων και των αναλώσιμων από μικρόβια και ριβονουκλεάση (RNάση). Συνιστάται η χρήση στείρων πιπέτων μεταφοράς μίας χρήσης, χωρίς RNάση, κατά τη χρήση δευτερευόντων σωληναρίων. Χρησιμοποιείτε νέα πιπέτα για κάθε δοκίμιο.
- Για την αποφυγή της επιμόλυνσης, μη χειρίζεστε και μην αποσυναρμολογείτε καμία φύσιγγα NeuMoDx Cartridge μετά την ενίσχυση. Σε καμία περίπτωση μην επαναφέρετε φύσιγγες NeuMoDx Cartridge από τον περιέκτη βιολογικά επικίνδυνων αποβλήτων (NeuMoDx 288 Molecular System) ή από τον κάδο βιολογικά επικίνδυνων αποβλήτων (NeuMoDx 96 Molecular System). Η φύσιγγα NeuMoDx Cartridge έχει σχεδιαστεί ώστε να αποτρέπεται η επιμόλυνση.
- Σε περιπτώσεις όπου διενεργούνται επίσης από το εργαστήριο εξετάσεις PCR ανοικτού σωλήνα, πρέπει να δίνεται προσοχή ώστε να διασφαλίζεται ότι η ταινία NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, τα πρόσθετα αναλώσιμα και αντιδραστήρια που απαιτούνται για την εξέταση, τα μέσα ατομικής προστασίας όπως γάντια και εργαστηριακές ποδιές, καθώς και το σύστημα NeuMoDx System δεν θα επιμολυνθούν.
- Θα πρέπει να φοράτε καθαρά γάντια νιτριλίου χωρίς πούδρα κατά το χειρισμό των αντιδραστηρίων και των αναλωσίμων NeuMoDx. Θα πρέπει να δίνεται προσοχή ώστε να μην υπάρχει επαφή με την επάνω επιφάνεια της φύσιγγας NeuMoDx Cartridge, την επιφάνεια σφράγισης αλουμινοφύλλου της ταινίας NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip και την πλάκα NeuMoDx Extraction Plate, ή με την επάνω επιφάνεια του ρυθμιστικού διαλύματος NeuMoDx Lysis Buffer 3. Ο χειρισμός των αναλωσίμων και των αντιδραστηρίων θα πρέπει να πραγματοποιείται με επαφή μόνο στις πλευρικές επιφάνειες.
- Παρέχονται Δελτία Δεδομένων Ασφάλειας (ΔΔΑ) για κάθε αντιδραστήριο (κατά περίπτωση) στη διεύθυνση [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)
- Πλένετε σχολαστικά τα χέρια σας μετά την εκτέλεση της εξέτασης.



- Μην πραγματοποιείτε αναρρόφηση με το στόμα. Μην καπνίζετε, μην τρώτε και μην πίνετε σε χώρους όπου πραγματοποιείται χειρισμός δοκιμών ή αντιδραστηρίων.
- Χειρίζεστε πάντα τα δοκίμια με τον τρόπο που θα χειριζόσασταν μολυσματικές ουσίες και σύμφωνα με ασφαλείς εργαστηριακές διαδικασίες, όπως αυτές που περιγράφονται στο έγγραφο *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (Βιοασφάλεια σε μικροβιολογικά και βιοϊατρικά εργαστήρια)<sup>18</sup> και στο έγγραφο M29-A4 του CLSI.<sup>19</sup>
- Απορρίψτε τα μη χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια και τα απόβλητα σύμφωνα με τους εθνικούς, ομοσπονδιακούς, περιφερειακούς, κρατικούς και τοπικούς κανονισμούς.

### ΦΥΛΑΞΗ, ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ

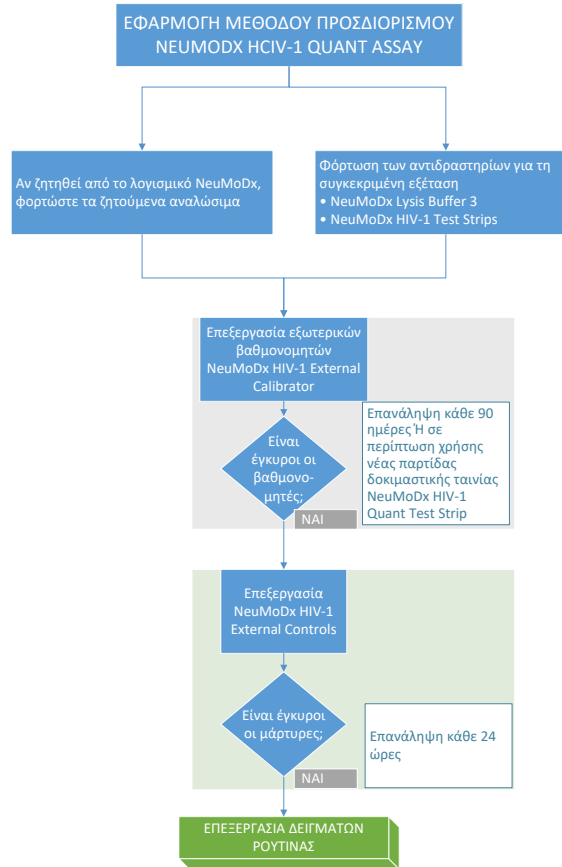
- Οι δοκιμαστικές ταινίες NeuMoDx HIV-1 Test Strip είναι σταθερές στην κύρια συσκευασία έως την ημερομηνία λήξης που αναφέρεται στην άμεση ετικέτα του προϊόντος όταν φυλάσσονται σε θερμοκρασία 15–23 °C.
- Οι ταινίες NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip αποστέλλονται σε μονωμένο περιέκτη που περιέχει συσκευασίες ψυκτικής γέλης.
- Μη χρησιμοποιείτε τα αναλώσιμα και τα αντιδραστήρια μετά την αναγραφόμενη ημερομηνία λήξης.
- Μη χρησιμοποιείτε κανένα προϊόν εξέτασης, εάν υπάρχουν ορατές αλλοιώσεις στην κύρια ή τη δευτερεύουσα συσκευασία.
- Μην επαναφορτώνετε κανένα προϊόν εξέτασης που είχε φορτωθεί πριν σε άλλο σύστημα NeuMoDx System.
- Μετά τη φόρτωση, η ταινία NeuMoDx HIV-1 Test Strip μπορεί να παραμείνει επί του συστήματος NeuMoDx System για επτά (7) ημέρες. Η υπολειπόμενη διάρκεια ζωής των φορτωμένων δοκιμαστικών ταινιών παρακολουθείται από το λογισμικό και αναφέρεται στον χρήστη σε πραγματικό χρόνο. Το σύστημα θα εμφανίζει ειδοποίηση για την αφαίρεση των δοκιμαστικών ταινιών που έχουν χρησιμοποιηθεί για διάστημα μεγαλύτερο από το επιτρεπόμενο.
- Αν και δεν είναι μολυσματικοί, να απορρίψτε τους βαθμονομητές και τους εξωτερικούς μάρτυρες NeuMoDx μετά τη χρήση μέσα σε εργαστηριακά βιολογικά επικίνδυνα απόβλητα, για να μειωθεί ο κίνδυνος επιμόλυνσης από το νουκλεϊκό οξύ του στόχου που περιέχουν.



### ΣΥΛΛΟΓΗ, ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΚΑΙ ΦΥΛΑΞΗ ΔΟΚΙΜΙΩΝ

1. Χειρίζεστε όλα τα δοκίμια, τους βαθμονομητές και τους μάρτυρες ως εάν ήταν ικανά να μεταδώσουν μολυσματικούς παράγοντες.
2. Μην καταψύχετε ολικό αίμα ή τυχόν δοκίμια που φυλάσσονται σε πρωτογενή σωληνάρια.
3. Για την προετοιμασία δοκιμών πλάσματος, το ολικό αίμα θα πρέπει να συλλέγεται μέσα σε στείρα σωληνάρια με τη χρήση EDTA ή ACD ως αντιπηκτικών. Ακολουθείτε τις οδηγίες του κατασκευαστή των σωληναρίων συλλογής δοκιμών για την προετοιμασία και τη φύλαξη.
4. Τα δοκίμια μπορούν να εξεταστούν σε πρωτογενή σωληνάρια συλλογής ή σε δευτερεύοντα σωληνάρια δοκιμών. Συνιστώνται για την εξέταση σε πρωτογενές σωληνάριο: Σωληνάριο BD Vacutainer® Plus Plastic K<sub>2</sub>EDTA Tube (BD #368589) ή σωληνάριο προετοιμασίας πλάσματος BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
5. Τα προετοιμασμένα δοκίμια πλάσματος μπορούν να φυλαχθούν στο σύστημα NeuMoDx System για έως και 8 ώρες πριν από την επεξεργασία. Αν απαιτείται επιπλέον χρόνος φύλαξης, συνιστάται τα δοκίμια είτε να ψύχονται είτε να καταψύχονται ως δευτερεύοντα κλάσματα πλάσματος.
6. Τα προετοιμασμένα δοκίμια πλάσματος θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία 2 έως 8 °C για έως 7 ημέρες το πολύ πριν από την εξέταση και για 8 ώρες κατά το μέγιστο σε θερμοκρασία δωματίου.
7. Τα προετοιμασμένα δοκίμια μπορούν να φυλάσσονται σε θερμοκρασία ≤ -20 °C για έως και 8 εβδομάδες για το πλάσμα πριν από την επεξεργασία.
  - a. Αν τα δείγματα καταψυχθούν, αφήστε τα δείγματα να αποψυχθούν πλήρως σε θερμοκρασία δωματίου (15–30 °C) και στροβιλίστε τα για να παραχθεί ένα ομοιόμορφα κατανεμημένο δείγμα.
  - b. Εφόσον τα κατεψυγμένα δείγματα αποψυχθούν, η εξέταση θα πρέπει να πραγματοποιηθεί εντός 8 ωρών.
  - c. Τα δείγματα πλάσματος δεν θα πρέπει να υποβάλλονται σε περισσότερους από 4 κύκλους κατάψυξης/απόψυξης πριν από τη χρήση.
8. Αν τα δοκίμια αποσταλούν, θα πρέπει να συσκευαστούν και να επισημανθούν σε συμμόρφωση με τους ισχύοντες κρατικούς ή/και διεθνείς κανονισμούς.
9. Επισημαίνετε με σαφήνεια τα δοκίμια και υποδεικνύετε ότι προορίζονται για εξέταση HIV-1.
10. Προχωρήστε στην ενότητα *Προετοιμασία εξέτασης*.

Η συνολική επεξεργασία για την εφαρμογή της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 συνοψίζεται παρακάτω στην *Εικόνα 1*.



Εικόνα 1: Ροή εργασιών εφαρμογής μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

## ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

### Προετοιμασία εξέτασης

- Εφαρμόστε ετικέτα γραμμωτού κωδικού δοκιμίου σε ένα σωληνάριο δοκιμίου που είναι συμβατό με το σύστημα NeuMoDx System. Το κύριο σωληνάριο συλλογής αίματος μπορεί να επισημανθεί και να τοποθετηθεί απευθείας σε έναν φορέα 24 ή 32 σωληναρίων δοκιμίου, μετά από φυγοκέντρηση σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Εναλλακτικά, μπορεί να μεταφερθεί ένα κλάσμα του αίματος σε ένα δευτερεύον σωληνάριο για επεξεργασία στο σύστημα NeuMoDx System.
- Εάν η εξέταση του δοκιμίου πραγματοποιείται στο πρωτογενές σωληνάριο συλλογής, τοποθετήστε το σωληνάριο με ετικέτα γραμμωτού κωδικού σε έναν φορέα σωληναρίων δοκιμίου και βεβαιωθείτε ότι έχετε αφαιρέσει το καπάκι πριν από τη φόρτωση στο σύστημα NeuMoDx System.
- Εάν χρησιμοποιηθεί δευτερεύον σωληνάριο, μεταφέρετε ένα κλάσμα του πλάσματος στο σωληνάριο δοκιμίου με γραμμωτό κωδικό που είναι συμβατό με το σύστημα NeuMoDx System σύμφωνα με τους όγκους που καθορίζονται παρακάτω:
  - Φορέας σωληναρίων δοκιμίου (32 σωληναρίων): διάμετρος 11–14 mm και ύψος 60–120 mm, ελάχιστος όγκος πλήρωσης  $\geq 750 \mu\text{L}$
  - Φορέας σωληναρίων δοκιμίου (24 σωληναρίων): διάμετρος 14,5–18 mm και ύψος 60–120 mm, ελάχιστος όγκος πλήρωσης  $\geq 1200 \mu\text{L}$
  - Φορέας σωληναρίων δοκιμίου χαμηλού όγκου (32 σωληναρίων): Σωληνάριο μικροφυγοκέντρησης με κωνικό πυθμένα και χωρητικότητα 1,5 mL, ελάχιστος όγκος πλήρωσης  $\geq 700 \mu\text{L}$

### Λειτουργία συστήματος NeuMoDx System

Για αναλυτικές οδηγίες, ανατρέξτε στα Εγχειρίδια χρήσης των συστημάτων NeuMoDx 288 και 96 Molecular System (κωδ. Είδους 40600108 και 40600317)

- Συμπληρώστε έναν ή περισσότερους φορείς NeuMoDx System Test Strip με δοκιμαστική(ές) ταινία(ες) NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip και χρησιμοποιήστε την οθόνη αφής για να φορτώσετε τον φορέα/τους φορείς δοκιμαστικών ταινιών στο σύστημα NeuMoDx System.
- Εάν σας ζητηθεί από το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System, προσθέστε τα απαιτούμενα αναλώσιμα στους φορείς αναλωσίμων του συστήματος NeuMoDx System και χρησιμοποιήστε την οθόνη αφής για να φορτώσετε τον φορέα/τους φορείς στο σύστημα NeuMoDx System.

3. Εάν σας ζητηθεί από το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System, αντικαταστήστε τα NeuMoDx Wash Reagent και NeuMoDx Release Reagent και αδειάστε τα απόβλητα πλήρωσης, τον περιέκτη βιολογικά επικίνδυνων αποβλήτων (μόνο στο NeuMoDx 288 Molecular System), τον κάδο χρησιμοποιημένων ρυγχών (μόνο στο NeuMoDx 96 Molecular System) ή τον κάδο βιολογικά επικίνδυνων αποβλήτων (μόνο στο NeuMoDx 96 Molecular System), κατά περίπτωση.
4. Αν ζητηθεί από το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System, υποβάλλετε σε επεξεργασία τους βαθμονομητές NeuMoDx HIV-1 Calibrator [REF 800304] ή/και τους εξωτερικούς μάρτυρες NeuMoDx HIV-1 External Control [REF 900301], ανάλογα με τις απαιτήσεις. Περαιτέρω πληροφορίες σχετικά με τους βαθμονομητές και τους μάρτυρες παρέχονται στην ενότητα *Επεξεργασία αποτελεσμάτων*.
5. Φορτώστε το(α) σωληνάριο(α) δοκιμίου/βαθμονομητή/μάρτυρα σε έναν φορέα σωληναρίων δοκιμίου και διασφαλίστε ότι τα καπάκια έχουν αφαιρεθεί από όλα τα σωληνάρια.
6. Τοποθετήστε τον(τους) φορέα(είς) σωληναρίων δοκιμίου στο ράφι αυτόματης φόρτωσης και χρησιμοποιήστε την οθόνη αφής για να φορτώσετε τον(τους) φορέα(είς) στο σύστημα NeuMoDx System. Με αυτήν την ενέργεια, θα ξεκινήσει η επεξεργασία των δοκιμών που έχουν φορτωθεί για τις προσδιορισμένες εξετάσεις, δεδομένου ότι υπάρχει μια έγκυρη παραγγελία εξέτασης στο σύστημα.

### ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Η ταινία NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο σε συστήματα NeuMoDx Molecular System.
2. Η απόδοση της ταινίας NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip έχει διαπιστωθεί για δοκίμια πλάσματος που προετοιμάζονται από ολικό αίμα το οποίο συλλέγεται με EDTA/ACD ως αντιπηκτικό. Η χρήση της ταινίας NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip με άλλες πηγές δεν έχει αξιολογηθεί και τα χαρακτηριστικά απόδοσης είναι άγνωστα για άλλους τύπους δοκιμίου.
3. Η απόδοση της ταινίας NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip έχει διαπιστωθεί για την εξέταση του κύριου σωληναρίου με τη χρήση σωληναρίων BD Vacutainer Plus Plastic K<sub>2</sub>EDTA Tube και σωληναρίων προετοιμασίας BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube.
4. Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay δεν πρέπει να χρησιμοποιείται με δείγματα από ηπαρισμένους ανθρώπους.
5. Καθώς η ανίχνευση του HIV-1 εξαρτάται από τον αριθμό των ιικών σωματιδίων που υπάρχουν στο δείγμα, η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων εξαρτάται από την ορθή συλλογή, τον ορθό χειρισμό και την ορθή φύλαξη των δοκιμών.
6. Οι βαθμονομητές NeuMoDx HIV-1 Calibrator και οι εξωτερικοί μάρτυρες NeuMoDx HIV-1 External Control πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία όπως συνιστάται στα ένθετα των συσκευασιών όταν ζητείται από το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System πριν από την επεξεργασία κλινικών δειγμάτων ρουτίνας.
7. Εσφαλμένα αποτελέσματα θα μπορούσαν να σημειωθούν λόγω ακατάλληλης συλλογής, ακατάλληλου χειρισμού ή ακατάλληλης φύλαξης δοκιμών, τεχνικού σφάλματος ή σύγχυσης σωληναρίων δοκιμίου. Επιπλέον, θα μπορούσαν να σημειωθούν ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα επειδή ο αριθμός των σωματιδίων του ιού στο δείγμα είναι χαμηλότερος από το όριο ανίχνευσης της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.
8. Ο χειρισμός του συστήματος NeuMoDx System περιορίζεται στη χρήση από προσωπικό καταρτισμένο σχετικά με τη χρήση του συστήματος NeuMoDx System.
9. Αν δεν ενισχυθεί ούτε ο στόχος HIV-1 ούτε ο στόχος SPC2, θα αναφερθεί μη έγκυρο αποτέλεσμα [Indeterminate (Απροσδιόριστο) ή Unresolved (Χωρίς απάντηση)] και η εξέταση θα πρέπει να επαναληφθεί.
10. Αν το αποτέλεσμα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay είναι Positive (Θετικό), αλλά η τιμή ποσοτικοποίησης είναι πέραν των ορίων ποσοτικοποίησης, το σύστημα NeuMoDx System θα αναφέρει αν ο ιός HIV-1 που ανιχνεύτηκε ήταν κάτω από το κατώτατο όριο ποσοτικοποίησης (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ή πάνω από το ανώτατο όριο ποσοτικοποίησης (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
11. Σε περίπτωση που ο ιός HIV-1 που ανιχνεύτηκε ήταν κάτω από το LLoQ, η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay μπορεί να επαναληφθεί (αν αυτό είναι επιθυμητό) με ένα άλλο κλάσμα του δοκιμίου.
12. Σε περίπτωση που ο ιός HIV-1 που ανιχνεύτηκε ήταν πάνω από το ULoQ, η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay μπορεί να επαναληφθεί με ένα αραιωμένο κλάσμα του αρχικού δοκιμίου. Συνιστάται αραιώση 1:100 ή 1:1.000 σε αρνητικό για HIV-1 πλάσμα ή αραιωτικό Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Η συγκέντρωση του αρχικού δοκιμίου μπορεί να υπολογιστεί ως εξής:  

$$\text{αρχική συγκέντρωση δοκιμίου} = \log_{10}(\text{συντελεστής αραιώσης}) + \text{αναφερόμενη συγκέντρωση του αραιωμένου δείγματος}$$
13. Η περιστασιακή παρουσία αναστολέων PCR στο πλάσμα ενδέχεται να προκαλέσει σφάλμα ποσοτικοποίησης στο σύστημα. Αν συμβεί αυτό, συνιστάται η επανάληψη της εξέτασης με το ίδιο δοκίμιο, αραιωμένο μέσα σε Basematrix σε αναλογία 1:10 ή 1:100.
14. Ένα θετικό αποτέλεσμα δεν υποδεικνύει απαραίτητα την παρουσία βιώσιμου HIV-1. Ωστόσο, με ένα θετικό αποτέλεσμα πιθανολογείται ότι υπάρχει RNA του HIV-1.
15. Τυχόν διαγραφές ή μεταλλάξεις στις συντηρημένες περιοχές στις οποίες στοχεύει η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ενδέχεται να επηρεάσουν την ανίχνευση και θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε εσφαλμένο αποτέλεσμα.
16. Τα αποτελέσματα από τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay πρέπει να χρησιμοποιούνται ως συμπλήρωμα στις κλινικές παρατηρήσεις και σε άλλες πληροφορίες που είναι διαθέσιμες στον ιατρό.

17. Συνιστάται η χρήση ορθών εργαστηριακών πρακτικών, συμπεριλαμβανομένης της αλλαγής γαντιών για το χειρισμό διαφορετικών δοκιμών ασθενών, με σκοπό την αποφυγή επιμόλυνσης.

### ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα διαθέσιμα αποτελέσματα μπορούν να προβάλλονται ή να εκτυπώνονται από την καρτέλα «Results» (Αποτελέσματα) στο παράθυρο αποτελεσμάτων Results (Αποτελέσματα) στην οθόνη αφής του συστήματος NeuMoDx System.

Τα αποτελέσματα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay δημιουργούνται αυτόματα από το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System με χρήση του αλγόριθμου απόφασης και των παραμέτρων επεξεργασίας αποτελεσμάτων που προσδιορίζονται στο αρχείο ορισμού της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 (HIV-1 ADF). Ένα αποτέλεσμα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay μπορεί να αναφερθεί ως Negative (Αρνητικό), Positive (Θετικό) με αναφερόμενη συγκέντρωση HIV-1, Positive (Θετικό) άνω του ULQ, Positive (Θετικό) κάτω από το LLoQ, Indeterminate (Απροσδιόριστο) ή Unresolved (Χωρίς απάντηση), βάσει της κατάστασης ενίσχυσης του στόχου και του μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος. Τα αποτελέσματα αναφέρονται με βάση τον αλγόριθμο απόφασης του ADF ο οποίος συνοψίζεται στον Πίνακα 1 παρακάτω.

Πίνακας 1: Σύνοψη αλγορίθμου απόφασης για τη μέθοδο προσδιορισμού HIV-1 Quant Assay

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑ*	Στόχος/οι HIV-1	Μάρτυρας επεξεργασίας δείγματος (SPC2)
<b>Positive (Θετικό) με αναφερόμενη συγκέντρωση</b>	Amplified (Με ενίσχυση), $1,5 \leq [HIV-1] \leq 7,7 \log_{10} IU/mL$	Amplified (Με ενίσχυση) ή Not Amplified (Χωρίς ενίσχυση)
<b>Positive (Θετικό), άνω του ULQ</b>	Amplified (Με ενίσχυση), $[HIV-1] > 7,7 \log_{10} IU/mL$	Amplified (Με ενίσχυση) ή Not Amplified (Χωρίς ενίσχυση)
<b>Positive (Θετικό), κάτω από το LLoQ</b>	Amplified (Με ενίσχυση), $[HIV-1] < 1,5 \log_{10} IU/mL$	Amplified (Με ενίσχυση) ή Not Amplified (Χωρίς ενίσχυση)
<b>Negative (Αρνητικό)</b>	Not Amplified (Χωρίς ενίσχυση)	Amplified (Με ενίσχυση)
<b>Indeterminate (Απροσδιόριστο)</b>	Not Amplified, System Error Detected (Χωρίς ενίσχυση, ανιχνεύτηκε σφάλμα συστήματος)	
<b>Unresolved (Χωρίς απάντηση)</b>	Not Amplified, No System Error Detected (Χωρίς ενίσχυση, Δεν ανιχνεύτηκε σφάλμα συστήματος)	

\*Το εύρος ποσοτικοποίησης της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay προσδιορίστηκε ότι ήταν 1,5 έως 7,7  $\log_{10}$  IU/mL. Ένα POSITIVE (ΘΕΤΙΚΟ) αποτέλεσμα υποδεικνύει ότι ανιχνεύθηκε RNA του HIV-1 και αυτό βοηθά στη διάγνωση της λοίμωξης από τον HIV-1. Ένα NEGATIVE (ΑΡΝΗΤΙΚΟ) αποτέλεσμα υποδεικνύει είτε την απουσία RNA του HIV-1 είτε ότι το ιικό φορτίο ήταν κάτω από το όριο ανίχνευσης. Ψευδώς αρνητικά ή με ψευδώς χαμηλό ιικό φορτίο αποτελέσματα μπορεί να προκύψουν εξαιτίας ακατάλληλης συλλογής ή φύλαξης των δοκιμών. Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων πρέπει να πραγματοποιείται στο πλαίσιο όλων των σχετικών κλινικών και εργαστηριακών ευρημάτων.

### Υπολογισμός εξέτασης

- Για δείγματα εντός του εύρους ποσοτικοποίησης της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, η συγκέντρωση του RNA του HIV-1 στα δείγματα υπολογίζεται με τη χρήση της αποθηκευμένης πρότυπης καμπύλης, σε συνδυασμό με τον συντελεστή βαθμονόμησης.
  - Υπολογίζεται ένας συντελεστής βαθμονόμησης βάσει των αποτελεσμάτων των βαθμονομητών NeuMoDx HIV-1 Calibrator που υποβάλλονται σε επεξεργασία για την καθιέρωση της εγκυρότητας της πρότυπης καμπύλης, για μια δεδομένη παρτίδα της ταινίας NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, σε ένα συγκεκριμένο σύστημα NeuMoDx System.
  - Ο συντελεστής βαθμονόμησης ενσωματώνεται στον τελικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης RNA του HIV-1.
- Τα αποτελέσματα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay αναφέρονται σε  $\log_{10}$  IU/mL. Ο συντελεστής μετατροπής για τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay είναι 0,75 αντίγραφα/IU.
- Η ποσοτικοποίηση που προκύπτει για τα άγνωστα δείγματα μπορεί να ιχνηλατηθεί σύμφωνα με ένα βαθμονομημένο υλικό αναφοράς που λαμβάνεται από το Εθνικό Ινστιτούτο Βιολογικών Προτύπων και Ελέγχου (National Institute for Biological Standards and Control).

### Βαθμονόμηση εξέτασης

Για την ποσοτικοποίηση του RNA του HIV-1 στα δοκίμια, απαιτείται μια έγκυρη βαθμονόμηση βάσει της πρότυπης καμπύλης. Για τη δημιουργία έγκυρων αποτελεσμάτων, πρέπει να ολοκληρωθεί μια βαθμονόμηση εξέτασης με τη χρήση των βαθμονομητών που παρέχονται από τη NeuMoDx Molecular, Inc.

### Βαθμονομητές

- Οι βαθμονομητές NeuMoDx HIV-1 Calibrator [REF 800304] περιέχουν μη μολυσματικό, εγκλωβισμένο στόχο HIV-1, προετοιμασμένο μέσα σε Basematrix.
- Ένα σετ βαθμονομητών HIV-1 πρέπει να υποβάλλεται σε επεξεργασία με κάθε νέα παρτίδα ταινιών NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, αν φορτωθεί νέο αρχείο ορισμού της μεθόδου προσδιορισμού HIV-1 στο σύστημα NeuMoDx System, αν παρέλθει η περίοδος εγκυρότητας του τρέχοντος σετ βαθμονομητών (επί του παρόντος ρυθμισμένη στις 90 ημέρες) ή αν το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System τροποποιηθεί.

3. Το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System θα ειδοποιεί τον χρήστη για τον ενδεδειγμένο χρόνο επεξεργασίας των βαθμονομητών. Μια νέα παρτίδα δοκιμαστικών ταινιών δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για εξέταση έως ότου υποβληθούν επιτυχώς σε επεξεργασία οι βαθμονομητές.
4. Η εγκυρότητα της βαθμονόμησης καθορίζεται ως εξής:
  - a) Για να καθοριστεί η εγκυρότητα πρέπει να υποβληθεί σε επεξεργασία ένα σετ δύο βαθμονομητών – ενός (1) υψηλού και ενός (1) χαμηλού.
  - b) Τουλάχιστον δύο (2) από τα τρία (3) αντίγραφα πρέπει να παρέχουν αποτελέσματα εντός προκαθορισμένων παραμέτρων. Ο ονομαστικός στόχος του βαθμονομητή χαμηλού επιπέδου είναι  $3 \log_{10}$  IU/mL και ο ονομαστικός στόχος του βαθμονομητή υψηλού επιπέδου είναι  $5 \log_{10}$  IU/mL.
  - c) Υπολογίζεται ένας συντελεστής βαθμονόμησης ώστε να ληφθεί υπόψη η αναμενόμενη διακύμανση μεταξύ των παρτίδων των δοκιμαστικών ταινιών. Αυτός ο συντελεστής βαθμονόμησης χρησιμοποιείται κατά τον προσδιορισμό της τελικής συγκέντρωσης του HIV-1.
5. Αν ο ένας ή και οι δύο βαθμονομητές αποτύχουν στον έλεγχο εγκυρότητας, επαναλάβετε την επεξεργασία του ή των αποτυχημένων βαθμονομητών χρησιμοποιώντας νέο φιαλίδιο. Σε περίπτωση που ένας βαθμονομητής αποτύχει στον έλεγχο εγκυρότητας, παρέχεται η δυνατότητα επανάληψης μόνο του αποτυχημένου βαθμονομητή, καθώς το σύστημα δεν απαιτεί από τον χρήστη να εκτελέσει και τους δύο βαθμονομητές ξανά.
6. Αν ένας ή περισσότεροι βαθμονομητές αποτύχουν στον έλεγχο εγκυρότητας για διαδοχικές φορές, επικοινωνήστε με τη NeuMoDx Molecular, Inc.

### Ποιοτικός έλεγχος

Οι κατά τόπους κανονισμοί ορίζουν συνήθως ότι το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τις διαδικασίες ελέγχου με τις οποίες παρακολουθούνται η ορθότητα και η ακρίβεια ολόκληρης της αναλυτικής διαδικασίας, καθώς και ότι το εργαστήριο πρέπει να καθορίζει τον αριθμό, τον τύπο και τη συχνότητα ελέγχου των υλικών μαρτύρων χρησιμοποιώντας επαληθευμένες προδιαγραφές απόδοσης για ένα μη τροποποιημένο, εγκεκριμένο σύστημα εξέτασης.

### Εξωτερικοί μάρτυρες

1. Οι εξωτερικοί μάρτυρες NeuMoDx HIV-1 External Control [REF 900301] περιέχουν θετικούς μάρτυρες μη μολυσματικού, εγκλωβισμένου στόχου HIV-1, προετοιμασμένου μέσα σε Basematrix και αρνητικούς μάρτυρες που απαρτίζονται από Basematrix μόνο.
2. Οι θετικοί και οι αρνητικοί εξωτερικοί μάρτυρες πρέπει να υποβάλλονται σε επεξεργασία κάθε 24 ώρες σε όλη τη διάρκεια της εξέτασης με τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay. Αν δεν υπάρχει σετ έγκυρων αποτελεσμάτων εξωτερικών μαρτύρων, το λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System θα ζητήσει από τον χρήστη να υποβληθούν σε επεξεργασία οι μάρτυρες για να μπορέσουν να αναφερθούν αποτελέσματα δειγμάτων.
3. Η εγκυρότητα των εξωτερικών μαρτύρων θα αξιολογείται από το σύστημα NeuMoDx System βάσει του αναμενόμενου αποτελέσματος. Ο θετικός μάρτυρας θα πρέπει να παρέχει ένα αποτέλεσμα Positive (Θετικό) για HIV-1 και ο αρνητικός μάρτυρας θα πρέπει να παρέχει ένα αποτέλεσμα Negative (Αρνητικό) για HIV-1.
4. Ο χειρισμός των ασύμφωνων αποτελεσμάτων για εξωτερικούς μάρτυρες θα πρέπει να εκτελείται ως εξής:
  - a) Ένα Positive (Θετικό) αποτέλεσμα εξέτασης που αναφέρεται για ένα δείγμα αρνητικού μάρτυρα υποδεικνύει πρόβλημα επιμόλυνσης του δοκιμίου.
  - b) Ένα Negative (Αρνητικό) αποτέλεσμα εξέτασης που αναφέρεται για ένα δείγμα θετικού μάρτυρα μπορεί να υποδεικνύει ότι υπάρχει πρόβλημα που σχετίζεται με ένα αντιδραστήριο ή με το όργανο.
  - c) Σε οποιαδήποτε από τις παραπάνω περιπτώσεις, ή στην περίπτωση απροσδιόριστου (indeterminate, IND) αποτελέσματος, επαναλάβετε τους εξωτερικούς μάρτυρες NeuMoDx HIV-1 External Control με φρέσκα φιαλίδια του μάρτυρα/των μαρτύρων που απέτυχε/-αν στην εξέταση εγκυρότητας.
  - d) Αν ο εξωτερικός θετικός μάρτυρας NeuMoDx HIV-1 External Control συνεχίζει να αναφέρει Negative (Αρνητικό) αποτέλεσμα, επικοινωνήστε με την τεχνική υπηρεσία της NeuMoDx.
  - e) Αν ο εξωτερικός αρνητικός μάρτυρας NeuMoDx HIV-1 External Control συνεχίζει να αναφέρει Positive (Θετικό) αποτέλεσμα, επιχειρήστε να εξαλείψετε όλες τις πηγές δυνητικής επιμόλυνσης, συμπεριλαμβανομένης της αντικατάστασης όλων των αντιδραστηρίων, προτού επικοινωνήσετε με την τεχνική υπηρεσία της NeuMoDx.

### (Εσωτερικοί) μάρτυρες επεξεργασίας δείγματος

Στην πλάκα NeuMoDx Extraction Plate είναι ενσωματωμένος ένας εξωγενής μάρτυρας επεξεργασίας δείγματος (Sample Process Control, SPC2) ο οποίος υποβάλλεται σε ολόκληρη τη διαδικασία εκχύλισης νουκλεϊκού οξέος και ενίσχυσης RT-PCR πραγματικού χρόνου με κάθε δείγμα. Εκκινητές και ανιχνευτές συγκεκριμένα για τον μάρτυρα SPC2 περιλαμβάνονται επίσης σε κάθε ταινία NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, γεγονός που επιτρέπει την ανίχνευση του SPC2 μαζί με το RNA του στόχου HIV-1 (αν υπάρχει) μέσω RT-PCR πολυπλεξίας. Η ανίχνευση ενίσχυσης SPC2 επιτρέπει στο λογισμικό του συστήματος NeuMoDx System να παρακολουθεί την αποτελεσματικότητα των διαδικασιών εκχύλισης RNA και ενίσχυσης RT-PCR.

### Μη έγκυρα αποτελέσματα

Αν μια μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay που εκτελείται στο σύστημα NeuMoDx System δεν κατορθώσει να οδηγήσει σε έγκυρο αποτέλεσμα, αυτό θα αναφερθεί είτε ως Indeterminate -IND- (Απροσδιόριστο) είτε ως Unresolved -UNR- (Χωρίς απάντηση) βάσει του τύπου του σφάλματος που σημειώνεται.



Αν ανιχνευτεί σφάλμα του συστήματος NeuMoDx System κατά την επεξεργασία του δείγματος, θα αναφερθεί αποτέλεσμα IND (Απροσδιόριστο). Σε περίπτωση που αναφερθεί αποτέλεσμα IND (Απροσδιόριστο), συνιστάται η επανεξέταση.

Αποτέλεσμα UNR (Χωρίς απάντηση) θα αναφέρεται αν δεν ανιχνευτεί έγκυρη ενίσχυση RNA HIV-1 ή SPC2, γεγονός που υποδεικνύει πιθανή αστοχία του αντιδραστηρίου ή παρουσία αναστολέων. Αν αναφερθεί αποτέλεσμα UNR (Χωρίς απάντηση), ως πρώτο βήμα συνιστάται η επανεξέταση. Αν η επανεξέταση αποτύχει, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια αραιώση του δοκιμίου για μετρίασμό των επιδράσεων τυχόν αναστολής του δείγματος.

### ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

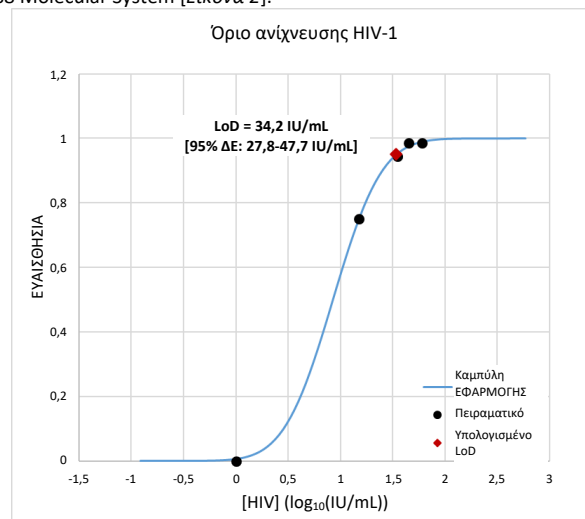
#### Αναλυτική ευαισθησία – Όριο ανίχνευσης

Η αναλυτική ευαισθησία της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay χαρακτηρίστηκε μέσω εξέτασης μιας σειράς αραιώσεων που μπορεί να ιχνηλατηθεί σύμφωνα με το 3<sup>ο</sup> Διεθνές Πρότυπο του ΠΟΥ για τον HIV-1 σε ελεγμένο αρνητικό για RNA του HIV-1 πλάσμα με EDTA, ώστε να προσδιοριστεί το όριο ανίχνευσης (Limit of Detection - LoD) στα συστήματα NeuMoDx System. Το LoD ορίζεται ως το χαμηλότερο επίπεδο στόχου που ανιχνεύεται σε ποσοστό  $\geq 95\%$ , όπως προσδιορίστηκε μέσω ανάλυσης τύπου probit. Η μελέτη εκτελέστηκε επί τρεις (3) ημέρες με τη χρήση πολλαπλών συστημάτων, χειριστών, εκτελέσεων και παρτίδων των αντιδραστηρίων NeuMoDx HIV-1 Quant Assay. Σε κάθε σύστημα υποβλήθηκαν σε επεξεργασία 12 αντίγραφα σε κάθε επίπεδο αραιώσης ανά ημέρα. Τα ποσοστά ανίχνευσης απεικονίζονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2: Ποσοστά ανίχνευσης θετικού για προσδιορισμό του LoD της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Στοχευόμενη συγκέντρωση (IU/mL)	Στοχευόμενη συγκέντρωση ( $\log_{10}$ IU/mL)	Αριθμός έγκυρων εξετάσεων	Αριθμός θετικών	Ποσοστό ανίχνευσης (%)
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%

Μέσω ανάλυσης τύπου probit, το LoD της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay στο πλάσμα σε όλους τους γονότυπους προσδιορίστηκε ότι ήταν **34,2 IU/mL (1,5  $\log_{10}$  IU/mL)** με διάστημα εμπιστοσύνης 95% ( $\Delta\epsilon$ ) 27,8 έως 47,7 IU/mL (1,4-1,7  $\log_{10}$  IU/mL) όπως εξετάστηκε στο σύστημα NeuMoDx 288 Molecular System [Εικόνα 2].



Εικόνα 2: Προσδιορισμός ορίου ανίχνευσης της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay μέσω ανάλυσης τύπου probit

#### Αναλυτική ευαισθησία – Κατώτατο όριο ποσοτικοποίησης

Το κατώτατο όριο ποσοτικοποίησης (Lower Limit of Quantitation - LLoQ) ορίζεται ως το χαμηλότερο επίπεδο στόχου στο οποίο επιτυγχάνεται ανίχνευση  $> 95\%$  και το συνολικό αναλυτικό σφάλμα (ΣΑΣ) είναι  $\leq 1$ . Για να προσδιοριστεί το LLoQ, υπολογίστηκε το συνολικό αναλυτικό σφάλμα (ΣΑΣ) για καθένα από τα επίπεδα στόχου HIV-1 στο πλαίσιο του υπολογισμού του LoD. Το ΣΑΣ ορίζεται ως εξής:

$$\text{ΣΑΣ} = \text{συστηματικό σφάλμα} + 2 \cdot \text{TA} \quad (\text{Westgard Statistic})$$

όπου

Το **συστηματικό σφάλμα** είναι η απόλυτη τιμή της διαφοράς μεταξύ του μέσου όρου της υπολογισμένης συγκέντρωσης και της αναμενόμενης συγκέντρωσης

Το ακρωνύμιο **TA** υποδηλώνει την τυπική απόκλιση της ποσοτικοποιημένης τιμής του δείγματος

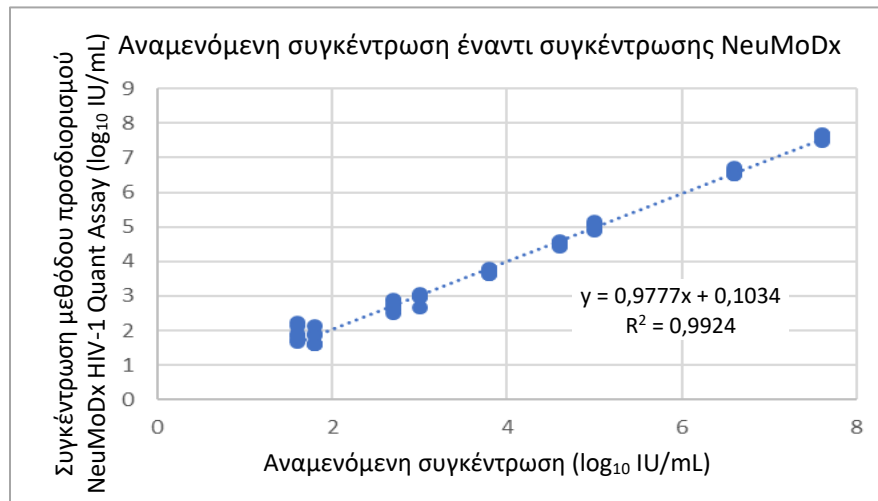
Τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα για τα τέσσερα (4) επίπεδα δοκιμών πλάσματος HIV-1 που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη LLoQ με χρήση του υποτύπου B εμφανίζονται στον Πίνακα 3. Επειδή το υπολογισμένο ΣΑΣ ήταν  $\leq 1$  σε επίπεδα HIV-1 κάτω από το LoD, η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay κατέδειξε κατώτατο όριο ποσοτικοποίησης ισοδύναμο με το όριο ανίχνευσης: **34,2 IU/mL** (95% ΔΕ 27,8-47,7 IU/mL) ή **1.5 log<sub>10</sub> IU/mL** (95% ΔΕ 1,4-1,7 log<sub>10</sub> IU/mL).

Πίνακας 3: LLoQ της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay με συστηματικό σφάλμα και ΣΑΣ

Στοχευόμεν η συγκ. (IU/mL)	Στοχευόμενη συγκ. (log <sub>10</sub> IU/mL)	Μέση συγκ. (log <sub>10</sub> IU/mL)	Ανίχνευση (%)	TA	Συστηματικ ό σφάλμα	ΣΑΣ
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

### Αναλυτική ευαισθησία – Γραμμικότητα και προσδιορισμός ανώτατου ορίου ποσοτικοποίησης

Η γραμμικότητα και το ανώτατο όριο ποσοτικοποίησης (Upper Limit of Quantitation - ULQ) της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay προσδιορίστηκαν με την προετοιμασία μιας σειράς αραιώσεων του HIV-1 που προήλθε από το πρόγραμμα External Quality Assurance Program Oversight Laboratory (Duke University, NC, USA), τον μάρτυρα AccuPlex™ Recombinant HIV/HCV Control (Seracare, MA, USA) και το αντιδραστήριο HIV-1 RNA Working Reagent 2 για τις δοκιμασίες NAT Assays (NIBSC). Προετοιμάστηκε μια σειρά εξετάσεων εννέα μελών μέσα σε συγκεντρωμένο, αρνητικό για RNA του HIV-1 πλάσμα με EDTA, ώστε να καλυφθεί ένα εύρος συγκέντρωσης 7,70–1,70 log<sub>10</sub> IU/mL. Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay κατέδειξε τη δυνατότητα ποσοτικοποίησης του HIV-1 στο γραμμικό εύρος 6 log<sub>10</sub> με ακρίβεια  $\pm 0,33$  log<sub>10</sub> IU/mL, βάσει του τυπικού σφάλματος όπως υπολογίζεται μέσω του διαστήματος εμπιστοσύνης 95%. Δεν εξασφαλίστηκε κανένα σημαντικό όφελος με τη χρήση προσαρμογών παλινδρόμησης 2<sup>ης</sup> και 3<sup>ης</sup> τάξης. Το ULQ προσδιορίστηκε με χρήση των δεδομένων από αυτήν τη μελέτη ότι ήταν **7,7 log<sub>10</sub> IU/mL**. Οι συγκεντρώσεις της μεθόδου προσδιορισμού HIV-1 που αναφέρθηκαν από το σύστημα NeuMoDx System σε σύγκριση με τις αναμενόμενες τιμές παρουσιάζονται στην *Εικόνα 3*.



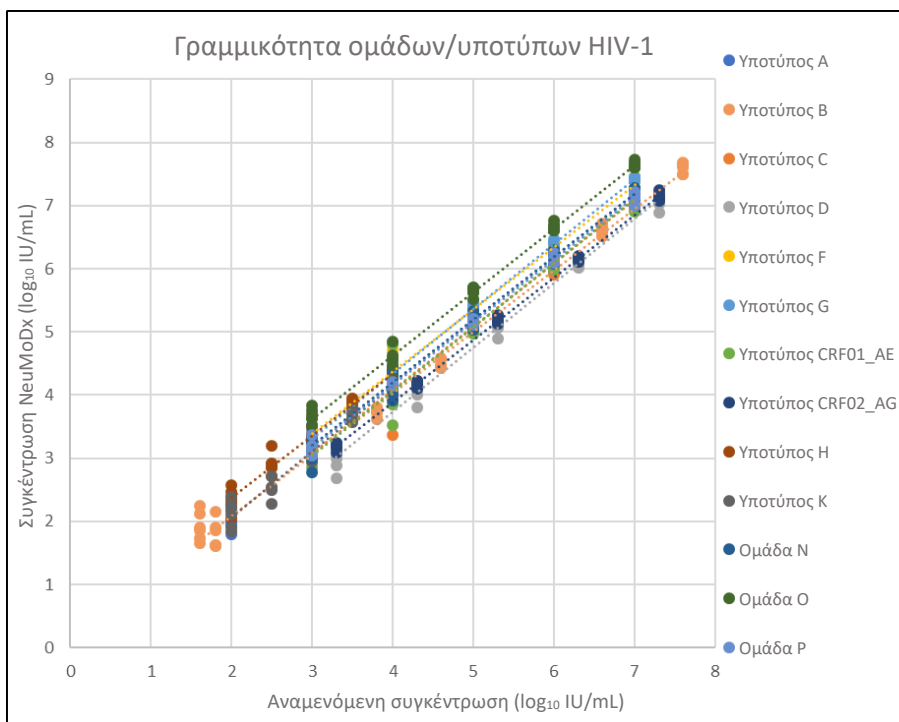
Εικόνα 3: Γραμμικό εύρος της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

### Αναλυτική ευαισθησία – Γραμμικότητα μεταξύ γονότυπων

Η γραμμικότητα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay μεταξύ των ομάδων του HIV-1 M (υποτύποι A, B, C, D, F, G, H, K, CRF01\_AE, CRF02\_AG), N, O και P χαρακτηρίστηκε με την εξέταση τουλάχιστον πέντε (5) διαφορετικών συγκεντρώσεων κάθε ομάδας/υποτύπου του HIV-1 που προετοιμάστηκαν σε συγκεντρωμένο αρνητικό για RNA του HIV-1 πλάσμα με EDTA. Τα επίπεδα του στόχου HIV-1 που εξετάστηκαν και χρησιμοποιήθηκαν σε αυτήν τη μελέτη εξαρτήθηκαν από τη συγκέντρωση του δοκιμίου προέλευσης και, ως εκ τούτου, διέφεραν μεταξύ των ομάδων/υποτύπων. Η μελέτη εκτελέστηκε με κάθε ομάδα/υποτύπο με τη χρήση έξι (6) αντιγράφων σε κάθε επίπεδο. Καταδείχθηκε γραμμικότητα μεταξύ των ευρών που εξετάστηκαν και παρουσιάζεται στον Πίνακα 4 και την *Εικόνα 4*.

**Πίνακας 4:** Γραμμικότητα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay μεταξύ των ομάδων M, N, O και P

Ομάδα	Υποτύπος	Εξίσωση γραμμικότητας	
		$y = \text{Ποσοτικοποίηση μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay (log}_{10} \text{ IU/mL)}$	$x = \text{Αναμενόμενη ποσοτικοποίηση (log}_{10} \text{ IU/mL)}$
M	A	$y = 1,0217x - 0,008$	0,9953
	B	$y = 0,9715x + 0,1442$	0,9933
	C	$y = 1,0055x + 0,0658$	0,9879
	D	$y = 1,0203x - 0,3554$	0,9941
	F	$y = 0,9872x + 0,4278$	0,9955
	G	$y = 1,0282x + 0,2223$	0,9970
	CRF01_AE	$y = 1,0163x - 0,0053$	0,9824
	CRF02_AG	$y = 0,99x - 0,0783$	0,9989
	H	$y = 0,9803x + 0,4187$	0,9730
	K	$y = 1,0441x - 0,0223$	0,9684
N		$y = 0,996x + 0,2117$	0,9876
O		$y = 1,0043x + 0,6167$	0,9942
P		$y = 0,9927x + 0,1903$	0,9974


**Εικόνα 4:** Γραμμικότητα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay μεταξύ υποτύπων

### Ειδικότητα ανάλυσης – Δυνητικά παρεμβαλλόμενοι μικροβιακοί επιμολυντές

Η ειδικότητα ανάλυσης της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay αξιολογήθηκε με την εξέταση μιας σειράς μικροοργανισμών (Πίνακας 5) που προετοιμάστηκαν σε αρνητικό για RNA του HIV-1 πλάσμα με EDTA σε υψηλές συγκεντρώσεις για διασταυρούμενη αντιδραστικότητα. Η δυνητική παρεμβολή αξιολογήθηκε με τη χρήση της ίδιας σειράς μικροοργανισμών που προετοιμάστηκαν σε πλάσμα με EDTA και ενοφθαλμίστηκαν με HIV-1 σε  $2,02 \log_{10} \text{ IU/mL}$ . Δεν παρατηρήθηκε διασταυρούμενη αντιδραστικότητα, ενώ όλα τα αρνητικά για HIV-1 δείγματα απέδωσαν αρνητικά αποτελέσματα. Όλα τα θετικά για HIV-1 μικροβιακά δείγματα έδωσαν θετικά αποτελέσματα, ενώ καμία σημαντική παρεμβολή δεν παρατηρήθηκε σε αυτά τα δείγματα όπως τεκμηριώνεται από την ελάχιστη απόκλιση στην αναφερόμενη ποσοτικοποίηση του HIV-1 από δοκίμια μαρτύρων που δεν περιείχαν δυνητικά παρεμβαλλόμενους μικροοργανισμούς. Περαιτέρω δυνητική διασταυρούμενη αντιδραστικότητα αξιολογήθηκε μέσω σύγκρισης νουκλεοτιδικών αλληλουχιών των στοχευόμενων αλληλουχιών στη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HIV Quant Assay με τα πλήρη γονιδιώματα 26 πρόσθετων παθογόνων (Πίνακας 6) με χρήση του βασικού εργαλείου αναζήτησης τοπικής ευθυγράμμισης (Basic Local Alignment Search Tool, BLASTn) που διατίθεται από το Εθνικό Κέντρο Βιοτεχνολογικής Πληροφόρησης (National Center for Biotechnology Information, NCBI). Η συγκριτική ανάλυση των αλληλουχιών δεν έδειξε καμία αναλογία μεταξύ των στοχευόμενων αλληλουχιών και των γονιδιωμάτων που εξετάστηκαν.

**Πίνακας 5:** Παθογόνα που εξετάστηκαν για ειδικότητα ανάλυσης

Δυνητικά παρεμβαλλόμενος μικροοργανισμός
Ιός της ηπατίτιδας Α
Ιός της ηπατίτιδας Β
Ιός της ηπατίτιδας C
Ανθρώπινος ιός της λευκαϊμίας των Τ-κυττάρων τύπου 1 (HTLV-1)
Ανθρώπινος ιός της λευκαϊμίας των Τ-κυττάρων τύπου 2 (HTLV-2)
Ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας τύπου 2 (HIV-2)
Ιός ανοσοανεπάρκειας του πιθήκου (Simian immunodeficiency virus, SIV)
Ιός Epstein-Barr

**Πίνακας 6:** Μικροοργανισμοί που περιλαμβάνονται στην ανάλυση ευθυγράμμισης αλληλουχιών BLASTn

Μικροοργανισμός	Αριθμός(οί) εισαγωγής	Μικροοργανισμός	Αριθμός(οί) εισαγωγής
Αδενοϊός τύπου 12	X73487.1	Ανθρώπινος ερπητοϊός τύπου 5	GQ221974.1 KR534211.1 GQ221975.1 NC_006273.2
Πολυομαϊός ΒΚ	AB369101.1 NC_001538.1 AB369092.1	Ανθρώπινος ερπητοϊός τύπου 7	AF037218.1 NC_001716.2
<i>Chlamydia trachomatis</i>	CP018052.1 CP017731.1	Ανθρώπινος ερπητοϊός τύπου 8	NC_009333.1
<i>Cutibacterium acnes</i>	NZ_CP006032.1	Ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων τύπου 18	NC_001357.1 MF288723.1
Ιός Δάγγειου πυρετού	KR919821.1 KR052012.1	Ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων τύπου 16	KY549222.1 KY549321.1
Ιός του απλού έρπητα τύπου 2	Z86099.2	Ανθρώπινος παρβοϊός Β19	KX752821.1 MH201456.1
Ανθρώπινος αδενοϊός τύπου 2	J01917.1 AC_000007.1	Ιός της γρίπης τύπου Α (όλα τα τμήματα)	MN253846.1 MH797924.1 MH842686.1 MN037420.1
Ανθρώπινος αδενοϊός τύπου 5	KX868466.2 AC_000008.1 AY601635.1	Ιός JC	J02226.1 AB081030.1
Ανθρώπινος αδενοϊός τύπου C	AY339865.1	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	CP034022.1 CP041586.1
Ανθρώπινος βήτα-ερπητοϊός 6Α	NC_001664.4 X83413.2	<i>Propionibacterium acnes</i> C1	CP003877.1
Ανθρώπινος ερπητοϊός τύπου 1	X14112.1 JQ780693.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	AP017922.1
Ανθρώπινος ερπητοϊός τύπου 2	LT797626.1 JN561323.2	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	AP008934.1
Ανθρώπινος ερπητοϊός τύπου 3	DQ479962.1 KC847290.1	Ιός δυτικού Νείλου	M12294.2 MF797870.1

### Ειδικότητα ανάλυσης – Δυνητικά παρεμβαλλόμενες ενδογενείς και εξωγενείς ουσίες

Η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay αξιολογήθηκε ως προς την ευαισθησία σε παρεμβολή από φάρμακα που συνταγογραφούνται συνήθως σε άτομα που έχουν μολυνθεί από τον HIV-1, από αυξημένα επίπεδα ενδογενών ουσιών και από την παρουσία αυτοάνοσων νοσημάτων. Ελεγμένο αρνητικό για RNA του HIV-1 πλάσμα με EDTA ενοφθαλμίστηκε με 3 log<sub>10</sub> IU/mL HIV-1 και με λευκωματίνη (120 mg/mL), χολερυθρίνη (0,03 mg/mL), αιμοσφαιρίνη (3,5 mg/mL), τριγλυκερίδια (5,3 mg/mL) και φαρμακευτικές ενώσεις (Πίνακας 7) σε συγκεντρώσεις τριπλάσιες από την C<sub>max</sub>. Πλάσμα σε κατάσταση νόσου για συστηματικό ερυθματώδη λύκο (ΣΕΛ), αντιυπερνηκικά αντισώματα (Antinuclear Antibody - ANA) και ρευματοειδή αρθρίτιδα (RA) παρομοίως ελέγχθηκε αρνητικό και ενοφθαλμίστηκε με 3 log<sub>10</sub> IU/mL HIV-1 για να εξεταστεί. Δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική παρεμβολή. Τα αποτελέσματα της μελέτης συνοψίζονται στον Πίνακα 8.

Πίνακας 7: Φαρμακευτικές ενώσεις που εξετάστηκαν για παρεμβολή

Ταξινόμηση φαρμάκου	Όνομα φαρμάκου
Ανοσορυθμιστής	Ιντερφερόνη άλφα-2α, ιντερφερόνη άλφα-2b, ριμπαβιρίνη
Ανταγωνιστής CCR5	Μαραβιρόκη
Φαρμακοκινητικός ενισχυτής	Κομπισιστάτη
Μη νουκλεοσιδικός αναστολέας αντίστροφης τρανσκριπτάσης (Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor - NNRTI)	Δοραβιρίνη, εφαβιρένζη, νεβιραπίνη, ριλπιβιρίνη
Αναστολέας πρωτεάσης (Protease Inhibitor - PI)	Δαρουναβίρη, αμπρεναβίρη, ριτοναβίρη, σακίναβίρη, σιμπεπρεβίρη
Νουκλεοσιδικός αναστολέας αντίστροφης τρανσκριπτάσης (Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor - NRTI) ή αναστολέας DNA πολυμεράσης	Σιδοφοβίρη, λαμιβουδίνη, γκανασικλοβίρη, τενοφοβίρη δισοπρόξιλη, ζιδοβουδίνη, βαλγκανσυκλοβίρη, θειική αβακαβίρη, εμτρισταβίνη, εντεκαβίρη, φוסκαρνέτη, σοφοσμπουβίρη
Αναστολέας ιντεγκράσης	Ραλτεγκραβίρη, ντολουτεγκραβίρη
Αναστολέας σύντηξης	Ενφουβιρίτιδη
Θεραπεία ευκαιριακών λομώξεων	Αζιθρομυκίνη, κλαριθρομυκίνη, φλουκοναζόλη, σουλφαμεθοξαζόλη, τριμεθοπρίμη

Πίνακας 8: Σύνοψη εξετάσεων παρεμβολής - Εξωγενείς και ενδογενείς παράγοντες

Ενδογενείς	Μέση τιμή [HIV-1] (log <sub>10</sub> IU/mL)	Συστηματικό σφάλμα (log <sub>10</sub> IU/mL)
Λευκωματίνη	3,03	-0,11
Χολερυθρίνη	3,04	-0,09
Αιμοσφαιρίνη	3,04	-0,09
Τριγλυκερίδια	3,14	0,01
Εξωγενείς (φάρμακα)	Μέση τιμή [HIV-1] (log <sub>10</sub> IU/mL)	Συστηματικό σφάλμα (log <sub>10</sub> IU/mL)
Ομάδα 1: Ιντερφερόνη άλφα-2α, ιντερφερόνη άλφα-2b, ριμπαβιρίνη, μαραβιρόκη, κομπισιστάτη	3,06	-0,07
Ομάδα 2: Ραλτεγκραβίρη, ντολουτεγκραβίρη, εφαβιρένζη, νεβιραπίνη, ριλπιβιρίνη	3,04	-0,09
Ομάδα 3: Δοραβιρίνη, δαρουναβίρη, αμπρεναβίρη, ριτοναβίρη, σακίναβίρη	3,11	-0,02
Ομάδα 4: Σιμπεπρεβίρη, ενφουβιρίτιδη, θειική αβακαβίρη, εμτρισταβίνη, εντεκαβίρη, φוסκαρνέτη	3,12	-0,01
Ομάδα 5: Σιδοφοβίρη, λαμιβουδίνη, γκανασικλοβίρη, τενοφοβίρη δισοπρόξιλη, ζιδοβουδίνη, βαλγκανσυκλοβίρη	3,14	0,01
Ομάδα 6: Σοφοσμπουβίρη, αζιθρομυκίνη, κλαριθρομυκίνη, φλουκοναζόλη, σουλφαμεθοξαζόλη, τριμεθοπρίμη	3,13	0
Κατάσταση νόσου	Μέση τιμή [HIV-1] (log <sub>10</sub> IU/mL)	Συστηματικό σφάλμα (log <sub>10</sub> IU/mL)
Συστηματικός ερυθματώδης λύκος (ΣΕΛ)	3,00	-0,13
Αντιυπερνηκικό αντίσωμα (Antinuclear Antibody, ANA)	3,10	-0,03
Ρευματοειδής αρθρίτιδα (RA)	3,25	0,12

### Ακρίβεια

Η ακρίβεια της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay προσδιορίστηκε με την εξέταση μιας σειράς τεσσάρων μελών δειγμάτων HIV-1 που προετοιμάστηκαν σε αρνητικό για HIV-1 πλάσμα [συμπεριλαμβανομένων αμφοτέρων υποτύπου B και ομάδας O του HIV-1 από το πρόγραμμα External Quality Assurance Program Oversight Laboratory (EQAPOL) του Duke University] σε τρία (3) συστήματα NeuMoDx Systems σε έξι (6) ημέρες. Διενεργήθηκαν συνολικά 12 εκτελέσεις σε κάθε σύστημα για κάθε επίπεδο δείγματος, που οδήγησαν σε 216 αντίγραφα ανά επίπεδο σε όλο το εύρος της εξέτασης. Χαρακτηρίστηκαν οι ακρίβειες στο πλαίσιο της εκτέλεσης, στο πλαίσιο της ημέρας και στο πλαίσιο του συστήματος, και η συνολική τυπική απόκλιση προσδιορίστηκε ότι ήταν  $\leq 0,15 \log_{10}$  IU/mL. Δεν διαπιστώθηκε καμία σημαντική διαφορά στην απόδοση μεταξύ συστημάτων, ημερών ή εκτελέσεων, όπως φαίνεται στον Πίνακα 9. Η ακρίβεια μεταξύ χειριστών δεν χαρακτηρίστηκε, καθώς ο χειριστής δεν διαδραματίζει κανένα σημαντικό ρόλο στην επεξεργασία των δειγμάτων με τη χρήση του συστήματος NeuMoDx System.

**Πίνακας 9:** Ενδοεργαστηριακή ακρίβεια – Μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay σε συστήματα NeuMoDx System

	Στοχευόμενη συγκ. ( $\log_{10}$ IU/mL)	Μέση συγκ. ( $\log_{10}$ IU/mL)	ΤΑ στο πλαίσιο του συστήματος	ΤΑ στο πλαίσιο της ημέρας	ΤΑ στο πλαίσιο της εκτέλεσης	Ενδοεργαστηριακή (Συνολική) ΤΑ
Υποτύπος 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
Ομάδα 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

### Διακύμανση μεταξύ παρτίδων

Η αναπαραγωγιμότητα μεταξύ παρτίδων της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay επαληθεύτηκε με αναδρομική ανάλυση δεδομένων εξετάσεων ποιότητας για τρεις (3) διακριτές παρτίδες κρίσιμων αντιδραστηρίων. Τα δεδομένα αυτά προέκυψαν από λειτουργικές εξετάσεις που διεξήχθησαν στα αντιδραστήρια σε μια σειρά τριών μελών του στόχου HIV (μάρτυρας AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) σε αρνητικό για RNA του HIV-1 πλάσμα, μαζί με αρνητικά δείγματα πλάσματος. Συνολικά, υποβλήθηκαν σε επεξεργασία 18 θετικά και 14 αρνητικά αντίγραφα ανά παρτίδα ταινίας NeuMoDx HIV-1 Test Strip. Η διακύμανση στο πλαίσιο κάθε παρτίδας και μεταξύ παρτίδων αναλύθηκε και παρουσιάζεται στον Πίνακα 10. Το συνολικό απόλυτο συστηματικό σφάλμα δεν υπερέβη την τιμή  $0,14 \log_{10}$  IU/mL και η συνολική τυπική απόκλιση έπεσε κάτω από  $0,25 \log_{10}$  IU/mL. Δεν διαπιστώθηκε καμία σημαντική διαφορά στην απόδοση μεταξύ των παρτίδων, καθώς η ποσοτικοποίηση όλων των μελών της σειράς εξετάσεων ήταν εντός των προδιαγραφών ανοχής.

**Πίνακας 10:** Αναπαραγωγιμότητα μεταξύ παρτίδων – Μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Στοχευόμενη συγκ. ( $\log_{10}$ IU/mL)	Μέση συγκ. Συνολικά ( $\log_{10}$ IU/mL)	Αριθμός έγκυρων εξετάσεων	[Συστηματικό σφάλμα] ( $\log_{10}$ IU/mL)	ΤΑ μεταξύ παρτίδων	ΤΑ στο πλαίσιο της παρτίδας	Συνολική ΤΑ
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

### Αποτελεσματικότητα μάρτυρα

Ο μάρτυρας επεξεργασίας δείγματος (Sample Process Control, SPC2) περιλαμβάνεται στη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay για την αναφορά αστοχιών επεξεργασίας ή/και ενίσχυσης. Η αποτελεσματικότητα αυτού του εσωτερικού μάρτυρα εξετάστηκε στην ανάλογη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HCV Quant Assay υπό συνθήκες αντιπροσωπευτικές κρίσιμων αστοχιών βημάτων επεξεργασίας που θα μπορούσαν δυνητικά να σημειωθούν κατά την επεξεργασία των δειγμάτων και οι οποίες ενδέχεται να μην ανιχνευτούν από τους αισθητήρες παρακολούθησης της απόδοσης του συστήματος NeuMoDx System. Μέτρια θετικά και αρνητικά δείγματα εκτελέστηκαν για να τεθεί σε πρόκληση ο εσωτερικός μάρτυρας παρουσία αναστολέων της αντίδρασης, χωρίς παροχή αντιδραστηρίου NeuMoDx Wash Reagent και χωρίς πλύση με εκφόρση. Οι συνθήκες που είχαν αρνητική επίδραση στην ανίχνευση του στόχου αντικατοπτρίστηκαν παρομοίως στην ανίχνευση του SPC2 και συνοψίζονται παρακάτω στον Πίνακα 11. Όλα τα σενάρια που εξετάστηκαν κατέδειξαν την ικανότητα του μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος να παρακολουθεί επαρκώς τυχόν αστοχίες ή ότι οι αστοχίες που δεν ανιχνεύτηκαν δεν είχαν σημαντική επίδραση στην ανίχνευση και την ποσοτικοποίηση του στόχου.

**Πίνακας 11:** Σύνοψη μελέτης αποτελεσματικότητας μάρτυρα επεξεργασίας δείγματος

Προσομοιωμένη συνθήκη αστοχίας	Κατάσταση ενίσχυσης SPC2	Κατάσταση ενίσχυσης στόχου	Αποτέλεσμα μεθόδου προσδιορισμού
Presence of Inhibitor (Παρουσία αναστολέα)	Not Amplified (Χωρίς ενίσχυση)	Not Amplified (Χωρίς ενίσχυση)	Unresolved (Χωρίς απάντηση)
No Wash Reagent Delivered (Χωρίς παροχή αντιδραστηρίου πλύσης)	Not Amplified (Χωρίς ενίσχυση)	Not Amplified (Χωρίς ενίσχυση)	Unresolved (Χωρίς απάντηση)
No Wash Blowout (Χωρίς πλύση με εκφόρση)	Amplified (Με ενίσχυση)	Amplified (Με ενίσχυση)	Positive, $\pm 0,3 \log_{10}$ IU/mL of Control (Θετικό, $\pm 0,3 \log_{10}$ IU/mL του μάρτυρα)

### Διασταυρούμενη μόλυνση

Το ποσοστό διασταυρούμενης μόλυνσης για τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay προσδιορίστηκε μέσω εξέτασης έξι (6) εκτελέσεων που διέθεταν εναλλάξ υψηλά θετικά και αρνητικά για HIV-1 δείγματα. Συνολικά 36 αρνητικά αντίγραφα και 36 αντίγραφα με υψηλούς τίτλους HIV-1 σε 6,0 log<sub>10</sub> IU/mL υποβλήθηκαν σε επεξεργασία σε διαμόρφωση μοτίβου σκακιέρας. Όλα τα αντίγραφα των αρνητικών δειγμάτων αναφέρθηκαν ως αρνητικά, γεγονός που καταδεικνύει ότι δεν σημειώθηκε καμία διασταυρούμενη μόλυνση κατά την επεξεργασία του δείγματος στο σύστημα NeuMoDx System.

### Ισοδυναμία μήτρας δοκιμίου

Εκτελέστηκε εξέταση για να καταδειχθεί η ισοδυναμία μήτρας δοκιμίου μεταξύ ολικού αίματος που συλλέχθηκε σε σωληνάρια συλλογής με EDTA και με ACD για την προετοιμασία του πλάσματος. Επιπλέον εξετάσεις εκτελέστηκαν για να προσδιοριστεί η ισοδυναμία μεταξύ φρέσκων και κατεψυγμένων δοκιμίων πλάσματος (που συλλέχθηκαν στους δύο τύπους σωληναρίων). Τα φρέσκα δοκίμια διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία 2–4 °C προτού ενοφθαλμιστούν με τέσσερα επίπεδα HIV-1 (περιλαμβανομένου ενός αρνητικού επιπέδου) που εκτείνονται στο εύρος ποσοτικοποίησης της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay και εξετάστηκαν για ισοδυναμία. Στη συνέχεια, τα δείγματα καταψύχθηκαν για τουλάχιστον 24 ώρες στους ≤ -20 °C. Μετά από αυτήν την περίοδο φύλαξης υπό κατάψυξη, τα δοκίμια αποψύχθηκαν και επανεξετάστηκαν. Τα αποτελέσματα από τα δοκίμια πλάσματος με EDTA έναντι ACD και από τα φρέσκα έναντι των κατεψυγμένων δοκιμίων πλάσματος συγκρίθηκαν ως προς την ισοδυναμία μέσω ανάλυσης παλινδρόμησης. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης γραμμικής παλινδρόμησης των δεδομένων δεν έδειξαν καμία σημαντική διαφορά στις αναφερόμενες τιμές μεταξύ EDTA και ACD ή μεταξύ συνθηκών φύλαξης φρέσκων και κατεψυγμένων για το πλάσμα που εξετάστηκε με χρήση της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.

Επιπλέον εξετάσεις εκτελέστηκαν για να προσδιοριστεί η ισοδυναμία της απόδοσης της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay σε κύρια έναντι δευτερευόντων δοκιμίων. Σειρές αρνητικών για HIV-1 δοκιμίων δοτών ενοφθαλμίστηκαν με στόχο HIV-1 (μάρτυρας AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) και σειρές θετικών για HIV-1 δοκιμίων δοτών υποβλήθηκαν σε επεξεργασία πρώτα από τα πρωτογενή σωληνάρια δοκιμίων. Μετά την επεξεργασία των κύριων σωληναρίων, το πλάσμα που απέμεινε από κάθε δοκίμιο αναρροφήθηκε σε ένα δευτερεύον σωληνάριο δοκιμίου και υποβλήθηκε σε εκ νέου επεξεργασία. Δεν βρέθηκε καμία σημαντική διαφορά στα αναφερόμενα αποτελέσματα μεταξύ των επεξεργασιών των κύριων και δευτερευόντων σωληναρίων πλάσματος.

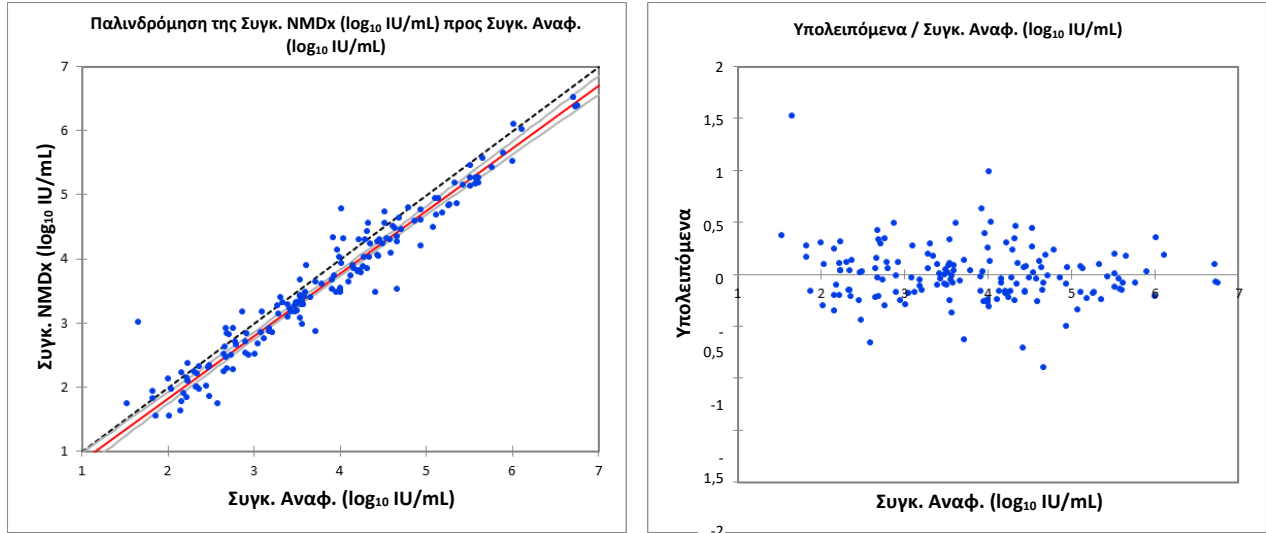
### Σύγκριση κλινικών μεθόδων

Η ποιοτική και ποσοτική απόδοση της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay συγκρίθηκε με αυτήν μιας συγκριτικής μεθόδου προσδιορισμού με έγκριση FDA/σήμανση CE-IVD. Η εσωτερική εξέταση πραγματοποιήθηκε μέσω μονά τυφλής μελέτης ανωνυμοποιημένων, υπολειπόμενων δοκιμίων πλάσματος που λήφθηκαν από καταχωρημένο προμηθευτή κατά FDA. Συνολικά, υποβλήθηκαν σε επεξεργασία 723 δοκίμια πλάσματος με χρήση της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay σε πολλαπλά συστήματα NeuMoDx System. Όλα τα δείγματα που απέδωσαν αρχικά μη έγκυρο αποτέλεσμα υποβλήθηκαν επιτυχώς σε εκ νέου επεξεργασία και έδωσαν έγκυρα αποτελέσματα για όλα τα δοκίμια που συμμετείχαν στη μελέτη.

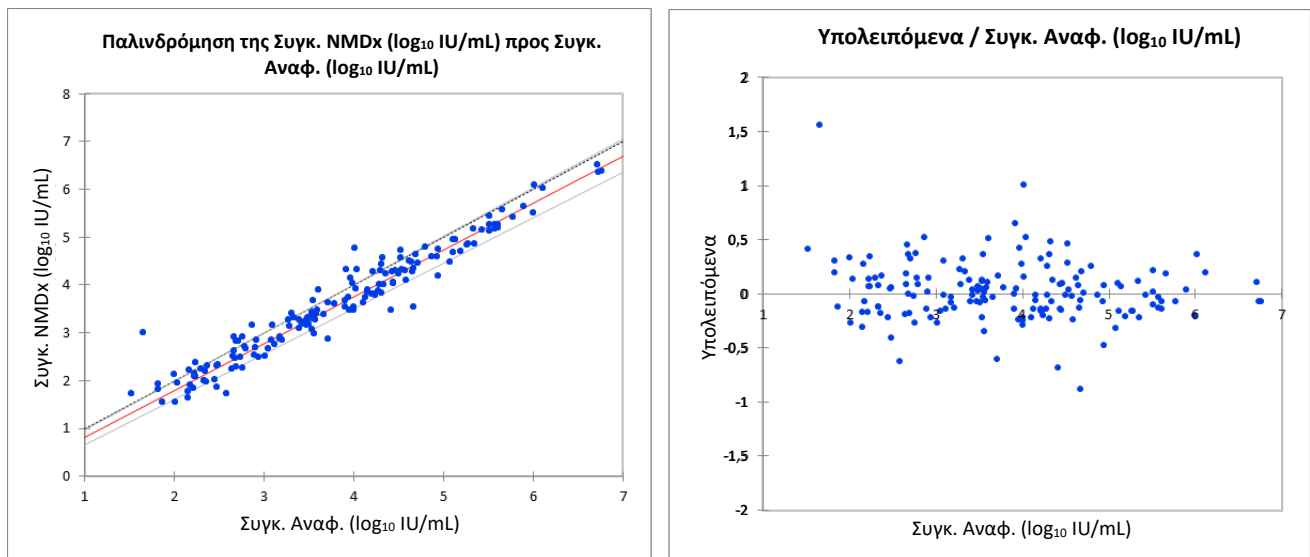
Τα σφάλματα επεξεργασίας και συστήματος που προέκυψαν κατά τη διάρκεια της εξέτασης ήταν ελάχιστα και εντελώς εντός των κριτηρίων αποδοχής. Ένας συνολικός αριθμός δώδεκα (12) απροσδιόριστων (IND) αποτελεσμάτων και επτά (7) ανεπιτυχιών (UNR) αποτελεσμάτων έδωσε ποσοστό απροσδιόριστων αποτελεσμάτων ίσο με 1,48% (ΔΕ 95%: 0,85–2,57%) ποσοστό ανεπιτυχιών αποτελεσμάτων ίσο με 0,86% (ΔΕ 95%: 0,42–1,77%). Το συνολικό ποσοστό έγκυρων αποτελεσμάτων βρέθηκε ότι είναι 97,7% (ΔΕ 95%: 96,4–98,5%).

Από τα 723 έγκυρα αποτελέσματα που λήφθηκαν, 165 αναφέρθηκαν ως θετικά από τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay με αντίστοιχες τιμές συγκέντρωσης να εκχωρούνται μέσω των εξετάσεων αναφοράς. Δημιουργήθηκαν αναλύσεις παλινδρόμησης Deming και Passing-Bablok για να συσχετιστούν οι αναφερόμενες τιμές συγκέντρωσης από τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay με τις αναφερόμενες τιμές των εξετάσεων αναφοράς.

Δημιουργήθηκαν διαγράμματα παλινδρόμησης και υπολειπόμενων δειγμάτων για να απεικονιστεί η συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay και των τιμών συγκέντρωσης των εξετάσεων αναφοράς για όλα τα δείγματα που εξετάστηκαν με συγκεντρώσεις που εκχωρήθηκαν και από τις δύο. Τα διαγράμματα που δημιουργήθηκαν με χρήση της μεθόδου ανάλυσης Deming και της μεθόδου Passing-Bablok παρουσιάζονται στις *Εικόνες 5 και 6*, αντίστοιχα. Η ποιότητα της προσαρμογής παλινδρόμησης Deming απεικονίζεται από συντελεστή κλίσης ίσο με 0,975 (ΔΕ 95%: 0,939, 1,011) και τομή (συστηματικό σφάλμα) ίση με -0,121 (ΔΕ 95%: -0,276, 0,033), που καταδεικνύουν ότι τα αποτελέσματα συγκέντρωσης που λαμβάνονται από τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay και τις εξετάσεις αναφοράς έχουν υψηλό βαθμό συσχέτισης με αποδεκτό συστηματικό σφάλμα. Η ποιότητα της γραμμικής παλινδρόμησης Passing-Bablok απεικονίζεται από συντελεστή κλίσης ίσο με 0,981 (ΔΕ 95%: 0,950, 1,012) και τομή (συστηματικό σφάλμα) ίση με -0,167 (ΔΕ 95%: -0,288, -0,036), που καταδεικνύουν παρομοίως ότι τα αποτελέσματα συγκέντρωσης που λαμβάνονται από τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay και τις εξετάσεις αναφοράς έχουν υψηλό βαθμό συσχέτισης με αποδεκτό συστηματικό σφάλμα. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων Deming και Passing-Bablok συνοψίζονται παρακάτω στον *Πίνακα 12*.



Εικόνα 5: Διαγράμματα ισοδυναμίας (αριστερά) και υπολειπόμενων δειγμάτων (δεξιά) – Συγκεντρωτική ανάλυση της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay έναντι των εξετάσεων αναφοράς – Ανάλυση Deming



Εικόνα 6: Διαγράμματα ισοδυναμίας (αριστερά) και υπολειπόμενων δειγμάτων (δεξιά) – Συγκεντρωτική ανάλυση της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay έναντι των εξετάσεων αναφοράς – Ανάλυση Passing-Bablok

Πίνακας 12: Σύνοψη ανάλυσης γραμμικής παλινδρόμησης Deming και Passing-Bablok

Ανάλυση Deming		Ανάλυση Passing-Bablok	
Τομή	Συντελεστής κλίσης	Τομή	Συντελεστής κλίσης
-0,121	0,975	-0,167	0,981
ΔΕ 95% (-0,276, 0,033)	ΔΕ 95% (0,939, 1,011)	ΔΕ 95% (-0,288, -0,036)	ΔΕ 95% (0,950, 1,012)



Από τα 723 έγκυρα αποτελέσματα που λήφθηκαν με χρήση της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, 171 αναφέρθηκαν ως θετικά από τις εξετάσεις αναφοράς και 552 αναφέρθηκαν ως αρνητικά. Η ευαισθησία και η ειδικότητα της μεθόδου προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay υπολογίστηκαν έναντι των εξετάσεων αναφοράς και συνοψίζονται παρακάτω στον Πίνακα 13. Από τα 171 θετικά δείγματα που εξετάστηκαν, 165 αναφέρθηκαν ως θετικά από τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, γεγονός που καταδεικνύει ευαισθησία 96,5% (ΔΕ 95%: 92,6–98,4%). Από τα 552 αρνητικά δείγματα που εξετάστηκαν, 551 αναφέρθηκαν ως αρνητικά από τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, γεγονός που καταδεικνύει ευαισθησία 99,8% (ΔΕ 95%: 99,0–100%).

**Πίνακας 13:** Αποτελέσματα σύγκρισης ποιοτικών μεθόδων για τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay έναντι εξετάσεων αναφοράς

		Εξέταση αναφοράς			
		HIV-1	Positive (Θετικό)	Negative (Αρνητικό)	Σύνολο
NeuMoDx	Positive (Θετικό)		165	1	166
	Negative (Αρνητικό)		6	551	557
	Σύνολο		171	552	723
<b>Ευαισθησία = 96,5% (ΔΕ 95% 92,6–98,4%)</b>					
<b>Ειδικότητα = 99,8% (ΔΕ 95% 99,0–100%)</b>					

Επιπλέον, ένα σύνολο 12 εμπορικά διαθέσιμων σειρών ορομετατροπής, περιλαμβανομένων 75 μεμονωμένων δειγμάτων πλάσματος, υποβλήθηκε σε επεξεργασία με τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay για να καταδειχθεί η ανίχνευση του RNA του HIV-1 πριν από αυτή των αντισωμάτων/αντιγόνων με τη χρήση εμπορικά διαθέσιμων εξετάσεων. Στην ανάλυση συμπεριλήφθηκαν μέλη σειρών προ-ορομετατροπής, πρώιμης ορομετατροπής και ορομετατροπής. Η ανάλυση εκτελέστηκε για να συγκριθεί η πρώτη αιμοληψία στην οποία ανιχνεύθηκε RNA του HIV-1 με τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay σε σύγκριση με την πρώτη αιμοληψία που ήταν θετική για αντίσωμα/αντιγόνο (Ab/Ag) του HIV-1 όπως αναφέρεται από εμπορικά διαθέσιμες εξετάσεις αίματος με έγκριση FDA/σήμανση CE-IVD. Σε όλες τις σειρές που εξετάστηκαν, η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ανίχνευσε το RNA του HIV-1 τουλάχιστον μία αιμοληψία νωρίτερα από τις εξετάσεις αίματος για ανίχνευση αντισώματος/αντιγόνου. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον Πίνακα 14.

**Πίνακας 14:** Σύγκριση σειρών ορομετατροπής – Μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay έναντι εξέτασης αίματος για Ab/Ag του HIV-1

Αναγνωριστικό σειράς	Ημέρα αιμοληψίας με πρώτο θετικό αποτέλεσμα	
	Μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay	Εξέταση αίματος για Ab/Ag του HIV-1
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

Εκτελέστηκαν επιπλέον αναλύσεις για να συγκριθεί η πρώτη αιμοληψία στην οποία ανιχνεύθηκε RNA του HIV-1 με τη μέθοδο προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay σε σύγκριση με την πρώτη αιμοληψία που ήταν θετική για RNA του HIV-1 όπως αναφέρεται από εμπορικά διαθέσιμες εξετάσεις NAT με έγκριση FDA/σήμανση CE-IVD. Σε όλες τις σειρές που εξετάστηκαν, η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ανίχνευσε το RNA του HIV-1 στην ίδια αιμοληψία με τις άλλες εξετάσεις NAT για ανίχνευση RNA του HIV-1. Σε δύο σειρές, η μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay κατέδειξε ανίχνευση RNA του HIV-1 μία αιμοληψία νωρίτερα από ό,τι οι άλλες εξετάσεις NAT. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον Πίνακα 15.

Πίνακας 15: Σύγκριση σειρών ορομετατροπής – Μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay έναντι εξέτασης NAT για RNA του HIV-1

Αναγνωριστικό σειράς	Ημέρα αμοληψίας με πρώτο θετικό αποτέλεσμα	
	Μέθοδος προσδιορισμού NeuMoDx HIV-1 Quant Assay	Εξέταση NAT αναφοράς
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

### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- Barré-sinoussi F, Ross AL, Delfraissy JF. Past, present and future: 30 years of HIV research. *Nat Rev Microbiol.* 2013;11(12):877-83.
- Piot P, Plummer FA, Mhalu FS, Lamboray JL, Chin J, Mann JM. AIDS: an international perspective. *Science.* 1988;239(4840):573-9.
- Acheson ED. AIDS: a challenge for the public health. *Lancet.* 1986;1(8482):662-6.
- De cock KM, Jaffe HW, Curran JW. The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS.* 2012;26(10):1205-13.
- Gaines H, Von sydow MA, Von stedingk LV, et al. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS.* 1990;4(10):995-9.
- Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. The immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 1993;328(5):327-35.
- 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.
- 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.
- Coombs RW, Collier AC, Allain JP, et al. Plasma viremia in human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 1989;321(24):1626-31.
- Horsburgh CR, Ou CY, Jason J, et al. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet.* 1989;2(8664):637-40.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature.* 1995;373(6510):117-22.
- Dimitrov DS, Martin MA. HIV results in the frame. CD4+ cell turnover. *Nature.* 1995;375(6528):194-5.
- 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.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

### ΕΜΠΟΡΙΚΑ ΣΗΜΑΤΑ

Οι ονομασίες NeuMoDx™ και NeuDry™ είναι εμπορικά σήματα της NeuMoDx Molecular, Inc.

Η ονομασία AccuPlex™ είναι εμπορικό σήμα της SeraCare Life Sciences, Inc.



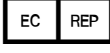











Η ονομασία BD Vacutainer® είναι κατατεθέν εμπορικό σήμα της Becton, Dickinson and Company

Οι ονομασίες BD™ είναι εμπορικά σήματα της Becton, Dickinson and Company

Η ονομασία TaqMan® είναι κατατεθέν εμπορικό σήμα της Roche Molecular Systems, Inc.

Όλες οι υπόλοιπες ονομασίες προϊόντων, τα εμπορικά σήματα και τα κατατεθέντα εμπορικά σήματα που μπορεί να αναφέρονται στο παρόν έγγραφο αποτελούν ιδιοκτησία των αντίστοιχων κατόχων τους.

### ΣΥΜΒΟΛΑ

ΣΥΜΒΟΛΟ	ΣΗΜΑΣΙΑ
<b>R only</b>	Χρήση μόνο με ιατρική συνταγή
	Κατασκευαστής
	<i>In vitro</i> διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα
	Αριθμός καταλόγου
	Κωδικός παρτίδας
	Ημερομηνία λήξης
	Περιορισμός θερμοκρασίας
	Περιορισμός υγρασίας
	Να μην επαναχρησιμοποιείται
	Περιέχει επαρκή ποσότητα για <n> εξετάσεις
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Προσοχή
	Βιολογικοί κίνδυνοι
	Σήμανση CE



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

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



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



Τεχνική υποστήριξη/Υποβολή αναφορών επαγρύπνησης: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

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