

**REF** 300500 NeuMoDx™ HIV-1 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](http://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

Анализът NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, извършван в NeuMoDx 96 Molecular System и NeuMoDx 288 Molecular System (система(и) NeuMoDx System), е автоматизиран, количествен и качествен диагностичен тест за *инвитро* амплификация на нуклеинови киселини, проектиран за количествено определяне и откриване на РНК на човешки имунодефицитен вирус тип 1 (HIV-1) в човешка плазма.

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay е предвиден за употреба заедно с клиничната картина и други лабораторни показатели за прогноза на заболяването като помощно средство при клиничния контрол на заразени с HIV-1 пациенти и следенето на ефектите на антиретровирусното лечение, измервани чрез промените на нивата на РНК на HIV-1 в плазмата. Анализът може да определи количествено РНК на HIV-1 в диапазона от 34,2 до  $5,0 \times 10^7$  IU/mL ( $1,5 - 7,7 \text{ Log}_{10}$  IU/mL). NeuMoDx HIV-1 Quant Assay е валидиран за количествено определяне на РНК от HIV-1 от групите М (подвидове А, В, С, D, F, G, H, K, CRF01\_AE, CRF02\_AG) N, O и Р.

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay е предвиден като помощно средство при диагнозата на HIV-1 инфекция, включително остра или първична инфекция. Наличието на РНК на HIV-1 в плазмата на пациенти без антитела срещу HIV-1 е показател за остра или първична HIV-1 инфекция. NeuMoDx HIV-1 Quant Assay може да се използва като допълнителен тест за проби с повтарящи се реактивни резултати с одобрен имуноанализ за HIV и като потвърждение за HIV-1 инфекция.

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay не е предвиден за употреба като тест за скрининг на донори за HIV-1 за наличието на HIV-1 в кръв или кръвни продукти.

### 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 антикоагуланти, или в епруветки за подготовка на плазма (Plasma Preparation Tubes, PPT) може да се използва за подготовката на плазма. При подготовката за тестването плазма във вторична епруветка с проби или фракционирана кръв в първична епруветка с проби, съвместима с NeuMoDx System, се зарежда на NeuMoDx System на определения носач за епруветки с проби, за да започне обработката. За всяка проба 600 µL алиquotна част от алиquotната част от плазма 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 обратно транскриптна полимеразна верижна реакция в реално време (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) и, ако е налице, амплифицирането и откриването на продуктите на амплификацията (участъци от прицелната нуклеинова киселина в генома на HIV-1 в консервирани региони). NeuMoDx HIV-1 Quant Assay включва контрола за обработка на алиquotни части от РНК (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 процедурите за извличане и амплификация.

Човешкият имунодефицитен вирус (Human Immunodeficiency Virus, HIV) е етиологичният причинител на синдрома на придобитата имунна недостатъчност (Acquired Immunodeficiency Syndrome, AIDS) и се разделя на два основни типа, по-разпространеният и патогенен от които е HIV тип 1 (HIV-1). HIV-1 може да се предава чрез сексуален контакт, излагане на заразена кръв или кръвни продукти или от заразена майка към плода.<sup>1-4</sup> Острата HIV-1 инфекция, характеризираща се с грипоподобни симптоми, се развива 3 до 5 седмици след първоначалната инфекция и е свързана с високи нива на вирусемия. Специфичният имунен отговор към HIV-1 се открива в рамките на 4 до 6 седмици след появата на симптомите.<sup>5-9</sup>

При сероконверсия повечето пациенти навлизат в асимптоматична фаза, която може да продължи с години. Количественото измерване на нивата на РНК на HIV-1 в периферната кръв допринесе значително за разбирането на патогенезата на HIV-1 инфекцията и е основен параметър при прогнозата и лечението на заразени с HIV-1 лица.<sup>10-11</sup> Решенията за започване на антиретровирусна терапия или промени в нея се ръководят от следенето на плазмените нива на РНК на HIV-1 (количеството вируси в кръвта), броя на CD4 + Т-клетките и клиничното състояние на пациента.<sup>12-17</sup> Целта на антиретровирусната терапия е да потисне репликацията на HIV-1 до нива, по-ниски от определяните чрез наличните в момента тестове за количество вируси в кръвта. Нивата на вируса в периферната кръв могат да бъдат определени количествено чрез измерване на p24 антигена на HIV в серума, чрез култура за количествено определяне на HIV от плазма или чрез директно измерване на вирусна РНК в плазма с помощта на амплификация на нуклеинови киселини или технологии за усилване на сигнала.<sup>9-11</sup> За амплификация на нуклеинови киселини широко се използват молекулярните техники като полимеразна верижна реакция, медирана от обратната транскриптаза.<sup>11</sup> Анализът NeuMoDx HIV-1 Quant Assay използва технологията RT-PCR с откриване на хомогенна флуоресценция в реално време. Анализът включва амплификация и откриване с двойна цел, насочена към два независими региона на генома на HIV-1. Освен това дегенериращият дизайн на анализа позволява откриване на разнообразни подвидове на групата М (А, В, С, D, F, G, H, K), включително циркулиращи рекомбинантни форми, и изолати от групите N, O и Р. Резултатите от анализа се съобщават в международни единици за mL (IU/mL).

### ПРИНЦИПИ НА ПРОЦЕДУРАТА

Анализът NeuMoDx HIV-1 Quant Assay съчетава автоматизирано извличане и амплификация/откриване на РНК с RT-PCR в реално време. Проби от цяла кръв се взимат в епруветки с EDTA, ACD или PPT за подготовката на плазма. Първичната (фракционирана) кръвна проба или алиquotна част от плазма в съвместима вторична епруветка за проби с баркод се поставя в NeuMoDx System. NeuMoDx System автоматично аспирира алиquotна част от плазма за смесване с NeuMoDx Lysis Buffer 3 и агентите, съдържащи се 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 алиquotни 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 след това използва елуираната РНК, за да рехидрати патентовани реактиви за амплификация NeuDry™, съдържащи всички необходими елементи за амплификация на прицелните HIV-1 нуклеинови киселини и 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 налива подготвената 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 RT-PCR, като на практика елиминира риска от замърсяване след амплификацията.

Амплифицираните прицелни нуклеинови киселини се определят в реално време с прилагане на химичен метод с хидролизна сонда (известен като TaqMan®), с използване на флуорогенни молекули от олигонуклеотидната сонда, специфични за ампликоните на съответните 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 Taq ДНК полимеразата изтегля праймера и синтезира новата верига, действието на екзонуклеазата от край 5' до край 3' на Taq 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 HIV-1. 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 резултат (POSITIVE (ПОЛОЖИТЕЛЕН)/NEGATIVE (ОТРИЦАТЕЛЕН)/INDETERMINATE (НЕОПРЕДЕЛЕН)/UNRESOLVED (НЕПОЛУЧЕН)). Ако резултатът е положителен и изчислената концентрация е в границите на количественото определяне, софтуерът на NeuMoDx System дава също така количествена стойност за алиquotната част.

### РЕАКТИВИ/КОНСУМАТИВИ

#### Доставени материали

№	Съдържание	Брой тестове на единица	Теста на опаковка
300500	<b>NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip</b> Суши реактиви за RT-PCR, съдържащи специфични за HIV-1 и SPC2 сонда TaqMan и праймери	16	96

**Допълнителни необходими материали (предлагат се отделно)**

№	Съдържание
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Сухи парамагнитни частици, литичен ензим и контроли за обработка на аликвотни части</i>
800304	<b>Калибратори NeuMoDx HIV-1 Calibrator</b> <i>Набори за еднократна употреба от високи и ниски калибратори за HIV-1 за установяване на валидността на стандартната крива</i>
900301	<b>Външни контроли NeuMoDx HIV-1 External Control</b> <i>Набори за еднократна употреба от положителни и отрицателни контроли за HIV-1</i>
400600	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 3</b>
400100	<b>NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Hamilton CO-RE/CO-RE II връхчета (300 µL) с филтри</b>
235905	<b>Hamilton CO-RE/CO-RE II връхчета (1000 µL) с филтри</b>

**Необходима апаратура**

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



**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ**

- NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip е само за *инвитро* диагностика със системи NeuMoDx Molecular System.
- 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 HIV-1 Calibrator [№ 800304]), преди да могат да се генерират резултати от тестовете за клинични аликвотни части.
- На всеки 24 часа, през които се извършва тестване с NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, трябва да се обработват външни контроли (от NeuMoDx HIV-1 External Control [№ 900301]).
- Минималният обем от пробата за вторичните аликвотни части зависи от размера на епруветката/носача за епруветки с 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.
- Трябва да се избягва замърсяване на всички реактиви и консумативи с микроорганизми и рибонуклеаза (РНКаза). При употреба на вторични епруветки се препоръчва използването на несъдържащи РНКаза стерилни преносни пипети за еднократна употреба. 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 HIV-1 Quant Test Strip, допълнителните консумативи и реактиви, необходими за тестването, личните предпазни средства като ръкавиците и лабораторните престилки и NeuMoDx System да не се замърсяват.
- 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 HIV-1 Quant Test Strip и NeuMoDx Extraction Plate или горната повърхност на NeuMoDx Lysis Buffer 3; при боравенето с консумативите и реактивите могат 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](http://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*<sup>18</sup> и в документ M29-A4 на CLSI.<sup>19</sup>
- Изхвърляйте неизползваните реактиви и отпадъците в съответствие с националните, федералните, регионалните, държавните и местните разпоредби.



### СЪХРАНЕНИЕ, БОРАВЕНЕ И СТАБИЛНОСТ НА ПРОДУКТИТЕ

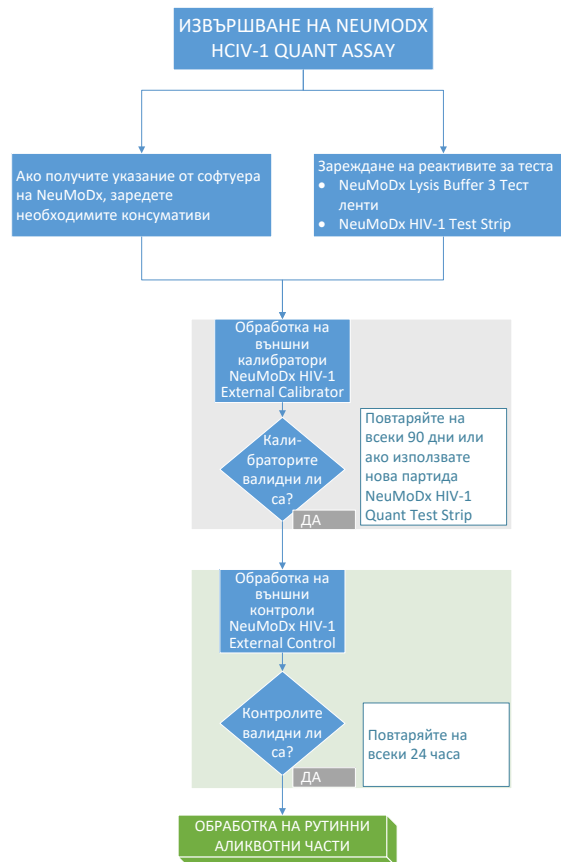
- Тест-лентите NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip са стабилни в първичната опаковка до посочения срок на годност на фабричния етикет на продукта, когато се съхраняват при температури в диапазона 15 – 23 °C.
- Тест-лентите NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip се доставят в изолиран контейнер, който съдържа опаковки с охлаждащ гел.
- Не използвайте консуматииви 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 HIV-1 Quant Test Strip може да остане в NeuMoDx System седем (7) 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.
- Въпреки че са неинфекциозни, след употреба изхвърляйте калибраторите и външните контроли NeuMoDx при лабораторните биорискови отпадъци с цел намаляване на риска от замърсяване със съдържащата се в тях прицелна нуклеинова киселина.

### ВЗИМАНЕ, 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, цяла кръв трябва да се взима в стерилни епруветки с EDTA или ACD като антикоагуланти. Спазвайте инструкциите за подготовка и съхранение на производителя на епруветките за взимане на проби.
4. Пробите могат да се тестват в първични епруветки за вземане на проби или вторични епруветки за проби. Препоръки за тестване в първични епруветки: BD Vacutainer® Plus Plastic K<sub>2</sub>EDTA Tube (BD #368589) или BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
5. Подготвените проби от плазма 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 от плазма.
6. Подготвените проби от плазма трябва да се съхраняват при температури 2 – 8 °C не повече от 7 дни преди тестването и максимум 8 часа при стайна температура.
7. Подготвените проби от плазма може да се съхраняват при температури ≤ -20 °C за до 8 седмици преди обработка.
  - a. 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.
  - b. След като замразените аликвотни части се размразят, трябва да се тестват в рамките на 8 часа.
  - c. Преди употреба аликвотните части от плазма не трябва да се подлагат на повече от 4 цикъла замразяване/размразяване
8. Ако се налага транспортиране на проби, те трябва да бъдат опаковани и етикетирани в съответствие с действащите държавни и/или международни разпоредби.
9. Поставете ясни и четливи етикети на пробите, като посочите, че те са за тестване за HIV-1.
10. Преминете към раздел *Подготовка на теста*.

Общата процедура за извършването на анализа NeuMoDx HIV-1 е резюмирана по-долу на *фигура 1*.



Фигура 1: Процедура за извършване на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

## ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

### Подготовка на теста

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 24 или 32 епруветки след центрофугиране съгласно инструкциите 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.
3. Ако използвате вторична епруветка, прехвърлете аликвотна част от плазма в епруветката с баркод, съвместима с NeuMoDx System, като спазвате посочените по-долу обеми:
  - Носач за епруветки с проби (за 32 епруветки): диаметър 11 – 14 mm и височина 60 – 120 mm; минимален обем проба в епруветката  $\geq 750 \mu\text{L}$
  - Носач за епруветки с проби (за 24 епруветки): диаметър 14,5 – 18 mm и височина 60 – 120 mm; минимален обем проба в епруветката  $\geq 1200 \mu\text{L}$
  - Носач за епруветки с проби с малък обем (за 32 епруветки): 1,5 mL епруветка с конично дъно за микроцентрифуга; минимален обем проба в епруветката  $\geq 700 \mu\text{L}$

### Работа с NeuMoDx System

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

1. Заредете един или повече носачи на NeuMoDx System Test Strip с NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip и използвайте сензорния екран, за да заредите носачите с тест-лентите в NeuMoDx System.
2. 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.

3. 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 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.
4. Ако получите указание от софтуера на NeuMoDx System, обработете калибратори NeuMoDx HIV-1 Calibrator [№ 800304] и/или външни контроли NeuMoDx HIV-1 External Control [№ 900301]. Допълнителна информация за калибраторите и контролите може да намерите в раздела *Обработка на резултатите*.
5. Заредете епруветките за проби/калибратори/контроли в носач за епруветки с проби и извадете запушалките от всички епруветки.
6. 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 HIV-1 Quant Test Strip може да се използва само в системи NeuMoDx Molecular System.
2. Работните характеристики на NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip са установени за проби от плазма, подготвени от цяла кръв, взета с EDTA/ACD като антикоагулант. Употребата на NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip с други източници не е била оценявана и работните характеристики за други видове проби не са известни.
3. Работните характеристики на NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip са установени за тестване на първични епруветки, при което са използвани BD Vacutainer Plus Plastic K<sub>2</sub>EDTA Tubes и BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube.
4. NeuMoDx HIV-1 Quant Assay не трябва да се използва с аликвотни части от хора, приемащи хепарин.
5. Тъй като откриването на HIV-1 зависи от броя на вирусните частици в аликвотната част, надеждните резултати зависят от правилното взимане, боравене и съхранение на пробите.
6. Калибраторите NeuMoDx HIV-1 Calibrator и външните контроли NeuMoDx HIV-1 External Control трябва да се обработват съгласно препоръките в листовките в опаковките и указанията от софтуера на NeuMoDx System преди обработката на рутинни клинични аликвотни части.
7. Грешни резултати от тестовете могат да се получат при 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 аликвотната част е под границата на откриването на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.
8. С NeuMoDx System може да работи само персонал, обучен в употребата на NeuMoDx System.
9. Ако не се амплифицират прицелните нуклеинови киселини както за HIV-1, така и за SPC2, ще бъде съобщен невалиден резултат (Indeterminate (неопределен) или Unresolved (неполучен)) и тестът трябва да се повтори.
10. Ако резултатът от NeuMoDx HIV-1 Quant Assay е Positive (положителен), но стойността на количественото определяне е извън границите, NeuMoDx System ще съобщи дали откритият HIV-1 е под долната граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ), или над горната граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
11. В случай, че откритият HIV-1 е под LLoQ, NeuMoDx HIV-1 Quant Assay може да се повтори (ако е желателно) с друга аликвотна част от пробата.
12. В случай, че откритият HIV-1 е над ULoQ, NeuMoDx HIV-1 Quant Assay трябва да се повтори с разреждана аликвотна част от първоначалната проба. Препоръчителното разреждане е 1:100 или 1:1000 в отрицателна за HIV-1 плазма или Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Концентрацията на първоначалната проба може да се изчисли по следния начин:
 
$$\text{концентрацията на първоначалната проба} = \text{Log}_{10}(\text{фактора на разреждане}) + \text{съобщената концентрация на разрежданата аликвотна част}$$
13. Инцидентното наличие на инхибитори на PCR в плазмата може да доведе до грешка в количественото определяне на системата. В този случай се препоръчва тестът да се повтори със същата проба, разреждана в Basematrix при съотношение 1:10 или 1:100.
14. Положителен резултат не означава непременно наличие на жизнеспособен HIV-1. Положителен резултат обаче говори за вероятно наличие на РНК на HIV-1.
15. Делеции или мутации в прицелните консервирани региони за NeuMoDx HIV-1 Quant Assay могат да повлияят на откриването и да доведат до грешен резултат.
16. Резултатите от NeuMoDx HIV-1 Quant Assay трябва да се използват в допълнение към клиничните наблюдения и другата информация, с която лекарят разполага.
17. 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 HIV-1 Quant Assay се генерират автоматично от софтуера на NeuMoDx System с алгоритъм за взимане на решение и параметри за обработка на резултатите, посочени във файла с дефиниция за анализа на NeuMoDx HIV-1 (HIV-1 ADF). Един резултат от NeuMoDx HIV-1 Quant Assay може да бъде съобщен като Negative (отрицателен), Positive (положителен) със съобщена концентрация на HIV-1, Positive (положителен) над ULoQ, Positive (положителен) под LLoQ, Indeterminate (неопределен) или Unresolved (неполучен) според състоянието на амплификацията на прицелната нуклеинова киселина и контрола за обработката 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 HIV-1 Quant Assay

РЕЗУЛТАТ*	Прицелна(и) нуклеинова(и) киселина(и) на HIV-1	Контрола за обработката на аликвотни части (Sample Process Control, SPC2)
Positive (Положителен) със съобщена концентрация	Amplified (Има амплификация), $1,5 \leq [\text{HIV-1}] \leq 7,7 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$	Amplified (Има амплификация) или Not Amplified (Няма амплификация)
Positive (Положителен), над ULoQ	Amplified (Има амплификация), $[\text{HIV-1}] > 7,7 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$	Amplified (Има амплификация) или Not Amplified (Няма амплификация)
Positive (Положителен), под LLoQ	Amplified (Има амплификация), $[\text{HIV-1}] < 1,5 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$	Amplified (Има амплификация) или Not Amplified (Няма амплификация)
Negative (Отрицателен)	Not Amplified (Няма амплификация)	Amplified (Има амплификация)
Indeterminate (Неопределен)	Not Amplified, System Error Detected (Няма амплификация, установена е грешка в системата)	
Unresolved (Неполучен)	Not Amplified, No System Error Detected (Няма амплификация, не е установена грешка в системата)	

\* Диапазонът на количествено определяне NeuMoDx HIV-1 Quant Assay е 1,5 до 7,7  $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ . POSITIVE (ПОЛОЖИТЕЛНИЯТ) резултат показва, че е открита РНК на HIV-1 и подпомага поставянето на диагноза за HIV-1 инфекция. NEGATIVE (ОТРИЦАТЕЛНИЯТ) резултатът показва или липса на РНК на HIV-1, или че количеството вируси в кръвта е под границата на откриване. Фалшиво отрицателни или фалшиво ниски резултати за количеството вируси в кръвта могат да се дължат на неправилно взимане или съхранение на проби. Резултатите трябва да се интерпретират в контекста на съответните клинични и лабораторни констатации.

### Изчисляване на теста

- За аликвотни части в рамките на диапазона на количествено определяне на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay концентрацията на РНК на HIV-1 в аликвотните части се изчислява със съхранената стандартна крива заедно с коефициента на калибрация.
  - Коефициентът на калибрация се изчислява според резултатите от обработката на калибратори NeuMoDx HIV-1 Calibrator, за да се установи валидността на стандартната крива за дадена партида NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip на конкретна NeuMoDx System.
  - Коефициентът на калибрация се включва в окончателното определяне на концентрацията на РНК на HIV-1.
- Резултатите от NeuMoDx HIV-1 Quant Assay се съобщават в  $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ . Коефициентът на преобразуване за NeuMoDx HIV-1 Quant Assay е 0,75 копие/IU.
- Полученото количествено определяне на неизвестните аликвотни части е проследимо до калибрирания еталонен материал, получен от Националния институт по биологични стандарти и контрол (National Institute for Biological Standards and Control).

### Калибрация на теста

Валидна калибрация според стандартната крива е необходима за количественото определяне на РНК на HIV-1 в пробите. За генерирането на валидни резултати калибрация на теста трябва да се извърши с калибраторите, предоставени от NeuMoDx Molecular, Inc.

### Калибратори

- Калибратори NeuMoDx HIV-1 Calibrator [№ 800304] съдържат неинфекциозна капсулирана прицелна нуклеинова киселина на HIV-1, подготвена в Basematrix.
- Набор HIV-1 калибратори трябва да се обработят с всяка нова партида тест-ленти NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, при зареждане на нов HIV-1 файл с дефиниции за анализи 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.
- 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.

4. 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) реплика трябва да дадат резултати в рамките на предварително дефинирани параметри. Номиналната прицелна стойност на нисък калибратор е  $3 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ , а тази на висок калибратор –  $5 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ .
  - 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 HIV-1.
5. Ако единият или 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 неиздържаният калибратор – системата не изисква от потребителя да обработва повторно и двата калибратора.
6. 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. Външните контроли NeuMoDx HIV-1 External Control [№ 900301] съдържат положителни контроли от неинфекциозна капсулирана прицелна нуклеинова киселина на HIV-1, подготвена в Basematrix, и отрицателни контроли само от Basematrix.
2. На всеки 24 часа, през които се извършва тестване с NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, трябва да се обработват положителни и отрицателни външни контроли. 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.
3. Валидността на външните контроли ще бъде оценена от NeuMoDx System според очаквания резултат. Положителната контрола трябва да даде Positive (положителен) резултат за HIV-1, а отрицателната Negative (отрицателен) резултат за HIV-1.
4. 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) И в двата случая, описани по-горе, или в случай на Indeterminate (Неопределен) (IND) резултат повторете обработката на външни контроли NeuMoDx HIV-1 External Control с нови шишета от неиздържалите проверката за валидност контроли.
  - d) Ако положителна NeuMoDx HIV-1 External Control продължава да дава Negative (отрицателен) резултат, се обърнете към отдела за техническо обслужване на NeuMoDx.
  - e) Ако отрицателна NeuMoDx HIV-1 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 HIV-1 Quant Test Strip и позволяват откриване на SPC2 с прицелната РНК на HIV-1 (ако има) чрез мултиплексна RT-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 HIV-1 Quant Assay, извършен в NeuMoDx System, не даде валиден резултат, той ще се съобщи като Indeterminate (IND) (Неопределен) или Unresolved (UNR) (Неполучен) според вида на възникналата грешка.

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

Резултат UNR ще се съобщи, ако не бъде открита валидна амплификация на РНК на HIV-1 или SPC2, 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, разреждане на пробата може да се използва за смекчаване на ефектите от евентуално инхибиране на аликвотната част.



### РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

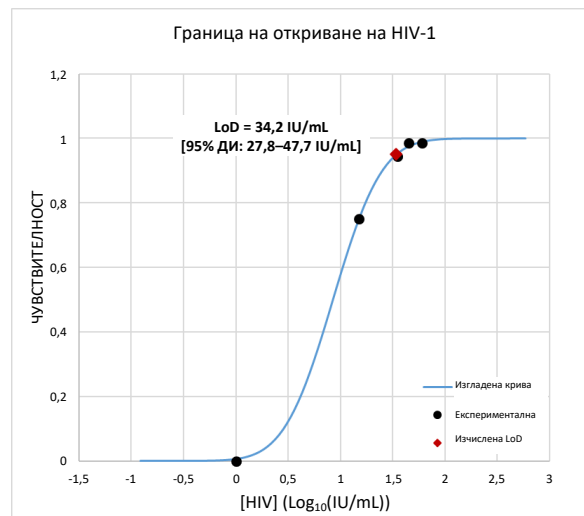
#### Аналитична чувствителност – граница на откриване

Аналитичната чувствителност на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay е характеризирана с тестване на серия разреждания, проследими по 3<sup>тия</sup> Международен стандарт на СЗО за HIV-1 в подбрана отрицателна за РНК на HIV-1 плазма с EDTA за определяне на границата на откриване (Limit of Detection, LoD) на системи NeuMoDx System. LoD се дефинира като най-ниското прицелно ниво, откривано в  $\geq 95\%$  от случаите с анализ тип Probit. Проучването е извършено в продължение на три (3) дни с различни системи, оператори, серии и партиди реактиви за NeuMoDx HIV-1 Quant Assay. Всяка система обработва по 12 репликата на ден при всяко ниво на разреждане. Процентите на откриване са представени в Таблица 2.

Таблица 2: Проценти на откриване на положителен резултат за определяне на LoD на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Прицелна концентрация (IU/mL)	Прицелна концентрация (Log <sub>10</sub> IU/mL)	Брой валидни тестове	Брой положителни	Ниво на откриване (%)
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%

LoD на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay при плазма за всички генотипове е определена с анализ тип Probit като **34,2 IU/mL (1,5 Log<sub>10</sub> IU/mL)** с 95% доверителен интервал (ДИ) от 27,8 до 47,7 IU/mL (1,4 – 1,7 Log<sub>10</sub> IU/mL) при тестване в NeuMoDx 288 Molecular System [Фигура 2].



Фигура 2: Анализ тип Probit на границата на откриване на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

#### Аналитична чувствителност – долна граница на количествено определяне

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

$$TAE = \text{отклонение} + 2 \times SD \quad (\text{статистика на Westgard}),$$

където

**отклонението** е абсолютната стойност на разликата между средната изчислена концентрация и очакваната концентрация  
**SD** е стандартното отклонение на количествено определената стойност на аликвотната част

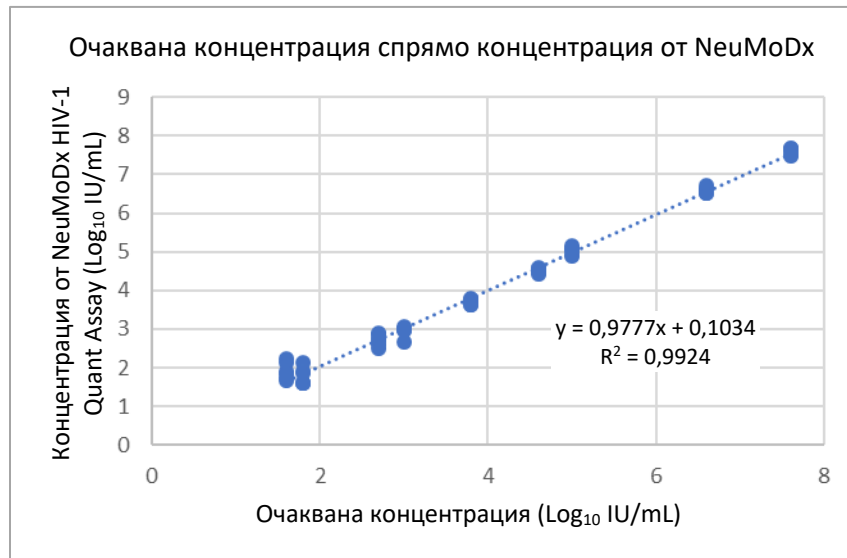
Съкупните резултати за четири (4) нива на проби от плазма с HIV-1, използвани в проучването за LLoQ, с подвид В са дадени в Таблица 3. Тъй като изчислената TAE е  $\leq 1$  при нива на HIV-1 под LoD, NeuMoDx HIV-1 Quant Assay демонстрира долна граница на количествено определяне, която е еквивалентна на границата на откриване: **34,2 IU/mL (95% ДИ 27,8 – 47,7 IU/mL)** или **1,5 Log<sub>10</sub> IU/mL (95% ДИ 1,4 – 1,7 Log<sub>10</sub> IU/mL)**.

Таблица 3: LLoQ на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, с отклонението и TAE

Прицелна концентрация (IU/mL)	Прицелна концентрация (Log <sub>10</sub> IU/mL)	Средна концентрация (Log <sub>10</sub> IU/mL)	Откриване (%)	SD	Отклонение	TAE
60	1,78	1,76	99	0,28	0,02	0,59
45	1,65	1,82	99	0,30	0,17	0,78
35	1,54	1,69	94	0,39	0,15	0,93
15	1,18	1,52	75	0,54	0,34	1,44

### Аналитична чувствителност – линейност и определяне на горна граница на количествено определяне

Линейността и горната граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay са установени с подготовка на серия разреждания на HIV-1, предоставен от Лабораторията за надзор на външната програма за осигуряване на качеството (Университет „Дюк“, Северна Каролина, САЩ) (The External Quality Assurance Program Oversight Laboratory (Duke University, NC, USA)), AccuPlex™ Recombinant HIV/HCV Control (Seracare, MA, USA) и HIV-1 RNA Working Reagent 2 за NAT анализи (NIBSC). Панел от девет елемента е подготвен в групирана, отрицателна за РНК на HIV-1 плазма с EDTA, за да се обхване диапазон на концентрацията 7,70 – 1,70 Log<sub>10</sub> IU/mL. NeuMoDx HIV-1 Quant Assay демонстрира способност за количествено определяне на HIV-1 в целия линеен диапазон 6 Log<sub>10</sub> с точност ± 0,33 Log<sub>10</sub> IU/mL според стандартната грешка, изчислена от 95%-ния доверителен интервал. Няма съществени ползи при регресионно изглаждане от 2<sup>ри</sup> или 3<sup>ти</sup> ред. Определената с данните от това проучване ULoQ е **7,7 Log<sub>10</sub> IU/mL**. Концентрациите от анализа за HIV-1, съобщени от NeuMoDx System, в сравнение с очакваните стойности са представени на *Фигура 3*.



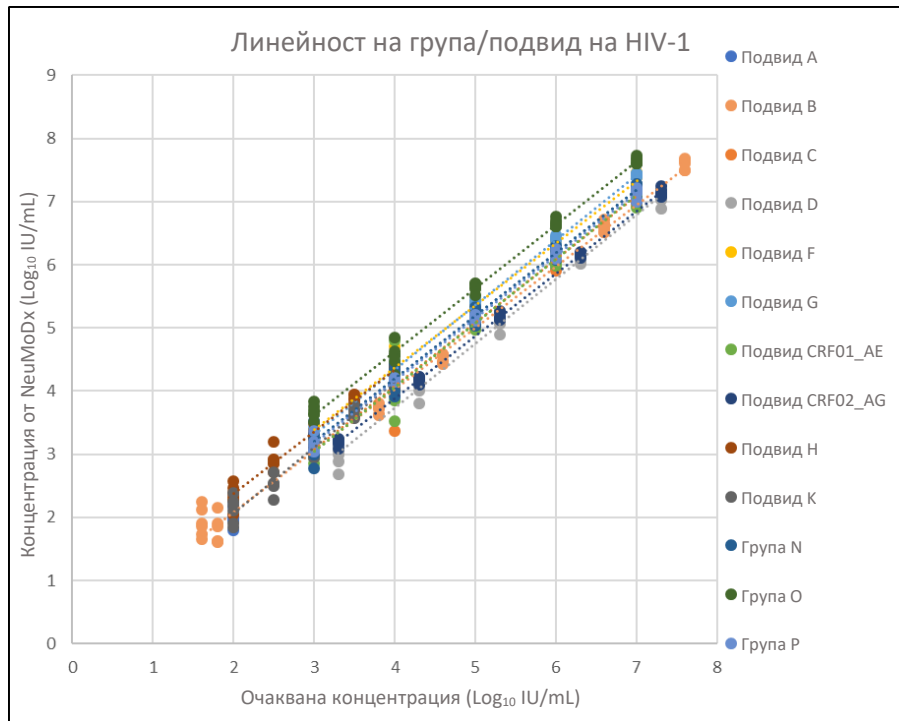
Фигура 3: Линеен диапазон на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

### Аналитична чувствителност – линейност по всички генотипове

Линейността на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay за групи М (подвидове А, В, С, D, F, G, H, K, CRF01\_AE, CRF02\_AG), N, О и Р на HIV-1 е характеризирана с тестване на поне пет (5) различни концентрации от всяка група/подвид на HIV-1, подготвени в групирана, отрицателна за РНК на HIV-1 плазма с EDTA. Тестваните в това проучване нива на прицелната нуклеинова киселина на HIV-1 зависят от концентрацията на изходната проба и затова се различават между групите/подвидовете. Изследването е извършено с всяка група/подвид с шест (6) репликата при всяко ниво. Демонстрирана е линейност в тестваните диапазони, представена в *Таблица 4* и на *Фигура 4*.

**Таблица 4:** Линеиност на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay в групи М, N, O и P

Група	Подвид	Уравнение за линеиност	R <sup>2</sup>
		$y = \text{количественото определяне на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay (Log}_{10} \text{ IU/mL)}$ $x = \text{очакваното количествено определяне (Log}_{10} \text{ IU/mL)}$	
М	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


**Фигура 4:** Линеиност на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay в подвидовете

#### Аналитична специфичност – потенциално интерфериращи микробни замърсители

Аналитичната специфичност на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay е оценена чрез тестване за кръстосана реактивност на панел от микроорганизми (Таблица 5), подготвени в отрицателна за РНК на HIV-1 плазма с EDTA с високи концентрации. Потенциалната интерференция е оценена със същия панел от микроорганизми, подготвени в плазма с EDTA, към която е добавен HIV-1 с концентрация 2,02 Log<sub>10</sub> IU/mL. Не се наблюдава кръстосана реактивност, като всички HIV-1-отрицателни микробни аликвотни части дават отрицателни резултати. Всички HIV-1-положителни микробни аликвотни части дават положителни резултати и не се наблюдава съществена интерференция в тези аликвотни части, за което свидетелства минималното отклонение на съобщените резултати от количественото определяне на HIV-1 от контролните проби, които не съдържат потенциално интерфериращи микроорганизми. Допълнителната потенциална кръстосана реактивност е оценена чрез сравняване на нуклеотидните секвенции на прицелните нуклеинови киселини на NeuMoDx HIV Quant Assay с пълните геноми на 26 допълнителни патогена (Таблица 6) с помощта на Основния инструмент за търсене чрез локално подравняване (Basic Local Alignment Search Tool, BLASTn), предоставен от Националния център за биотехнологична информация (National Center for Biotechnology Information, NCBI). Анализът за сравнение на секвенциите не показва аналогия между секвенциите на прицелните нуклеинови киселини и изследваните геноми.

**Таблица 5: Патогени, тествани за аналитична специфичност**

Потенциално интерфериращи микроорганизми
Вирус на хепатит А
Вирус на хепатит В
Вирус на хепатит С
Човешки вирус на Т-клетъчна левкемия тип 1 (HTLV-1)
Човешки вирус на Т-клетъчна левкемия тип 2 (HTLV-2)
Човешки имунодефицитен вирус тип 2 (HIV-2)
Маймунски имунодефицитен вирус (Simian Immunodeficiency Virus, SIV)
Вирус на Epstein-Barr

**Таблица 6: Микроорганизми, включени в анализа на подравняването на секвенциите BLASTn**

Микроорганизъм	Номер(а) за достъп	Микроорганизъм	Номер(а) за достъп
Adenovirus Тип 12	X73487.1	Човешки вирус херпес 5	GQ221974.1 KR534211.1 GQ221975.1 NC_006273.2
ВК полиомавирус	AB369101.1 NC_001538.1 AB369092.1	Човешки вирус херпес 7	AF037218.1 NC_001716.2
<i>Chlamydia trachomatis</i>	CP018052.1 CP017731.1	Човешки вирус херпес 8	NC_009333.1
<i>Cutibacterium acnes</i>	NZ_CP006032.1	Човешки папиломавирус тип 18	NC_001357.1 MF288723.1
Денге вирус	KR919821.1 KR052012.1	Човешки папиломавирус тип 16	KY549222.1 KY549321.1
Вирус херпес симплекс тип 2	Z86099.2	Човешки парвовирус В19	KX752821.1 MH201456.1
Човешки аденовирус 2	J01917.1 AC_000007.1	Грип А (всички сегменти)	MN253846.1 MH797924.1 MH842686.1 MN037420.1
Човешки аденовирус 5	KX868466.2 AC_000008.1 AY601635.1	JC вирус	J02226.1 AB081030.1
Човешки аденовирус С	AY339865.1	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	CP034022.1 CP041586.1
Човешки бета-херпес вирус 6А	NC_001664.4 X83413.2	<i>Propionibacterium acnes C1</i>	CP003877.1
Човешки вирус херпес 1	X14112.1 JQ780693.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	AP017922.1
Човешки вирус херпес 2	LT797626.1 JN561323.2	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	AP008934.1
Човешки вирус херпес 3	DQ479962.1 KC847290.1	Вирус „Западен Нил“	M12294.2 MF797870.1

**Аналитична специфичност – потенциално интерфериращи ендогенни и екзогенни вещества**

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay е оценен за резистентност към интерференция с лекарства, които обикновено се предписват на заразени с HIV-1 лица, повишени нива на ендогенни вещества и наличие на аутоимунни заболявания. Към подбрана плазма с EDTA, отрицателна за РНК на HIV-1, са добавени 3 Log<sub>10</sub> IU/mL HIV-1, както и албумин (120 mg/mL), билирубин (0,03 mg/mL), хемоглобин (3,5 mg/mL), триглицериди (5,3 mg/mL) и лекарствени съединения (*таблица 7*) в концентрация, три пъти по-висока от C<sub>max</sub>. Към плазма от болестно състояние при системен лупус еритематодес (Systemic Lupus Erythematosus, SLE), антинуклеарно антитяло (Antinuclear Antibody, ANA) и ревматоиден артрит (Rheumatoid Arthritis, RA), която е подбрана отрицателна по подобен начин, е добавен 3 Log<sub>10</sub> IU/mL HIV-1 за тестване. Не се наблюдава съществена интерференция. Резултатите от проучването са обобщени в *Таблица 8*.

**Таблица 7: Лекарствени съединения, тествани за интерференция**

Класификация на лекарствата	Име на лекарството
Имуномодулатор	Интерферон алфа-2а, интерферон алфа-2b, рибавирин
Антагонист на CCR5	Маравирик
Фармакокинетичен подобрител	Кобицистат
Ненуклеозиден инхибитор на обратната транскриптаза (ННИОТ)	Доравирин, ефавиренц, невирапин, рилпивирин
Протеазен инхибитор (ПИ)	Дарунавир, ампренавир, ритонавир, саквинавир, симепревир
Нуклеозиден инхибитор на обратната транскриптаза (НИОТ) или инхибитор на ДНК полимеразата	Цидофовир, ламивудин, ганцикловир, тенофовир дисопроксил, зидовудин, валганцикловир, абакавир сулфат, емтрицитабин, ентекавир, фоскарнет, софосбувир
Инхибитор на интегразата	Ралтегравир, долутегравир
Фузионен инхибитор	Енфувиртид
Лечение на опортюнистични инфекции	Азитромицин, кларитромицин, флуконазол, сулфаметоксазол, триметоприм

**Таблица 8: Обобщение на тестването за интерференция – екзогенни и ендогенни агенти**

Ендогенни	Средно [HIV-1] (Log <sub>10</sub> IU/mL)	Отклонение (Log <sub>10</sub> IU/mL)
Албумин	3,03	-0,11
Билирубин	3,04	-0,09
Хемоглобин	3,04	-0,09
Триглицериди	3,14	0,01
Екзогенни (лекарства)	Средно [HIV-1] (Log <sub>10</sub> IU/mL)	Отклонение (Log <sub>10</sub> IU/mL)
Група 1: Интерферон алфа-2а, интерферон алфа-2b, рибавирин, маравирик, кобицистат	3,06	-0,07
Група 2: Ралтегравир, долутегравир, ефавиренц, невирапин, рилпивирин	3,04	-0,09
Група 3: Доравирин, дарунавир, ампренавир, ритонавир, саквинавир	3,11	-0,02
Група 4: Симепревир, енфувиртид, абакавир сулфат, емтрицитабин, ентекавир, фоскарнет	3,12	-0,01
Група 5: Цидофовир, ламивудин, ганцикловир, тенофовир дисопроксил, зидовудин, валганцикловир	3,14	0,01
Група 6: Софосбувир, азитромицин, кларитромицин, флуконазол, сулфаметоксазол, триметоприм	3,13	0
Болестно състояние	Средно [HIV-1] (Log <sub>10</sub> IU/mL)	Отклонение (Log <sub>10</sub> IU/mL)
Системен лупус еритематодес (Systemic Lupus Erythematosus, SLE)	3,00	-0,13
Антинуклеарно антитяло (Antinuclear Antibody, ANA)	3,10	-0,03
Ревматоиден артрит (Rheumatoid Arthritis, RA)	3,25	0,12

### Прецизност

Прецизността на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay е определена с тестване на панел от четири аликвотни части с HIV-1, подготвени в HIV-1 отрицателна плазма (с HIV-1 подвид В и група О от EQAPOL, Университет „Дюк“ (Duke University)), в три (3) NeuMoDx Systems в продължение на шест (6) дни. Във всяка система и за всяко ниво на аликвотните части са изпълнени общо 12 серии, при което са получени 216 реплика на ниво за целия тестван диапазон. Характеризирани са прецизността в рамките на обработка, в рамките на деня и в рамките на системата и общото стандартно отклонение е определено като  $\leq 0,15 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ . Не е установена съществена разлика в работните характеристики в различните системи, дни или серии, както е показано в Таблица 9. Прецизността между различните оператори не е характеризирана, защото операторът не играе съществена роля при обработката на аликвотни части с NeuMoDx System.

Таблица 9: Вътрешнолабораторна прецизност – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay в системи NeuMoDx System

	Прицелна концентрация ( $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ )	Средна концентрация ( $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ )	SD в рамките на системата	SD в рамките на деня	SD в рамките на обработката	Вътрешнолабораторно (общо) SD
Подвид В	5,7	5,62	0,09	0,09	0,09	0,10
	3,7	3,62	0,10	0,10	0,10	0,13
Група О	4,7	4,65	0,09	0,09	0,09	0,12
	2,7	2,66	0,13	0,13	0,12	0,15

### Вариация между различните партии

Възпроизводимостта на резултатите от различни партии на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay е проверена с ретроспективен анализ на данни от качествени тестове за три (3) отделни партии критични реактиви. Тези данни са генерирани посредством функционално тестване на реактивите в панел от три прицелни нуклеинови киселини на HIV (AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) в плазма, отрицателна за РНК на HIV-1, заедно с отрицателни аликвотни части от плазма. Общо 18 положителни и 14 отрицателни реплика са обработени на една партида NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip. Анализирани са вариацията в рамките на една партида и между различните партии и резултатите са представени в Таблица 10. Общото абсолютно отклонение не превишава  $0,14 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ , а общото стандартно отклонение спадна под  $0,25 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ . 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 спецификацията.

Таблица 10: Възпроизводимост на резултатите от различни партии – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Прицелна концентрация ( $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ )	Средна концентрация Общо ( $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ )	Брой валидни тестове	Отклонение  ( $\text{Log}_{10} \text{ IU/mL}$ )	SD между партидите	SD в рамките на партидата	Общо SD
5,00	4,96	18	0,04	0,08	0,08	0,12
3,00	2,86	17	0,14	0,12	0,18	0,22
2,00	1,92	18	0,08	0,17	0,14	0,22

### Ефективност на контролата

В NeuMoDx HIV-1 Quant Assay е включена контрола за обработката на аликвотните части (Sample Process Control, SPC2) за съобщаване на неуспешно изпълнените процеси и/или амплификации. Ефективността на тази вътрешна контрола е тествана в аналогов NeuMoDx HCV Quant Assay при представителни условия за критични проблеми при технологичните стъпки, които биха могли да възникнат по време на обработката на аликвотната част и евентуално може да не бъдат засечени от датчиците, които следят работните характеристики на NeuMoDx System. Обработени са средни положителни и отрицателни аликвотни части с цел проверка на вътрешната контрола при наличие на инхибитори на реакцията, липса на на капване на NeuMoDx Wash Reagent и липса на издухване на промивката. Условието с отрицателно отражение върху определянето на прицелната нуклеинова киселина са се отразили по подобен начин и на откриването на SPC2 и са обобщени по-долу в Таблица 11. Всички тествани случаи демонстрират способността на контролата за обработката на аликвотните части да проследява правилно неуспешните изпълнения или че неоткритите неуспешни изпълнения не оказват съществен ефект върху откриването и количественото определяне на прицелната нуклеинова киселина.

**Таблица 11: Обобщение на проучването на ефективността на контролата за обработката на аликвотните части**

Симулирано условие на неуспешно изпълнение	Състояние на амплификацията на SPC2	Състояние на амплификацията на прицелната нуклеинова киселина	Резултат от анализа
<b>Presence of Inhibitor (Наличие на инхибитор)</b>	Not Amplified (Няма амплификация)	Not Amplified (Няма амплификация)	Unresolved (Неполучен)
<b>No Wash Reagent Delivered (Няма на капан реактив за отделяне)</b>	Not Amplified (Няма амплификация)	Not Amplified (Няма амплификация)	Unresolved (Неполучен)
<b>No Wash Blowout (Няма издухване на проливката)</b>	Amplified (Има амплификация)	Amplified (Има амплификация)	Positive, $\pm 0.3 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ of Control (Положителен, $\pm 0,3 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$ от контрола)

### Кръстосана контаминация

Процентът кръстосана контаминация за NeuMoDx HIV-1 Quant Assay е определен с тестване на шест (6) серии с редуващи се високи положителни и отрицателни за HIV-1 аликвотни части. Общо 36 отрицателни репликата и 36 репликата с висок титър на HIV-1 при  $6,0 \text{ Log}_{10} \text{ IU/mL}$  са обработени в шахматна конфигурация. Всички репликати от отрицателните аликвотни части са съобщени като отрицателни, с което се демонстрира, че няма кръстосана контаминация по време на обработката на аликвотните части в 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 EDTA и 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). Пресните проби са съхранявани при температура  $2 - 4 \text{ }^\circ\text{C}$ , преди в тях да бъдат добавени четири нива на HIV-1 (включително отрицателно ниво), обхващащи диапазона за количествено определяне на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, и да бъдат тествани за равностойност. След това аликвотните части са замразени за най-малко 24 часа при температура  $\leq -20 \text{ }^\circ\text{C}$ . След този период на съхранение в замразено състояние пробите са размразени и тествани отново. Резултатите от пробите с EDTA спрямо тези с ACD и от пресните спрямо замразените проби от плазма са сравнени за равностойност посредством регресионен анализ. Резултатите от анализа на данните от линейната регресия не показват съществена разлика в съобщените стойности между плазма с EDTA и с ACD или между условията на съхранение на прясна и замразена плазма, тествани с NeuMoDx HIV-1 Quant Assay. Извършено е допълнително тестване за демонстриране на равностойността на работните характеристики на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay при първични спрямо вторични проби. Панели от HIV-1-отрицателни проби от донори с добавена прицелна нуклеинова киселина на HIV-1 (AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) и от HIV-1-положителни проби от донори най-напред са обработени от първичните епруветки с проби. След обработката на първичната епруветка останалото количество плазма от всяка проба се отмерва във вторична епруветка за проби и се обработва отново. Не е установена съществена разлика в съобщените резултати при обработката на плазма в първични и вторични епруветки.

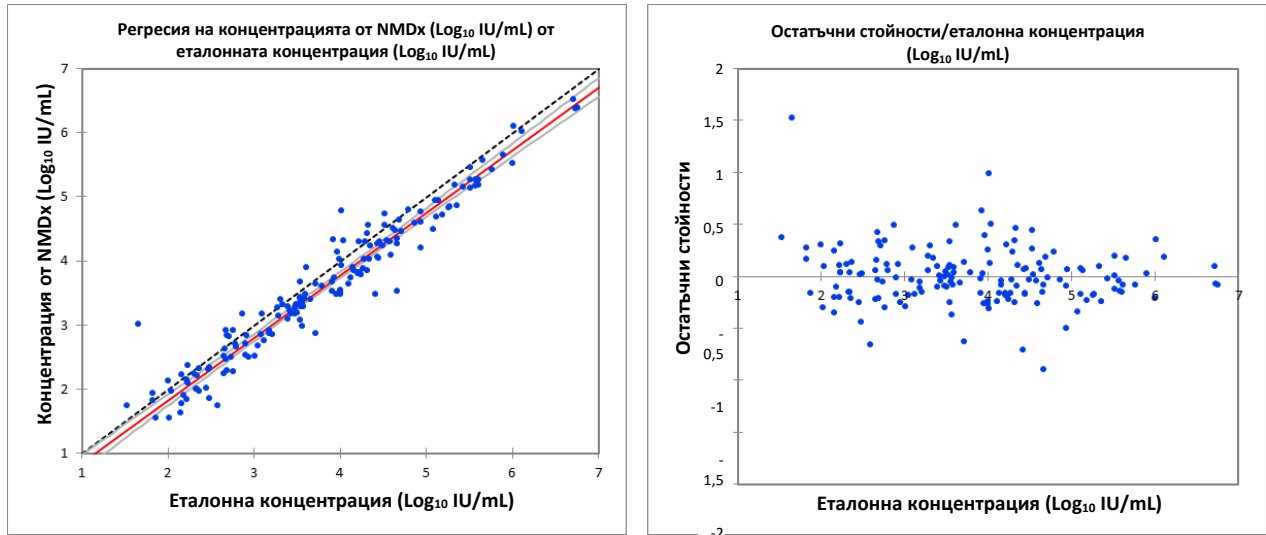
### Сравнение на клиничните методи

Работните характеристики на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay при качествено и количествено определяне са сравнени с тези на одобрен от FDA/CE-IVD анализ за сравнение. Извършено е вътрешно тестване чрез „едностранно заслепено“ проучване на анонимизирани остатъчни проби от плазма, получени от регистриран от FDA доставчик. Общо 723 проби от плазма са обработени с NeuMoDx HIV-1 Quant Assay в различни системи NeuMoDx System. Всички аликвотни части, които първоначално са дали невалиден резултат, са успешно обработени отново, като са дали валидни резултати за всички проби, включени в проучването.

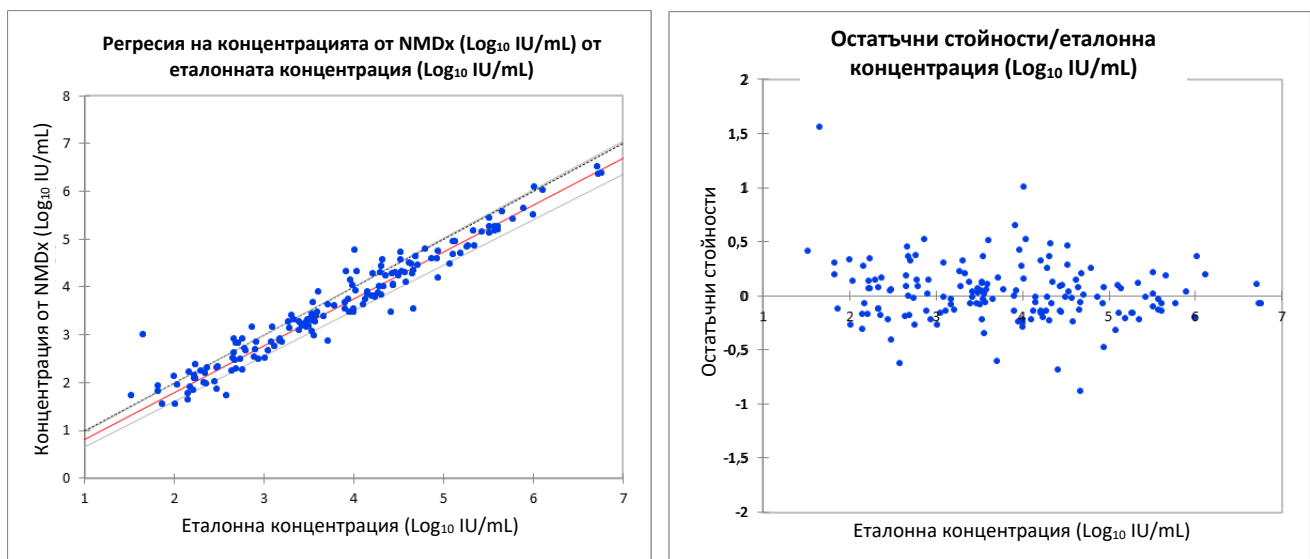
Грешките в обработката и системата, получени по време на тестването, са минимални и попадат в рамките на критериите за приемане. От общо дванадесет (12) неопределени (IND) резултата и седем (7) неполучени (UNR) резултата се получава процент неопределени резултати 1,48% (95% ДИ: 0,85 – 2,57%) и процент неполучени резултати 0,86% (95% ДИ: 0,42 – 1,77%). Общият процент валидни резултати е определен като 97,7% (95% ДИ: 96,4 – 98,5%).

От получените 723 валидни резултата 165 са съобщени като положителни от NeuMoDx HIV-1 Quant Assay със съответните стойности на концентрацията, зададени от еталонното тестване. Извършени са регресионни анализи по Деминг и Пасинг-Баблок за определяне на корелацията между съобщените стойности на концентрацията от NeuMoDx HIV-1 Quant Assay и съобщените стойности от еталонното тестване.

Генерирани са графики на регресията и остатъчните стойности за представяне на корелацията между концентрациите от NeuMoDx HIV-1 Quant Assay и стойностите на концентрацията от еталонния тест за всички тествани аликвотни части с концентрации, зададени и по двата начина. Графиките, генерирани от анализите по метода на Деминг и по метода на Пасинг-Баблок, са показани съответно на *Фигури 5 и 6*. Качеството на регресионното изглаждане по Деминг е илюстрирано с коефициент на слоуп 0,975 (95% ДИ: 0,939; 1,011) и интерсепт (отклонение) -0,121 (95% ДИ: -0,276; 0,033), с което се демонстрира, че резултатите за концентрацията, получени от NeuMoDx HIV-1 Quant Assay и еталонните тестове, са с висока корелация и допустимо отклонение. Качеството на линейното изглаждане по Пасинг-Баблок е илюстрирано с коефициент на слоуп 0,981 (95% ДИ: 0,950; 1,012) и интерсепт (отклонение) -0,167 (95% ДИ: -0,288; -0,036), с което по подобен начин се демонстрира, че резултатите за концентрацията, получени от NeuMoDx HIV-1 Quant Assay и еталонните тестове, са с висока корелация и допустимо отклонение. Резултатите от анализите по Деминг и Пасинг-Баблок са обобщени по-долу в *Таблица 12*.



**Фигура 5:** Графики на равностойността (вляво) и остатъчните стойности (вдясно) – кумулативен анализ на резултатите от NeuMoDx HIV-1 Quant Assay спрямо тези от еталонните тестове – анализ по Деминг



**Фигура 6:** Графики на равностойността (вляво) и остатъчните стойности (вдясно) – кумулативен анализ на резултатите от NeuMoDx HIV-1 Quant Assay спрямо тези от еталонните тестове – анализ по Пасинг-Баблок

**Таблица 12:** Резюме на линейните регресионни анализи по Деминг и Пасинг-Баблок

Анализ по Deming		Анализ по Passing-Bablok	
Интерсепт	Коефициент на слoup	Интерсепт	Коефициент на слoup
-0,121	0,975	-0,167	0,981
95% ДИ (-0,276; 0,033)	95% ДИ (0,939; 1,011)	95% ДИ (-0,288; -0,036)	95% ДИ (0,950; 1,012)

От всичките 723 валидни резултата, получени с NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, 171 са съобщени като положителни от еталонните тестове, а 552 са съобщени като отрицателни. Чувствителността и специфичността на NeuMoDx HIV-1 Quant Assay са изчислени спрямо еталонните тестове и са обобщени по-долу в *Таблица 13*. От всичките 171 тествани положителни аликвотни части 165 са съобщени като положителни от NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, което демонстрира 96,5% чувствителност (95% ДИ: 92,6 – 98,4%). От всичките 552 тествани отрицателни аликвотни части 551 са съобщени като отрицателни от NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, което демонстрира 99,8% чувствителност (95% ДИ: 99,0 – 100%).



**Таблица 13:** Резултати от сравнението на качествените методи за NeuMoDx HIV-1 Quant Assay спрямо еталонни тестове

		Еталонен тест		
		HIV-1	Positive (Положителен)	Negative (Отрицателен)
NeuMoDx	Positive (Положителен)	165	1	166
	Negative (Отрицателен)	6	551	557
	Общо	171	552	723
<b>Чувствителност = 96,5% (95% ДИ 92,6 – 98,4%)</b>				
<b>Специфичност = 99,8% (95% ДИ 99,0 – 100%)</b>				

Освен това общо 12 панела за сероконверсия, предлагани на пазара, включващи 75 отделни аликвотни части от плазма, са обработени с NeuMoDx HIV-1 Quant Assay с цел демонстриране на откриването на РНК на HIV-1 преди откриването на антитела/антигени с наличните на пазара тестове. В анализа са включени елементи от панела с предварителна сероконверсия, ранна сероконверсия и сероконверсия. Извършен е анализ за сравнение на първото кървене, при което е открита РНК на HIV-1 от NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, в сравнение с първото кървене с положителен резултат за HIV-1 антитяло/антиген, съобщен от наличните на пазара, одобрени от FDA/CE-IVD, кръвни тестове. При всички тествани панели NeuMoDx HIV-1 Quant Assay открива РНК на HIV-1 с най-малко едно кървене по-рано, отколкото кръвните тестове за откриване на антитела/антигени. Резултатите са обобщени в *Таблица 14*.

**Таблица 14:** Сравнение на панелите за сероконверсия – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay спрямо кръвните тестове за HIV-1 Ab/Ag

Идент. № на панела	Ден на кървене с първи положителен резултат	
	NeuMoDx HIV-1 Quant Assay	Кръвен тест за HIV-1 Ab/Ag
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

Извършени са допълнителни анализи за сравнение на първото кървене, при което е открита РНК на HIV-1 от NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, с първото кървене с положителен резултат за РНК на HIV-1, получен с наличните на пазара, одобрени от FDA/CE-IVD, тестове за нуклеинови киселини (Nucleic Acid Testing, NAT). При всички тествани панели NeuMoDx HIV-1 Quant Assay открива РНК на HIV-1 при същото кървене, както останалите NAT тестове за откриване на РНК на HIV-1. При два панела NeuMoDx HIV-1 Quant Assay демонстрира откриване на РНК на HIV-1 с едно кървене по-рано, отколкото останалите NAT тестове. Резултатите са обобщени в *Таблица 15*.

**Таблица 15:** Сравнение на панелите за сероконверсия – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay спрямо NAT за РНК на HIV-1

Идент. № на панела	Ден на кървене с първи положителен резултат	
	NeuMoDx HIV-1 Quant Assay	Еталонен NAT
PRB969	4	4
PRB968	5	5
0600-0230	2	2
0600-0270	2	2
0600-0258	2	2
0600-0244 (PRB962)	3	3
0600-0272	3	3
PRB967	2	2
PRB964	3	4
PRB963	4	5
0600-0263	5	5
PRB956	2	2

### ЦИТИРАНИ ИЗТОЧНИЦИ



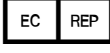











1. Barré-sinoussi F, Ross AL, Delfraissy JF. Past, present and future: 30 years of HIV research. *Nat Rev Microbiol.* 2013;11(12):877-83.
2. Piot P, Plummer FA, Mhalu FS, Lamboray JL, Chin J, Mann JM. AIDS: an international perspective. *Science.* 1988;239(4840):573-9.
3. Acheson ED. AIDS: a challenge for the public health. *Lancet.* 1986;1(8482):662-6.
4. De Cock KM, Jaffe HW, Curran JW. The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS.* 2012;26(10):1205-13.
5. Gaines H, Von sydow MA, Von stedingk LV, et al. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS.* 1990;4(10):995-9.
6. Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. The immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 1993;328(5):327-35.
7. Daar ES, Moudgil T, Meyer RD, Ho DD. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med.* 1991;324(14):961-4.
8. Clark SJ, Saag MS, Decker WD, et al. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N Engl J Med.* 1991;324(14):954-60.
9. Coombs RW, Collier AC, Allain JP, et al. Plasma viremia in human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 1989;321(24):1626-31.
10. Horsburgh CR, Ou CY, Jason J, et al. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet.* 1989;2(8664):637-40.
11. Piatak M, Saag MS, Yang LC, et al. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science.* 1993;259(5102):1749-54.
12. Mellors JW, Margolick JB, Phair JP, et al. Prognostic value of HIV-1 RNA, CD4 cell count, and CD4 Cell count slope for progression to AIDS and death in untreated HIV-1 infection. *JAMA.* 2007;297(21):2349-50.
13. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV. Department of Health and Human Services. Available at <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>. Updated December 18, 2019.
14. Cohen MS, Chen YQ, Mccauley M, et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. *N Engl J Med.* 2011;365(6):493-505.
15. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature.* 1995;373(6510):123-6.
16. Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature.* 1995;373(6510):117-22.
17. Dimitrov DS, Martin MA. HIV results in the frame. CD4+ cell turnover. *Nature.* 1995;375(6528):194-5.
18. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5<sup>th</sup> edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

### ТЪРГОВСКИ МАРКИ

NeuMoDx™ и NeuDry™ са търговски марки на NeuMoDx Molecular, Inc.  
AccuPlex™ е търговска марка на SeraCare Life Sciences, Inc.  
BD Vacutainer® е регистрирана търговска марка на Becton, Dickinson and Company  
BD и PPT™ 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.

### СИМВОЛИ

СИМВОЛ	ЗНАЧЕНИЕ
<b>R only</b>	За употреба само по лекарско предписание
	Производител
	Медицинско изделие за <i>инвитро</i> диагностика
	Упълномощен представител в Европейската общност
	Каталожен номер
	Код на партида
	Срок на годност
	Ограничение за температура
	Ограничение за влажност
	Само за еднократна употреба
	Съдържанието е достатъчно за <math>\langle n \rangle</math> теста
	Вижте инструкциите за употреба
	Внимание
	Биологични рискове
	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  
Australia



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



Техническа поддръжка/Докладване на бдителност: [support@qiagen.com](mailto:support@qiagen.com)

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