

REF 300300 NeuMoDx™ HCV Quant Test Strip

R only

FORSIKTIG: Bare til amerikansk eksport

IVD Til *in vitro*-diagnostikk med NeuMoDx 288 og NeuMoDx 96 Molecular SystemsOppdateringer finnes på: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Detaljerte anvisninger finnes i brukerhåndboken for NeuMoDx 288 Molecular System, art.nr. 40600108

Detaljerte anvisninger finnes i brukerhåndboken for NeuMoDx 96 Molecular System, art.nr. 40600317

TILTENKT BRUK

NeuMoDx HCV Quant Assay er en automatisert *in vitro*-nukleinsyre amplifikasjonstest for kvantifisering av hepatitt C-virus (HCV)-RNA i humane plasma- og serumprøver for HCV-antistoffpositive genotyper 1 til 6 hos HCV-infiserte personer. NeuMoDx HCV Quant Assay på NeuMoDx 288 Molecular System og NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)) omfatter automatisert RNA-ekstraksjon for å isolere mål nukleinsyren fra prøven og sanntids-polymerasekjedereaksjon med omvendt transkriptase (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) for å målrette mot de svært konservative sekvensene i hepatitt C-virusets genom.

NeuMoDx HCV Quant Assay er beregnet brukt som hjelp i håndteringen av pasienter med HCV-infeksjoner. Resultatene fra NeuMoDx HCV Quant Assay må tolkes i sammenheng med alle relevante kliniske og laboratoriemessige funn. NeuMoDx HCV Quant Assay er ikke beregnet brukt som en screeningtest i blod eller blodprodukter, eller for å diagnostisere den kliniske statusen til HCV-infeksjon.

SAMMENDRAG OG FORKLARING

Humant fullblod som samles i sterile blodprøvetakingsrør som inneholder enten etylenediaminetetraeddiksyre (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) eller syre-citratdekstrose (Acid Citrate-Dextrose, ACD) som antikoaguleringsmidler eller i plasmaklargjøringsrør (Plasma Preparation Tubes, PPT), kan brukes til klargjøring av plasma, mens serum bør samles i serumprøvetakingsrør eller serumseparasjonsrør (Serum Separation Tubes, SST). Som forberedelse til testing lastes plasma eller serum i et sekundærprøverør eller fraksjonert blod i et primært prøverør kompatibelt med NeuMoDx System på NeuMoDx System ved hjelp av en utpekt prøverørstransportør. For hver prøve blandes en alikvot av plasma-/serumprøve med NeuMoDx Lysis Buffer 3, og NeuMoDx System utfører automatisk alle trinnene som kreves for å ekstrahere mål nukleinsyren, forberede det isolerte RNA-et for sanntids-RT-PCR-amplifikasjon, og hvis slikt er til stede, amplifisere og detektere amplifikasjonsproduktene. NeuMoDx HCV Quant Assay måler to svært konsentrerte regioner av HCV-genomet for å øke analysens robusthet. NeuMoDx HCV Quant Assay omfatter også en RNA-prøveprosesskontroll (Sample Process Control, SPC2) for å overvåke forekomst av potensielle hemmende stoffer samt NeuMoDx System- eller reagenssvikt som kan oppstå under ekstraksjons- og amplifikasjonsprosessen.

HCV er et enkelttrådet, positivt sense-RNA-virus som kan forårsake både akutt og kronisk infeksjon.¹ Det finnes per i dag ingen vaksine for hepatitt C. Mens akutt infeksjon vanligvis er asymptomatisk og svært sjelden knyttet til livstruende sykdom, kan mer enn halvparten av personene infisert med HCV utvikle kronisk infeksjon. For dem som har kronisk HCV-infeksjon, er risikoen for levercirrhose mellom 15–30 % innen 20 år. Globalt er det anslått at 71 millioner mennesker antas å ha kronisk HCV-infeksjon der et vesentlig antall av disse forventes å utvikle cirrhose eller leverkreft.²⁻⁴ Siden HCV er et blodbåret virus, overføres det primært via blod og blodprodukter. Utbredt benyttelse av blodscreeningstester har redusert insidensen av infeksjoner fra donert blod.¹

Deteksjon av antistoffer mot HCV skiller ikke mellom aktive og eliminerte infeksjoner. Følgelig krever HCV-laboratorietestingsalgoritmer diagnose av aktive HCV-infeksjoner hos antistoffpositive personer gjennom deteksjon av HCV RNA i plasma eller serum før behandling startes (om nødvendig). Kvantifisering av HCV RNA (viral mengde) brukes nå rutinemessig for å definere og overvåke vellykket HCV-behandling.

Aktuelle retningslinjer for håndtering og behandling av HCV-infeksjoner anbefaler kvantitativ HCV RNA-testing før start av antiviral behandling for å etablere baseline, og ved 12 uker eller senere, etter fullført behandling. Ytterligere tidspunkter kan av og til anbefales. Vedvarende virologiske svar (SVR) er målet for HCV-behandling og er definert som ikke-detekterbart HCV-RNA (med en analyse som har en deteksjonsgrense på <25 IE/ml) etter behandling.⁵⁻⁷ Nylige retningslinjer fra American Association for the Study of Liver Diseases foreslår testing av HCV-RNA ikke bare ved baseline, men også regelmessig under behandling (dvs. 4 uker) og ved 12 uker etter fullført behandling. Tester for deteksjon av HCV-RNA, i kombinasjon med de serologiske testene, brukes til å identifisere en aktiv HCV-infeksjon.⁶

PROSEDYREPRINSIPPER

NeuMoDx HCV Quant Assay kombinerer automatisert RNA-ekstraksjon, -amplifikasjon og -deteksjon ved sanntids-RT-PCR. Fullblodsprøver samles i EDTA-, ACD- eller PPT-rør for klargjøring av plasma og/eller i SST-rør for klargjøring av serum. Den primære (fraksjonerte) blodprøven eller en plasma/serum-alikvot i et kompatibelt sekundærprøverør merkes med strekkode og plasseres på NeuMoDx System. NeuMoDx System aspirerer automatisk en alikvot av plasmaet/serumet som blandes med NeuMoDx Lysis Buffer 3 og stoffene i NeuMoDx Extraction Plate for å starte behandling. NeuMoDx System automatiserer og integrerer RNA-ekstraksjon og -konsentrasjon, reagensklargjøring og nukleinsyre amplifikasjon/-deteksjon av målsekvensene ved hjelp av sanntids-RT-PCR. Den inkluderte prøveprosesskontrollen (Sample Process Control, SPC2) overvåker forekomst av hemmende stoffer og system-, prosess- eller reagenssvikt. Ingen operatørtiltak er nødvendige straks prøven er lastet inn på NeuMoDx System.

NeuMoDx System bruker en kombinasjon av varme, lytisk enzym og ekstraksjonsreagenser til automatisk å utføre lysering, RNA-ekstraksjon og fjerning av hemmere. De frisatte nukleinsyrene innfanges av paramagnetiske partikler. Partiklene, med bundet nukleinsyre, lastes inn i NeuMoDx Cartridge der de ubundne elementene vaskes vekk med NeuMoDx Wash Reagent. Det bundne RNA-et elueres deretter ved hjelp av NeuMoDx Release Reagent. NeuMoDx System bruker det eluerte RNA-et til å rehydrere egenutviklede NeuDry™-amplifikasjonsreagenser som inneholder alle elementene som kreves for amplifikasjon av HCV- og SPC2-målene. Dette muliggjør samtidig amplifikasjon og deteksjon av både mål- og kontroll-RNA-sekvenser. Etter rekonstitusjon av de tørkede RT-PCR-reagensene overfører NeuMoDx System den klargjorte RT-PCR-ferdigblandingen til ett PCR-kammer (per prøve) på NeuMoDx Cartridge. Omvendt transkripsjon, amplifikasjon og deteksjon av kontroll- og målsekvensene (hvis de er til stede) skjer i PCR-kammeret. NeuMoDx Cartridge er ment å inneholde amplitonet etter PCR, noe som praktisk talt eliminerer risikoen for kontaminering etter amplifikasjon.

De amplifiserte målene detekteres i sanntid ved hjelp av hydrolyseprobekjemi (vanligvis kalt TaqMan®-kjemi) med fluorogene oligonukleotidprobemolekyler som er spesifikke for amplitonene for respektive mål. TaqMan-prober består av en fluorofor som er kovalent bundet til 5'-enden av oligonukleotidproben og en slukker i 3'-enden. Mens proben er intakt, er fluoroforen og slukkeren i nærheten, noe som fører til at slukermolekylet undertrykker fluorescensen sluppet ut av fluoroforen via Försters resonansenergioverføring (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

TaqMan-prober er utformet slik at de hybridiserer innenfor en DNA-region amplifisert av et spesifikt sett primere. Etter hvert som Taq DNA-polymerase forlenger primeren og syntetiserer den nye tråden, bryter Taq DNA-polymerasens 5'- til 3'-eksonukleaseaktivitet ned proben som har hybridisert til malen. Degradering av proben frisetter fluoroforen og bryter nærheten til slukkeren, noe som dermed overkommer slukkingseffekten på grunn av FRET og tillater deteksjon av fluoroforen. Det resulterende fluorescenssignalet detektert i NeuMoDx System kvantitativ RT-PCR termosyklus er direkte proporsjonalt med den frisatte fluoroforen og kan korreleres til mengden mål som er til stede.

En TaqMan-probe merket med en fluorofor (magnetisering: 490 nm og stråling: 521 nm) i 5'-enden, og en mørk slukker i 3'-enden, brukes til å detektere HCV-RNA. For deteksjon av SPC2 er TaqMan-proben merket med et alternativt fluorescerende fargestoff (magnetisering: 535 nm og stråling: 556 nm) i 5'-enden, og en mørk slukker i 3'-enden. NeuMoDx System-programvaren overvåker det fluorescerende signalet fra TaqMan-probene i slutten av hver amplifikasjonssyklus. Når amplifikasjon er fullført, analyserer NeuMoDx System-programvaren dataene og rapporterer et endelig resultat (POSITIVE (Positivt) / NEGATIVE (Negativt) / INDETERMINATE (Ubestemt) / UNRESOLVED (Uløst) / NO RESULT (Intet resultat)). Hvis et resultat er positivt og den beregnede konsentrasjonen er innenfor kvantifiseringsgrensene, gir NeuMoDx System-programvaren også en kvantitativ verdi knyttet til prøven.

REAGENSER/FORBRUKSARTIKLER

Medfølgende materiale

REF	Innhold	Enheter per pakke	Tester per enhet	Tester per pakke
300300	NeuMoDx HCV Quant Test Strip Tørkede RT-PCR-reagenser som inneholder HCV- og SPC2-spesifikke TaqMan-prober og -primere	6	16	96

Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med (fås separat fra NeuMoDx)

REF	Innhold
100200	NeuMoDx Extraction Plate Tørkede paramagnetiske partikler, lytisk enzym og prøveprosesskontroller
800200 eller 800202	NeuMoDx HCV Calibrators Engangssett med høy og lav kalibrator for HCV for å fastsette kalibreringskurvens gyldighet
900201 eller 900202	NeuMoDx HCV External Controls Engangssett med positiv og negativ kontroll for HCV
400600	NeuMoDx Lysis Buffer 3
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (300 µl) med filtre
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (1000 µl) med filtre

Nødvendige instrumenter

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



ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- NeuMoDx HCV Quant Test Strip er bare for *in vitro*-diagnostikk med NeuMoDx Systems.
- Bruk aldri reagensene eller forbruksartiklene etter angitt utløpsdato.
- Ikke bruk reagenser hvis sikkerhetsforseglingen er brutt, eller hvis emballasjen er skadet ved ankomst.
- Ikke bruk forbruksartikler eller reagenser hvis beskyttelsesposen er åpen eller brutt ved ankomst.
- En gyldig testkalibrering (generert ved å behandle høye og lave kalibratorer fra NeuMoDx HCV Calibrators) må være tilgjengelig før testresultater kan genereres for kliniske prøver.
- NeuMoDx HCV External Controls må behandles hver 24. time under hele testingen med NeuMoDx HCV Quant Assay.
- Minste prøvevolum av sekundæralikvoter er avhengig av rørstørrelsen, prøverørstransportøren og prøvevolumbehandlingen som definert nedenfor. Volum under spesifisert minimum kan føre til feilen «Quantity Not Sufficient» (Mengde ikke tilstrekkelig).
- Bruk av prøver som er oppbevart ved feil temperatur eller lenger enn de angitte lagringstidene, kan gi ugyldige eller feilaktige resultater.
- Unngå til enhver tid mikrobe- og ribonuklease (RNase)-kontaminering av alle reagenser og forbruksartikler. Bruk av sterile, RNase-frie overføringspipetter til engangsbruk anbefales ved bruk av sekundære prøverør. Bruk en ny pipette for hver prøve.
- For å unngå kontaminering må du ikke håndtere eller bryte fra hverandre eventuell NeuMoDx Cartridge etter amplifikasjon. NeuMoDx Cartridges skal ikke hentes opp fra beholderen for biologisk farlig avfall (NeuMoDx 288 Molecular System) eller boksen for biologisk farlig avfall (NeuMoDx 96 Molecular System) under noen omstendigheter. NeuMoDx Cartridge er beregnet på å hindre kontaminering.
- I tilfeller der PCR-tester med åpne rør også er gjennomført av laboratoriet, må det påses at NeuMoDx HCV Quant Test Strip, de ytterligere forbruksartiklene og reagensene som kreves for testing, personlig verneutstyr som hansker og laboratoriefrakker og NeuMoDx System ikke er kontaminert.
- Bruk rene, pulverfrie nitrilhansker ved håndtering av NeuMoDx-reagenser og -forbruksartikler. Sørg for ikke å berøre den øvre overflaten av NeuMoDx Cartridge, folieforseglingsoverflaten av NeuMoDx HCV Quant Test Strip og NeuMoDx Extraction Plate eller den øvre overflaten av NeuMoDx Lysis Buffer 3. Forbruksartiklene og reagensene må håndteres kun ved å berøre sideoverflatene.
- Sikkerhetsdatablader (Safety Data Sheets, SDS) finnes for hvert reagens (hvis det er relevant) på www.qiagen.com/neumodx-ifu
- Vask hendene grundig når testen er fullført.
- Ikke pipetter gjennom munnen. Ikke røyk, drikk eller spis i områder der prøver eller reagenser blir håndtert.
- Håndter alltid prøver som om de er smittefarlige og i samsvar med sikre laboratorieprosedyrer som de som er beskrevet i *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁸ og i CLSI-dokument M29-A4.⁹
- Kasser ubrukte reagenser og avfall i samsvar med lokale, regionale og nasjonale bestemmelser.
- Må ikke gjenbrukes.



PRODUKTLAGRING, -HÅNTERING OG -STABILITET

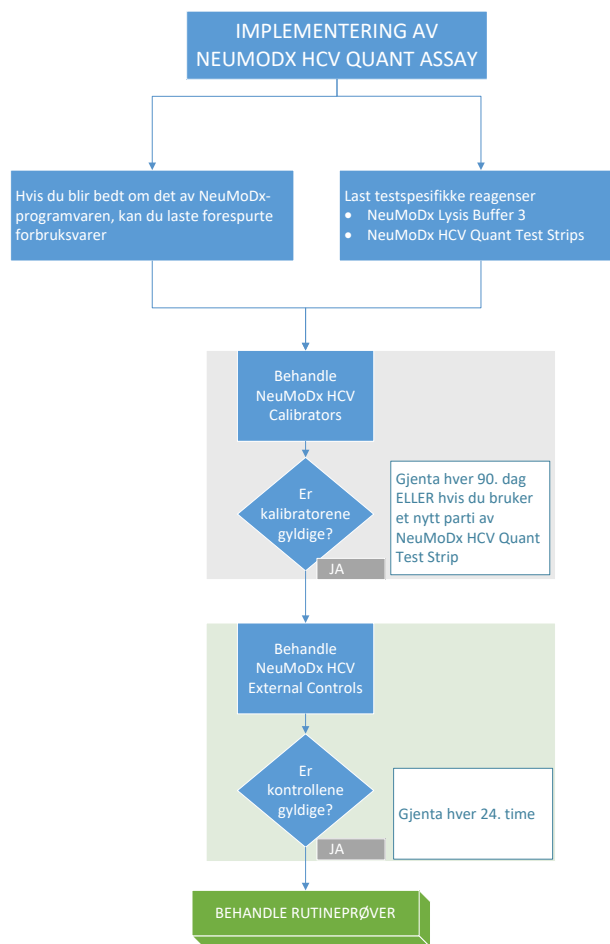
- NeuMoDx HCV Quant Test Strips er stabile i primæremballasjen innenfor angitt utløpsdato på produktetiketten når de lagres mellom 4 og 28 °C.
- Ikke bruk forbruksartikler og reagenser etter angitt utløpsdato.
- Ikke bruk testprodukt hvis primær- eller sekundæremballasjen er visuelt kompromittert.
- Ikke last inn igjen testprodukter som tidligere er lastet inn på et annet NeuMoDx System.
- Når NeuMoDx HCV Quant Test Strip er lastet inn, kan den forbli på NeuMoDx System i opptil 14 dager. Gjenværende holdbarhet for innlastede teststrimler spores av programvaren og rapporteres til brukeren i sanntid. Systemet varsler når en teststrimmel som har vært i bruk utover tillatt periode, må fjernes.

INNSAMLING, TRANSPORT OG OPPBEVARING AV PRØVE

1. Håndter alle prøver, kalibratorer og kontroller som om de vil kunne overføre smittefarlige stoffer.
2. Aldri frys fullblod eller prøver oppbevart i primærrør.
3. For å klargjøre plasmaprøver skal fullblod samles inn i sterile rør ved hjelp av EDTA eller ACD som antikoaguleringsmidler eller i plasmaklargjøringsrør (PPT). Følg anvisningene fra produsenten av prøvetakingsrøret for klargjøring og lagring.
4. For å klargjøre serumprøver skal fullblod samles i serumrør eller SST-rør. Følg anvisningene fra produsenten av prøvetakingsrøret for klargjøring og lagring.
5. Prøver kan testes i primærprøvetakingsrør eller sekundærprøverør. Anbefalt for primærrørtesting:
 - a. Plasmaprøver: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD #368589) eller BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
 - b. Serumprøver: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD #367820) eller BD Vacutainer SST™ Tube (BD #367988).

6. Klargjorte prøver kan lagres på NeuMoDx System i opptil 8 timer før behandling. Hvis ytterligere lagringstid er nødvendig, anbefales det at prøvene enten nedkjøles eller fryses i sekundære alikvoter.
7. Klargjorte prøver skal lagres ved 2–8 °C i ikke mer enn 7 dager før testing og høyst 8 timer ved romtemperatur.
8. Klargjorte prøver i sekundærrør kan lagres ved ≤ -20 °C i opptil 24 uker før behandling; fryste prøver bør ikke utsettes for mer enn to (2) fryse/tine-sykluser før bruk.
 - a. Plasmaprøver som er fryst og gjennomgår én (1) fryse/tine-syklus, kan lagres på systemet i ytterligere 8 timer.
 - b. Plasmaprøver som er fryst og gjennomgår to (2) fryse/tine-sykluser, skal ikke lagres på systemet i mer enn 4 timer.
 - c. Serumprøver som er fryst og gjennomgår én (1) eller to (2) fryse/tine-sykluser, skal testes umiddelbart etter tining.
 - d. Hvis prøver fryses, må disse få tine fullstendig ved romtemperatur (15–30 °C). Roter for å generere en jevt fordelt prøve.
 - e. Frysing av plasma/serum i primærprøvetakingsrør anbefales ikke.
9. Hvis prøver sendes, må de være pakket og merket i samsvar med gjeldende nasjonale og/eller internasjonale bestemmelser.
10. Merk prøver klart, og angi prøver er for HCV-testing.
11. Gå videre til avsnittet *Testklargjøring*.

Hele prosessen for implementering av NeuMoDx HCV Quant Assay er oppsummert nedenfor i *figur 1*.



Figur 1: Implementeringsarbeidsflyt for NeuMoDx HCV Quant Assay

BRUKSANVISNING

Testklargjøring

NeuMoDx HCV Quant Assay kan kjøres direkte fra primære blodprøvetakingsrør eller fra prøvealiquoter i sekundære prøverør. Behandling kan kjøres ved hjelp av én av to arbeidsflyter for behandling av prøvevolumer – arbeidsflyten med 550 μ l prøvevolum eller arbeidsflyten med 200 μ l prøvevolum.

1. Sett prøvestrekkodeetiketten på et prøverør som er kompatibelt med NeuMoDx System. Det primære blodprøvetakingsrøret kan merkes og plasseres direkte i en 32-rørs prøverørstransportør etter sentrifugering, som anvist av produsenten. Eventuelt kan en aliquot av plasmaet overføres til et sekundærprøverør for behandling på NeuMoDx System.
2. Hvis prøven testes i primærprøvetakingsrøret, plasserer du røret med strekkode i en prøverørstransportør og sikrer at hetten tas av før røret lastes inn på NeuMoDx System. Minimumsvolumer **over** buffycoat-lag er definert nedenfor og oppfylles hvis prøver samles inn og behandles i henhold til anvisningene fra rørprodusenten. Ytelse er ikke garantert for prøver som tas feil.

Rørtype	Minste påkrevde prøvevolum	
	550 µl arbeidsflyt	200 µl arbeidsflyt
SST – 3,5 ml	1550 µl	1200 µl
PPT/SST – 5,0 ml	1800 µl	1450 µl
PPT/SST – 8,5 ml	2500 µl	2200 µl
K ₂ EDTA/serum – 4,0 ml	1050 µl	700 µl
K ₂ EDTA/serum – 6,0 ml	1250 µl	900 µl
K ₂ EDTA/serum – 10,0 ml	1600 µl	1250 µl

3. Hvis det brukes sekundære prøverør:
 - a. Roter prøven forsiktig for å oppnå ensartet fordeling.
 - b. Bruk en ny overføringspipette for hver prøve, og overfør en aliquot av plasma eller serum til prøverøret med strekkode som er kompatibelt med NeuMoDx System, i henhold til volumene angitt nedenfor:

Prøverørstransportør	Rørstørrelse	Minste påkrevde prøvevolum	
		550 µl arbeidsflyt	200 µl arbeidsflyt
32-Tube Specimen Tube Carrier (Prøverørstransportør med 32 rør)	11–14 mm diameter og 60–120 mm høyde	700 µl	400 µl
24-Tube Specimen Tube Carrier (Prøverørstransportør med 24 rør)	14,5–18 mm diameter og 60–120 mm høyde	1100 µl	800 µl
Low Volume Specimen Tube Carrier (Prøverørstransportør for lavt volum)	1,5 ml mikrosentrifugerør med konisk bunn	650 µl	300 µl

- c. Sørg for ikke å overføre eventuelle koagler fra prøven til prøverøret.

Bruk av NeuMoDx System

Detaljerte anvisninger finnes i brukerhåndbøkene for NeuMoDx 288 og 96 Molecular Systems (art.nr. 40600108 og 40600317)

1. Last testorden inn på NeuMoDx System i henhold til ønsket arbeidsflyt med prøvevolum og prøverørtype.
 - 550 µl prøvevolum testes ved å definere prøvetypen som «**Plasma**» eller «**Serum**»
 - 200 µl prøvevolum testes ved å definere prøvetypen som «**Plasma2**» eller «**Serum2**»
 - Hvis det ikke er definert i testorden, brukes prøvetypen **Plasma** i et **Secondary Tube** (Sekundærrør) som standard.
2. Fyll opp én eller flere NeuMoDx System Test Strip-transportører med NeuMoDx HCV Quant Test Strip(s) og bruk berøringsskjermen til å laste teststrimmeltransportøren(e) inn i NeuMoDx System.
3. Hvis NeuMoDx System-programvaren ber deg om det, tilsetter du de nødvendige forbruksartiklene på NeuMoDx System-forbruksartikkeltransportører og bruker trykkskjermen til å laste transportørene inn i NeuMoDx System.
4. Hvis NeuMoDx System-programvaren ber om det, må du bytte NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, tømme primingavfallet, beholderen for biologisk farlig avfall (kun NeuMoDx 288 Molecular System), beholderen for spissavfall (kun NeuMoDx 96 Molecular System) eller boksen for biologisk farlig avfall (kun NeuMoDx 96 Molecular System), avhengig av hva som er relevant.
5. Hvis NeuMoDx System-programvaren ber om det, behandler du NeuMoDx HCV Calibrators og/eller NeuMoDx HCV External Controls. Du finner mer informasjon vedrørende kalibratorer og kontroller i avsnittet *Resultatbehandling*.
6. Last prøve-/kalibrator-/kontrollrør inn i en prøverørstransportør, og kontroller at hettene er tatt av alle rør.

7. Plasser prøverørstransportøren(e) på autoinnlasterhyllen, og bruk trykkskjermen til å laste transportøren(e) inn i NeuMoDx System. Dette starter behandling av de innlastede prøvene for de identifiserte testene, forutsatt at en gyldig testordre finnes på systemet.

BEGRENSNINGER

1. NeuMoDx HCV Quant Test Strip kan bare brukes på NeuMoDx Systems.
2. Ytelsen til NeuMoDx HCV Quant Test Strip har blitt etablert for plasmaprøver klargjort med EDTA/ACD som antikoaguleringsmiddel eller serumprøver klargjort i serumseparatorrør. Bruk av NeuMoDx HCV Quant Test Strip med andre kilder har ikke vært vurdert, og ytelseegenskaper er ukjente for andre prøvetyper.
3. Ytelsen til NeuMoDx HCV Quant Test Strip har blitt etablert for primærrørtesting ved hjelp av BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tubes og BD PPT Plasma Preparation Tubes, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tubes og BD SST Tubes.
4. Håndtering av prøver utenfor lagringsvilkårene kan påvirke den kvantitative nøyaktigheten av NeuMoDx HCV Quant Assay negativt, men vil ha mindre sannsynlighet for å påvirke den kvalitative (positive/negative) bestemmelsesraten.
5. Lagring av serumprøver på systemet etter forlenget fryst lagring og med to fryse/tine-sykluser uten umiddelbar testing kan påvirke den kvantitative nøyaktigheten av NeuMoDx HCV Quant Assay negativt.
6. En liten økning i deteksjonsgrensen og nedre kvantifiseringsgrense for NeuMoDx HCV Quant Assay er observert ved bruk av arbeidsflyten med 200 µl prøvevolum.
7. NeuMoDx HCV Quant Assay må ikke brukes med prøver fra personer som behandles med heparin.
8. Siden deteksjon av HCV er avhengig av antallet mål-RNA-viruspartikler i prøven, er pålitelige resultater avhengig av korrekt prøvetaking, -håndtering og -lagring.
9. NeuMoDx HCV Calibrators og NeuMoDx HCV External Controls må behandles som anbefalt i pakningsvedleggene når du blir bedt om det av NeuMoDx System-programvaren før rutinemessige kliniske prøver behandles.
10. Feilaktige resultater kan skyldes feil prøvetaking, -håndtering og -lagring, teknisk feil eller prøverørsforveksling. I tillegg kan falskt negative resultater forekomme fordi antallet virale partikler i prøven er under grensen for deteksjon av NeuMoDx HCV Quant Assay.
11. Bruk av NeuMoDx System er begrenset til personell som har fått opplæring i bruk av NeuMoDx System.
12. Hvis både HCV-målet og SPC2-målet ikke amplifiseres, rapporteres et ugyldig resultat (Indeterminate (Ubestemt), No Result (Intet resultat) eller Unresolved (Uløst)), og testen bør gjentas.
13. Hvis NeuMoDx HCV Quant Assay-resultatet er Positive (Positivt), men kvantifiseringsverdien er over kvantifiseringsgrensene, vil NeuMoDx System rapportere hvorvidt detektert HCV var *under* nedre kvantifiseringsgrense (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) eller *over* øvre kvantifiseringsgrense (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
14. Hvis detektert HCV var *under* LLoQ, kan NeuMoDx HCV Quant Assay gjentas (om ønsket) med en annen alikvot av prøven.
15. Hvis den detekterte HCV er over ULoQ, kan NeuMoDx HCV Quant Assay gjentas med en fortynt alikvot av den opprinnelige prøven. Det anbefales en 1:100 eller 1:1000 fortytning i HCV-negativt plasma eller Basematrix 53-fortynner (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Konsentrasjonen til den opprinnelige prøven beregnes på følgende måte:
$$\text{opprinnelig prøvekonsentrasjon} = \text{Log}_{10}(\text{fortynningsfaktor}) + \text{rapportert konsentrasjon av den fortyntede prøven}$$
16. Sporadisk forekomst av PCR-hemmere i plasma og serum kan føre til systemkvantifiseringsfeil. Hvis dette forekommer, anbefales det at testen gjentas med samme prøve fortynt i Basematrix ved 1:10 eller 1:100.
17. Et positivt resultat viser ikke nødvendigvis forekomst av levedyktige organismer. Men et positivt resultat er presumptivt for at hepatitt C-virus-RNA er til stede.
18. Delesjon eller mutasjoner i de konserverte regionene NeuMoDx HCV Quant Assay har som mål, kan påvirke deteksjon eller kan føre til et feilaktig resultat ved bruk av NeuMoDx HCV Quant Test Strip.
19. Resultater fra NeuMoDx HCV Quant Assay bør brukes som et supplement til kliniske observasjoner og andre opplysninger, som er tilgjengelig for legen. Testen er ikke ment å diagnostisere infeksjon.
20. God laboratoriepraksis, herunder skifte av hansker mellom håndtering av pasientprøver, anbefales for å unngå kontaminering.

RESULTATBEHANDLING

Tilgjengelige resultater kan vises eller skrives ut fra fanen «Results» (Resultater) i vinduet Results (Resultater) på trykkskjermen i NeuMoDx System. Resultatene fra NeuMoDx HCV Quant Assay genereres automatisk av NeuMoDx System-programvaren ved hjelp av beslutningsalgoritmen og resultatbehandlingsparametere angitt i NeuMoDx HCV-Assay Definition File (HCV ADF). Et resultat kan rapporteres som Negative (Negativt), Positive (Positivt) med en rapportert HCV-konsentrasjon, Positive (Positivt) over ULoQ, Positive (Positivt) under LLoQ, Indeterminate (Ubestemt, IND), Unresolved (Uløst, UNR) eller No Result (Intet resultat, NR) basert på amplifikasjonsstatusen for målet og prøvebehandlingskontrollen. Resultater rapporteres basert på ADF-beslutningsalgoritmen, oppsummert nedenfor i *tabell 1*.

Tabell 1. Sammendrag av NeuMoDx HCV Quant Assay-beslutningsalgoritmen

RESULTAT	HCV-mål	Prøveprosesskontroll (Sample Process Control, SPC2)	Resultattolkning
Positive (Positiv) med rapportert konsentrasjon	Amplified (Amplifisert) 0,9 ≤ [HCV] ≤ 8,2 log ₁₀ IE/ml (550 µl arbeidsflyt) 1,5 ≤ [HCV] ≤ 8,2 log ₁₀ IE/ml (200 µl arbeidsflyt)	Amplified (Amplifisert) eller Not Amplified (Ikke amplifisert)	HCV-RNA detektert innen kvantitativt område
Positive (Positiv), over ULoQ	Amplified (Amplifisert) [HCV] > 8,2 log ₁₀ IE/ml	Amplified (Amplifisert) eller Not Amplified (Ikke amplifisert)	HCV-RNA detektert over kvantitativt område
Positive (Positiv), under LLoQ	Amplified (Amplifisert) [HCV] < 0,9 log ₁₀ IE/ml (550 µl arbeidsflyt) [HCV] < 1,5 log ₁₀ IE/ml (200 µl arbeidsflyt)	Amplified (Amplifisert) eller Not Amplified (Ikke amplifisert)	HCV-RNA detektert under kvantitativt område
Negative (Negativ)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Amplified (Amplifisert)	HCV-RNA ikke detektert
Indeterminate (Ubestemt)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Ikke amplifisert, systemfeil detektert, prøvebehandling fullført)		Alle målresultater var ugyldige. Test prøve på nytt†
No Result* (Intet resultat)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Ikke amplifisert, systemfeil detektert, prøvebehandling avbrutt)		Prøvebehandling ble avbrutt. Test prøve på nytt†
Unresolved (Uløst)	Not Amplified, No System Error Detected (Ikke amplifisert, ingen systemfeil detektert)		Alle målresultater var ugyldige. Test prøve på nytt†

*Flagget No Result (Intet resultat) er bare rapportert på NeuMoDx System-programvareversjon 1.8 og nyere.

†NeuMoDx System er utstyrt med automatisk funksjon for ny kjøring / gjentatt kjøring som sluttbrukeren kan velge å bruke for å sikre at et resultat av typen IND/UNR/NR automatisk behandles på nytt for å minimere forsinkelser i resultatrapporteringen.

Testberegning

- For prøver innenfor kvantifiseringsområdet av NeuMoDx HCV Quant Assay beregnes konsentrasjonen av HCV-RNA i prøvene ved hjelp av den lagrede standardkurven i forbindelse med kalibreringskoeffisienten og prøvevolumet.
 - En kalibreringskoeffisient beregnes basert på resultatene fra NeuMoDx HCV Calibrators behandlet for å etablere gyldighet av standardkurven, for et spesifikt parti av NeuMoDx HCV Quant Test Strip, på et spesifikt NeuMoDx System.
 - Kalibreringskoeffisienten er omfattet i den endelige bestemmelsen av konsentrasjonen av HCV RNA.
 - NeuMoDx-programvaren står for prøveinnmatingsvolumet ved bestemmelse av konsentrasjonen av HCV-RNA per ml prøve.
- NeuMoDx HCV Quant Assay-resultater rapporteres i Log₁₀ IE/ml.
- Den resulterende kvantifiseringen av de ukjente prøvene er sporbar til WHO's 5. HCV internasjonale standard.

Testkalibrering

En gyldig kalibrering basert på standardkurven er nødvendig for å kvantitere HCV RNA i prøvene. For å generere gyldige resultater må en testkalibrering fullføres ved hjelp av de eksterne kalibratorene fra NeuMoDx Molecular, Inc.

Kalibratorer

- Et sett av NeuMoDx HCV Calibrators må behandles med hvert nytt parti av NeuMoDx HCV Quant Test Strips, hvis en ny HCV-analysedefinisjonsfil lastes opp til NeuMoDx System, hvis det aktuelle settet av kalibratorer er over gyldighetsperioden (for øyeblikket satt til 90 dager), eller hvis NeuMoDx System-programvaren modifiseres.
- NeuMoDx System-programvaren vil varsle brukeren om når kalibratorene må behandles. Et nytt parti med teststrimler kan ikke brukes til testing før kalibratorene er ferdig behandlet.

3. Kalibreringsgyldighet etableres på følgende måte:
 - a) Et sett med to kalibratorer – én (1) høy og én (1) lav – må behandles for å fastslå gyldighet.
 - b) Minst to (2) av de tre (3) replikatene må gi resultater innen forhåndsdefinerte parametere. Det nominelle målet for lav kalibrator er $3 \log_{10}$ IE/ml, og det nominelle målet for høy kalibrator er $5 \log_{10}$ IE/ml.
 - c) En kalibreringskoeffisient beregnes til å representere forventet variasjon mellom teststrimmelpartier. Denne kalibreringskoeffisienten benyttes til bestemmelse av endelig HCV-konsentrasjon.
4. Hvis én av eller begge kalibratorene ikke består gyldighetskontrollen, må du gjenta behandlingen av de(n) ikke fullførte kalibratoren(e) ved hjelp av et nytt hetteglass. Hvis én kalibrator ikke består gyldighetskontrollen, er det mulig kun å gjenta den ikke fullførte kalibratoren siden systemet ikke krever at brukeren kjører begge igjen.
5. Hvis kalibratoren(e) ikke godkjennes i gyldighetskontrollen en etterfølgende gang, må du kontakte NeuMoDx Molecular, Inc.

Kvalitetskontroll

Ifølge lokale bestemmelser er laboratoriet vanligvis ansvarlig for kontrollprosedyrer som overvåker nøyaktighet og presisjon for hele den analytiske prosessen, og det må fastsette antall, type og frekvens av testkontrollmaterialer ved hjelp av kontrollerte ytelses-spesifikasjoner for et uendret, godkjent testsystem.

Eksterne kontroller

1. Positive og negative eksterne kontroller må behandles hver 24. time under hele testingen med NeuMoDx HCV Quant Assay. Hvis det ikke finnes et sett med gyldige resultater av eksterne kontroller, vil NeuMoDx System-programvaren gi brukeren beskjed om at kontrollene må behandles før prøveresultater kan rapporteres.
2. Gyldigheten til eksterne kontroller vil vurderes av NeuMoDx System basert på det forventede resultatet. Den positive kontrollen skal gi et HCV Positive (HCV-positivt) resultat, og den negative kontrollen bør gi et HCV Negative (HCV-negativt) resultat.
3. Håndtering av uoverensstemmende resultater for eksterne kontroller skal utføres på følgende måte:
 - a) Testresultatet Positive (Positivt) rapportert for en negativ kontrollprøve angir et prøvekontamineringsproblem.
 - b) Testresultatet Negative (Negativt) rapportert for en positiv kontrollprøve kan indikere at det er et reagens- eller instrumentrelatert problem.
 - c) I hvert av de ovenstående tilfellene, eller ved resultatet Indeterminate (Ubestemt, IND) eller No Result (Intet Resultat, NR), må du gjenta NeuMoDx HCV External Controls med nye hetteglass med kontrollen(e) som ikke besto gyldighetstesten.
 - d) Hvis positiv NeuMoDx HCV External Control fortsetter å rapportere resultatet Negative (Negativt), må du kontakte teknisk støtte hos NeuMoDx.
 - e) Hvis negativ NeuMoDx HCV External Control fortsetter å rapportere resultatet Positive (Positivt), må du forsøke å eliminere alle kilder til potensiell kontaminering, herunder bytte alle reagenser før du kontakter teknisk støtte hos NeuMoDx.

(Interne) prøveprosesskontroller

En eksogen prøveprosesskontroll (Sample Process Control, SPC2) er integrert i NeuMoDx Extraction Plate og gjennomgår hele prosessen av nukleinsyre-ekstraksjon og sanntids-RT-PCR-amplifikasjon med hver prøve. Primere og probe spesifikk for SPC2 er også inkludert i hver NeuMoDx HCV Quant Test Strip, noe som muliggjør deteksjon av forekomst av SPC2 sammen med mål-HCV RNA (hvis slikt er til stede) via multipleks sanntids-RT-PCR. Deteksjon av SPC2-amplifikasjon gjør det mulig for NeuMoDx System-programvare å overvåke effekten av RNA-ekstraksjons- og RT-PCR-amplifikasjonsprosessene.

Ugyldige resultater

Hvis en NeuMoDx HCV Quant Assay utført på NeuMoDx System ikke gir et gyldig resultat etter fullført prøvebehandling, rapporteres den som enten Indeterminate (Ubestemt, IND), No Result (Intet resultat, NR) eller Unresolved (Uløst, UNR) basert på typen feil som har skjedd.

Et ubestemt resultat (IND) rapporteres hvis det detekteres en NeuMoDx System-feil under prøvebehandlingen. Hvis et ubestemt resultat (IND) rapporteres, anbefales det å teste på nytt.

Et UNR-resultat rapporteres hvis ingen gyldig amplifikasjon av HCV-RNA eller SPC2 detekteres, noe som angir mulig reagenssvikt eller forekomst av hemmere i fravær av systemfeil. Hvis et UNR-resultat rapporteres, anbefales det å teste på nytt som et første trinn. Hvis en ny test svikter, kan en fortynnet prøve brukes til å dempe effektene av eventuell prøvehemming.

Hvis en NeuMoDx HCV Quant Assay utført på NeuMoDx System ikke gir et gyldig resultat og prøvebehandling avbrytes før den er fullført, rapporteres den som No Result (Intet resultat, NR). Hvis NR rapporteres, anbefales det å teste på nytt.

YTELSEEGENSKAPER

Analytisk sensitivitet – Deteksjonsgrense ved bruk av WHO-standard

Den analytiske sensitiviteten til NeuMoDx HCV Quant Assay ble karakterisert ved testing av negative prøver og en fortyningsserie av WHOs 5. internasjonale standard (genotype 1) i screenet negativt humant plasma og serum for å bestemme deteksjonsgrensen (LoD) på NeuMoDx Systems. LoD-en ble definert som det laveste målnivået oppdaget ved en rate på 95 % som bestemt av Probit-stilanalyse. Studien ble utført over 3 dager mellom flere systemer med flere partier av NeuMoDx-reagenser. Hvert system (N288 og N96) behandlet 18 replikater ved hvert fortyningsnivå per dag. Deteksjonsrater vises i *tabell 2*. En tilleggsstudie ble utført for å bekrefte LoD for NeuMoDx HCV Quant Assay ved bruk av arbeidsflyten med 200 µl prøvevolum. Resultatet vises i *tabell 3*.

Tabell 2. Positive deteksjonsrater for LoD-bestemmelse av NeuMoDx HCV Quant Assay – arbeidsflyt med 550 µl

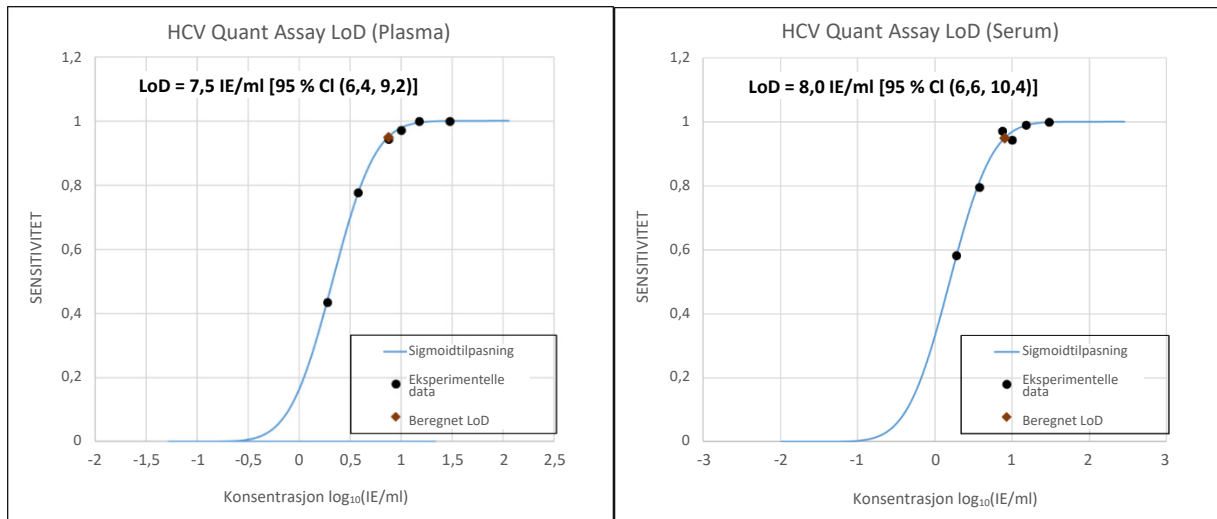
Målkonsentrasjon [IE/ml]	Målkonsentrasjon [\log_{10} IE/ml]	PLASMA			SERUM		
		Antall gyldige tester	Antall positive	Deteksjonsrate	Antall gyldige tester	Antall positive	Deteksjonsrate
30	1,48	108	108	100 %	108	108	100 %
15	1,18	108	108	100 %	108	107	99 %
10	1,00	108	105	97 %	108	102	94 %
7,5	0,88	108	102	94 %	108	105	97 %
3,75	0,57	108	84	78 %	108	86	80 %
1,875	0,27	108	47	44 %	108	63	58 %
NEG	0	108	0	0 %	107	1	0,93 %

Tabell 3. Positive deteksjonsrater for LoD-bestemmelse av NeuMoDx HCV Quant Assay – arbeidsflyt med 200 µl

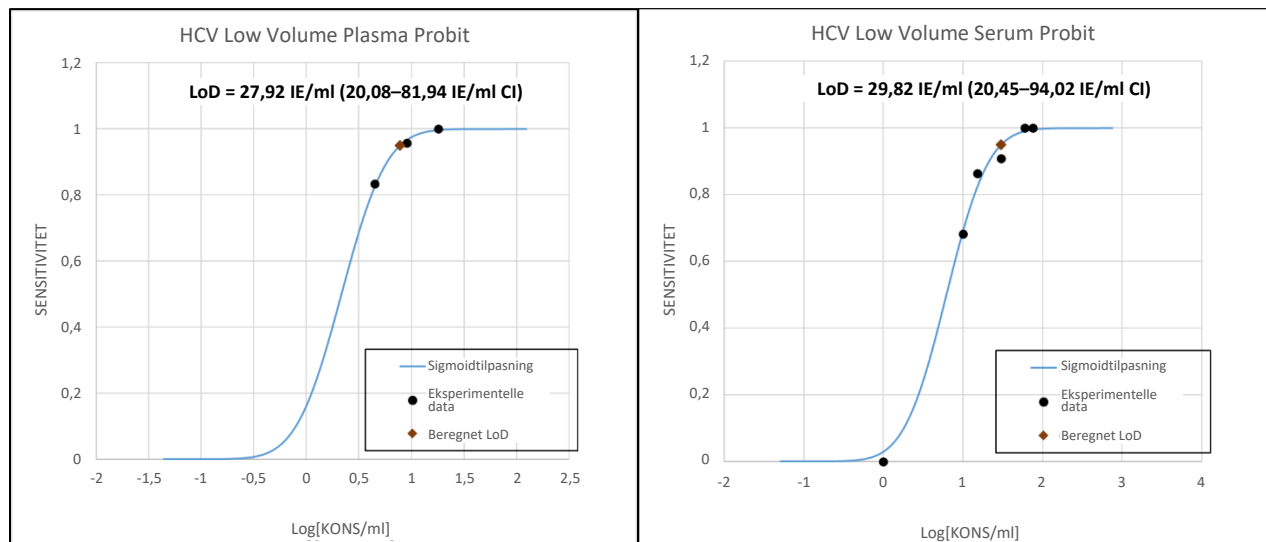
Målkonsentrasjon [IE/ml]	Målkonsentrasjon [\log_{10} IE/ml]	PLASMA			SERUM		
		Antall gyldige tester	Antall positive	Deteksjonsrate	Antall gyldige tester	Antall positive	Deteksjonsrate
75	1,88	I/R	I/R	I/R	22	22	100 %
60	1,78	22	22	100 %	22	22	100 %
30	1,48	22	21	95,5 %	22	20	90,9 %
15	1,18	22	17	77,3 %	22	19	86,4 %
10	1,00	22	13	59,1 %	22	15	68,2 %
NEG	0	22	0	0 %	22	0	0 %

LoD for NeuMoDx HCV Quant Assay i plasma mellom alle genotyper ble bestemt til å være 7,5 IE/ml (95 % CI 6,4–9,2 IE/ml) [(0,9 \log_{10} IE/ml) (95 % CI 0,8–1,0 \log_{10} IE/ml)] som testet på NeuMoDx 288 Molecular System ved hjelp av arbeidsflyten med 550 µl prøvevolum (*figur 2*). LoD for NeuMoDx HCV Quant Assay for serumprøver ble bestemt til å være 8,0 IE/ml (95 % CI 6,6–10,4 IE/ml) [(0,9 \log_{10} IE/ml) (95 % CI 0,8–1,0 \log_{10} IE/ml)] ved hjelp av arbeidsflyten med 550 µl prøvevolum (*figur 2*); LoD-spesifikasjonen for begge prøvetypene ved hjelp av arbeidsflyten med 550 µl prøvevolum er **8,0 IE/ml (0,9 \log_{10} IE/ml)**.

LoD for NeuMoDx HCV Quant Assay ved hjelp av arbeidsflyten med 200 µl prøvevolum ble vist å være 27,9 IE/ml (95 % CI 20,1–81,9) i plasmaprøver og 29,8 IE/ml (95 % CI 20,5–94,0) i serumprøver (*figur 3*); LoD-spesifikasjon for begge prøvetypene ved hjelp av arbeidsflyten med 200 µl prøvevolum er **30,0 IE/ml (1,5 \log_{10} IE/ml)**.



Figur 2: Probit-stilanalyse brukt til å bestemme LoD av NeuMoDx HCV Quant Assay, plasma (venstre) og serum (høyre) – arbeidsflyt med 550 µl



Figur 3: Probit-stilanalyse brukt til å bestemme LoD av NeuMoDx HCV Quant Assay, plasma (venstre) og serum (høyre) – arbeidsflyt med 200 µl

Analytisk sensitivitet – Kvantifiseringsgrense – Nedre kvantifiseringsgrense (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) med WHO-standarden

Nedre kvantifiseringsgrense (LLOQ) er definert som det laveste målnivået ved hvilket > 95 % deteksjon oppnås OG TAE ≤ 1,0. For å bestemme LLOQ ble den totale analytiske feilen (Total Analytical Error, TAE) beregnet for hvert av HCV-målnivåene som ble vist å rapportere > 95 % deteksjon som del av LoD-beregning. TAE er definert på følgende måte:

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

Skjevheten er den absolutte verdien av forskjellen mellom gjennomsnittet for beregnet konsentrasjon og den forventede konsentrasjonen. SD henviser til standardavviket fra den kvantifiserte verdien av prøven.

Samlede resultater for de 6 nivåene av HCV-plasma- og -serumprøver testet i LLoQ-studien ved hjelp av genotype 1 med arbeidsflyten med 550 µl prøvevolum vises i *tabell 4*. Resultater fra ytterligere testing ved hjelp av arbeidsflyten med 200 µl prøvevolum vises i *tabell 5*.

Tabell 4. LLoQ for NeuMoDx HCV Quant Assay, med skjevhet og TAE – arbeidsflyt med 550 µl

Målkons. [IE/ml]	Målkons. [log ₁₀ IE/ml]	Plasma					Serum				
		Gjennomsnittlig kons. [log ₁₀ IE/ml]	Deteksjon (%)	SD	Skjevhet	TAE	Gjennomsnittlig kons. [log ₁₀ IE/ml]	Deteksjon (%)	SD	Skjevhet	TAE
30,00	1,48	1,41	100	0,32	0,07	0,71	1,39	100	0,30	0,08	0,69
15,00	1,18	1,24	100	0,36	0,06	0,79	1,23	99	0,32	0,06	0,70
10,00	1,00	1,07	97	0,35	0,07	0,77	1,14	94	0,36	0,14	0,85
7,50	0,88	1,01	94	0,44	0,13	1,02	1,12	97	0,25	0,25	1,09
3,75	0,57	1,08	78	0,43	0,51	1,38	1,17	80	0,58	0,59	1,76
1,88	0,27	1,11	44	0,36	0,83	1,55	1,11	58	0,69	0,84	2,22

Tabell 5. LLoQ for NeuMoDx HCV Quant Assay, med skjevhet og TAE – arbeidsflyt med 200 µl

Målkons. [IE/ml]	Målkons. [log ₁₀ IE/ml]	Plasma					Serum				
		Gjennomsnittlig kons. [log ₁₀ IE/ml]	Deteksjon (%)	SD	Skjevhet	TAE	Gjennomsnittlig kons. [log ₁₀ IE/ml]	Deteksjon (%)	SD	Skjevhet	TAE
75	1,88	I/R	I/R	I/R	I/R	I/R	1,56	100	0,23	0,32	0,78
60	1,78	1,93	100	0,39	0,15	0,93	1,56	100	0,27	0,22	0,76
30	1,48	1,35	96	0,44	0,11	0,99	1,45	91	0,41	0,03	0,85
15	1,18	1,37	77	0,42	0,18	1,03	1,36	86	0,53	0,18	1,25
10	1,00	1,26	59	0,56	0,25	1,36	1,15	68	0,53	0,15	1,21

LLoQ for NeuMoDx HCV Quant Assay er bestemt til å være 7,7 IE/ml (0,9 log₁₀ IE/ml) for **plasma**, og 8,4 IE/ml, (0,9 log₁₀ IE/ml) for **serum** ved hjelp av arbeidsflyten med 550 µl prøvevolum. LLoQ for både **plasma og serum** er bestemt til å være **8,4 IE/ml, (0,9 log₁₀ IE/ml)** ved hjelp av arbeidsflyten for 550 µl prøvevolum.

LLoQ for NeuMoDx HCV Quant Assay ved hjelp av WHO-standarden er bestemt til å være 30,0 IE/ml (1,5 log₁₀ IE/ml) for plasma, og 29,8 IE/ml, (1,37 log₁₀ IE/ml) for serum ved hjelp av arbeidsflyten med 200 µl prøvevolum. LLoQ for både plasma og serum er bestemt til å være **30,0 IE/ml (0,9 log₁₀ IE/ml)** ved hjelp av arbeidsflyten med 200 µl prøvevolum.

Analytisk sensitivitet – LoD og LLoQ mellom HCV-genotyper

LoD-en ble innledningsvis etablert for genotype 1 (WHO's 5. internasjonale standard), og deretter ble ytterligere testing utført rundt den etablerte LoD ved hjelp av hver av de andre 5 genotypene. Trettiseks (36) replikater på nivåer tilsvarende 2x, 1x og 0,5x av den 95 % CI øvre grense for LoD ble testet ved hjelp av NeuMoDx HCV Quant Assay ved hjelp av plasma med arbeidsflyten med 550 µl prøvevolum. Den positive prosentandelsraten for hver genotype på hvert av disse testede nivåene ble ordnet i tabell og brukt til å beregne LoD-en ved hjelp av en Probit-stilanalyse.

Den totale analytiske feilen ved disse testede nivåene ble også beregnet. Det laveste nivået med 95 % positiv deteksjon og beregnet TAE på ≤ 1,0 ble igjen ansett å være LLoQ for genotypen. Disse resultatene bekrefter at NeuMoDx HCV Quant Assay har utmerket og tilsvarende deteksjonsytelse mellom alle seks genotyper med et område 4,5–7,5 IE/ml, herunder resultatene oppnådd med WHO's 5. internasjonale standard (genotype 1). LoD for NeuMoDx HCV Quant Assay mellom genotyper ble totalt bestemt til å være 7,5 IE/ml (0,88 log₁₀ IE/ml), og LLoQ ble bestemt til å være høyeste verdi som er 7,7 IE/ml (0,9 log₁₀ IE/ml), som ble rapportert for WHO's 5. internasjonale standard (genotype 1 ovenfor). *Tabell 6* viser LoD- og LLoQ-resultatene for testing mellom HCV-genotyper som bestemt i plasma.

Tabell 6. HCV-genotyper testet i plasma ved hjelp av arbeidsflyt med 550 µl prøvevolum

GENOTYPE	LoD [IE/ml]	LLoQ [IE/ml]
1	7,5	7,7
2	4,5	5,2
3	7,5	7,5
4	6,0	6,0
5	4,8	5,5
6	4,5	6,7

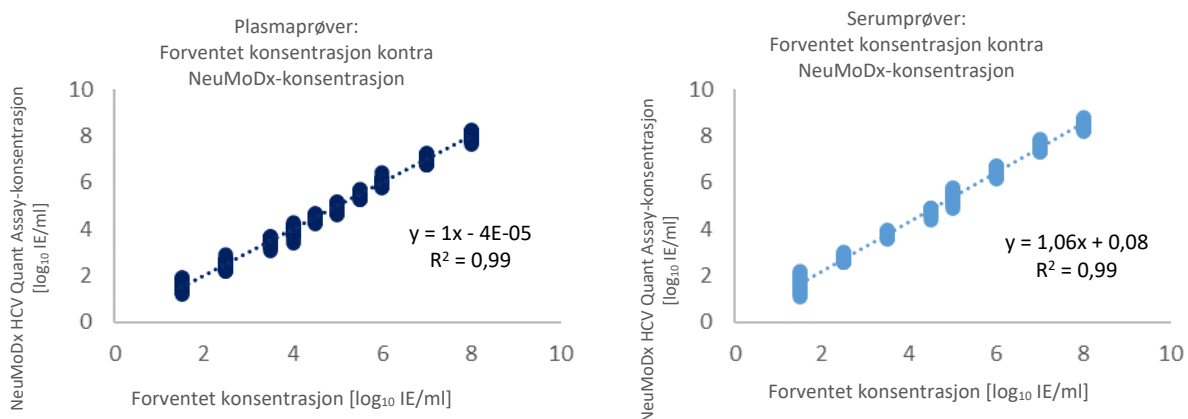
Basert på utfallet av ovennevnte studier spesifiserer NeuMoDx en LoD på **8,0 IE/ml (0,9 log₁₀ IE/ml)** og en LLoQ på **8,4 IE/ml (0,9 log₁₀ IE/ml)** for NeuMoDx HCV Quant Assay i **plasma og serum** ved hjelp av arbeidsflyten med **550 µl prøvevolum**.

Den påståtte **LoD og LLoQ** for NeuMoDx HCV Quant Assay for **begge prøvetypene (plasma og serum)** ved hjelp av arbeidsflyten med **200 µl prøvevolum er 30,0 IE/ml (1,5 log₁₀ IE/ml)**.

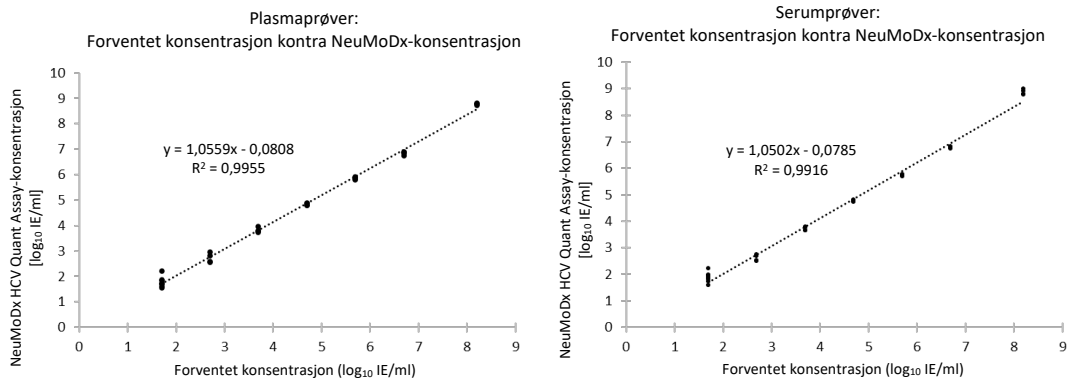
Analytisk sensitivitet – Linearitet og bestemmelse av øvre kvantifiseringsgrense (ULOQ)

Linearitet og øvre kvantifiseringsgrense (ULOQ) av NeuMoDx HCV Quant Assay ble etablert i plasma ved å klargjøre en fortyningsserie med HCV Armored RNA® (Asuragen Inc., Austin, TX) og AcroMetrix™ High Control HCV (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) med etablert sporbarhet til WHO's 5. internasjonale standard. Et panel med 11 medlemmer ble klargjort i gruppert HCV-negativt plasma for å opprette et panel som vil favne et konsentrasjonsområde på 8,2–1,5 log₁₀ IE/ml. NeuMoDx HCV Quant Assay viste evne til å kvantifisere HCV i 8 log₁₀-lineærområdet med en nøyaktighet på ±0,3 log₁₀ IE/ml basert på standardfeilen som beregnet av 95 % konfidensintervallet. Det fantes ingen vesentlig fordel ved å bruke 2.- og 3.-ordrens regresjonstilpasninger. ULOQ i plasma ble bestemt til å være 8,2 log₁₀ IE/ml. En etterfølgende studie ble utført for å vise matriseekvivalens og analysen sammenlignet NeuMoDx HCV kvantitative resultater for prøver klargjort i plasma og serum ved hjelp av to forskjellige regresjonstilpasningsmodeller, herunder MS Excel regresjonsverktøy og Passing-Bablok. Resultater viste en sterk korrelasjon representert av hellings- og skjæringspunktverdier svært nær henholdsvis 1,00 og 0,00, og en R²-verdi på 0,99 (MS Excel regresjonsverktøy) eller en p-verdi på 0,600 (Passing-Bablok). HCV-analysekonsentrasjonene rapportert av NeuMoDx System sammenlignet med de forventede verdiene presenteres på figur 4.

Linearitet og ULOQ ble deretter evaluert med arbeidsflyten med 200 µl prøvevolum. Ekvivalenssammenligninger ble utført mellom konsentrasjonene rapportert av NeuMoDx-programvaren for arbeidsflytene med 200 µl og 550 µl. Deming- og Passing-Bablok-regresjonsanalyse viste utmerket korrelasjon og en helling nær 1 og minste skjæringspunkt (skjevhet) for de rapporterte konsentrasjonene for både plasma- og serumprøver i det lineære området. En Bland-Altman-sammenligning mellom den rapporterte konsentrasjonen for arbeidsflyten med 200 µl prøvevolum og den gjennomsnittlige rapporterte konsentrasjonen for både arbeidsflyten med 200 µl og 550 µl prøvevolum viste minimal skjevhet, noe som tydet på at algoritmen som ble brukt til å generere resultater fra arbeidsflyten med 200 µl, var nøyaktig. En enkel lineær regresjon som sammenlignet den forventede konsentrasjonen med den rapporterte konsentrasjonen for arbeidsflyten med 200 µl, hadde dessuten en helling nær 1, noe som viste utmerket korrelasjon (figur 5). Samlet sett viser disse sammenligningene nøyaktig kvantifisering av HCV i det lineære området av NeuMoDx HCV Quant Assay ved hjelp av arbeidsflyten med 200 µl prøvevolum.



Figur 4: Lineært område av NeuMoDx HCV Quant Assay, plasma (venstre) og serum (høyre) – arbeidsflyt med 550 µl



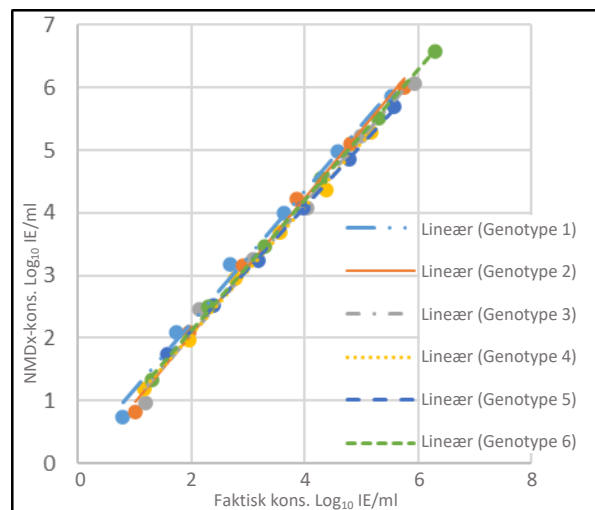
Figur 5: Lineært område av NeuMoDx HCV Quant Assay, plasma (venstre) og serum (høyre) – arbeidsflyt med 200 µl

Analytisk sensitivitet – Linearitet mellom genotyper

Lineariteten til NeuMoDx HCV Quant Assay mellom seks HCV-genotyper ble karakterisert ved testing av minst fire (4) forskjellige konsentrasjoner av hver genotype av HCV klargjort i gruppert HCV-negativ plasma. Nivåene av HCV-mål testet i denne studien var avhengig av konsentrasjonen av kildeprøven, og var derfor forskjellige mellom genotyper. Studien ble utført med hver genotype ved hjelp av 6 replikater på hvert nivå. Lineariteten mellom seks HCV-genotyper presenteres i *tabell 7* og *figur 6*.

Tabell 7. Linearitet av NeuMoDx HCV Quant Assay mellom genotyper

Genotype	Linearitetsligning y = NeuMoDx HCV analysekvantifisering x = Forventet kvantifisering	R ²
1	y = 1,054x + 0,1325	0,979
2	y = 1,0792x - 0,0748	0,985
3	y = 1,0423x - 0,0439	0,981
4	y = 1,0158x + 0,0292	0,973
5	y = 0,9873x + 0,1524	0,994
6	y = 1,0393x + 0,0396	0,997



Figur 6: Linearitet av NeuMoDx HCV Quant Assay mellom genotyper

Analytisk spesifisitet – Kryssreaktivitet

Analytisk spesifisitet ble vist ved screening av 33 organismer vanligvis funnet i blod-/plasmaprøver samt arter fylogenetisk tilsvarende HCV for kryssreaktivitet. Organismer ble klargjort i grupper på mellom 4 og 6 organismer og testet ved en høy konsentrasjon. De testede organismene vises i *tabell 8*. Det ble ikke observert noen kryssreaktivitet med noen av de testede organismene, noe som bekrefter 100 % analytisk spesifisitet av NeuMoDx HCV Quant Assay.

Tabell 8. Patogener for visning av analytisk spesifisitet

Ikke-målorganismer						
Adenovirus 2	Dengue V1	Hepatitt A	Humant immunsviktivirus 2	Humant T-lymfotropt virus 1	Propionibacterium acnes	Vestnilvirus
Adenovirus 5	Dengue V2	Hepatitt B	Humant papillomavirus 16	Humant T-lymfotropt virus 2	Røde hunder	Gulfeber
Candida albicans	Dengue V3	Herpes simplex-virus (HSV) 1	Humant papillomavirus 18	Influenza A	St. Louis-encefalitt	Zikavirus
Chlamydia trachomatis	Dengue V4	Herpes simplex-virus (HSV) 2	Humant herpesvirus 6b	Neisseria gonorrhoeae	Staphylococcus aureus	
Cytomegalovirus	Epstein-Barr-virus	Humant immunsviktivirus 1	Humant herpesvirus 8	Parvovirus B19	Staphylococcus epidermidis	

Analytisk spesifisitet – Interfererende stoffer, kommensale organismer

NeuMoDx HCV Quant Assay ble evaluert for interferens i nærvær av ikke-målorganismer ved hjelp av de samme organismegruppene klargjort for kryssreaktivitetstesting angitt ovenfor i *tabell 8*. Negativt HCV-plasma ble tilsatt organismene gruppert i grupper på 4–6, og også tilsatt en HCV-positiv kontroll ved en konsentrasjon på 1,4 log₁₀ IE/ml. Det ble ikke observert noen signifikant interferens i nærvær av disse kommensale organismene som angitt av det minimale kvantifiseringsavviket fra kontrollprøver som ikke inneholdt noen forstyrrende stoffer.

Analytisk spesifisitet – Forstyrrende stoffer, endogene og eksogene stoffer

NeuMoDx HCV Quant Assay ble evaluert i nærvær av typiske eksogene og endogene interfererende stoffer detektert i kliniske HCV-plasmaprøver. Disse inkluderte unormalt høye nivåer av blodkomponenter samt felles antivirale legemidler, som ble klassifisert i *tabell 9*. Hvert stoff ble lagt til screenet HCV-negativt humant plasma tilsatt 1,7 log₁₀ IE/ml HCV, og prøver ble analysert for interferens. Dessuten ble felles sykdomstilstandsplasma knyttet til hepatitt C-infeksjon også testet for potensiell interferens. Gjennomsnittskonsentrasjon og skjevhet for alle testede stoffer rapporteres i *tabell 10*. Ingen av de eksogene og endogene stoffene påvirket spesifisiteten til NeuMoDx HCV Quant Assay.

Tabell 9. Interferenstesting – Eksogene stoffer (legemiddelklassifiseringer)

	Produkt-	Klassifisering		Produkt-	Klassifisering
Gruppe 1	Sofosbuvir	Direktevirkende HCV-antiviral	Gruppe 2	Paritaprevir	HCV NS3/4A-proteasehemmer
	Ledipasvir	HCV-hemmer		Ombitasvir	HCV-antiviral
	Velpatasvir	HCV NS5A-hemmer		Ritonavir	HIV-proteasehemmer
	Klaritromycin	Antibiotikum		Abakavirsulfat	Omvendt transkriptase-hemmer
	Interferon alfa-2a	Immunmodulator		Ribavirin	Immunmodulator
Gruppe 3	Grazoprevir	HCV NS3/4A-proteasehemmer	Gruppe 4	Efavirenz	Omvendt transkriptase-hemmer
	Elbasvir	HCV NS5A-hemmer		Lopinavir	Proteasehemmer
	Tenofovir disoproksil	HBV-/HIV-antiviral		Azitromycin	Antibiotikum
	Lamivudin	HBV-/HIV-antiviral		Dolutegravir	HIV-antiviral
	Valganciklovir	CMV-antiviral		Simeprevir	HCV NS3/4A-proteasehemmer
Gruppe 5	Emtricitabin	HIV-antiviral			
	Raltegravir	HIV-antiviral			
	Amoxicillin	Antibiotikum			
	Rilpivirin	HIV-antiviral			
	Dasabuvir	Direktevirkende HCV-antiviral			
	Glecaprevir	HCV NS3/4A-proteasehemmer			

Tabell 10. Interferenstesting – eksogene og endogene stoffer

Endogene	Gjennomsnittlig kons. \log_{10} IE/ml	Skjevhet \log_{10} IE/ml
Hemoglobin	1,61	0,28
Triglyserider	1,31	-0,02
Bilirubin	1,47	0,14
Albumin	1,47	0,14
Eksogene (legemidler)	Gjennomsnittlig kons. \log_{10} IE/ml	Skjevhet \log_{10} IE/ml
Gruppe 1: Zidovudin (ZDV), Saquinavir, Ritonavir, Klaritromycin, Interferon alfa-2a, Interferon alfa-2b	1,48	0,15
Gruppe 2: Abakavirsulfat, Amprenavir, Ribavirin, Entecavir, Fluoksetin, Valacyklovirhydroklorid	1,40	0,07
Gruppe 3: Tenofovir disoproksil, Lamivudin, Gansiklovir, Valganciklovir, Nevirapin	1,40	0,07
Gruppe 4: Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtid, Ciprofloksacin, Paroksetin,	1,51	0,18
Gruppe 5: Adefovir (dipivoksil), Azitromycin, Indinavirsulfat, Sertralin	1,40	0,07
Sykdomsstatus	Gjennomsnittlig kons. \log_{10} IE/ml	Skjevhet \log_{10} IE/ml
Antinukleært antistoff (ANA)	1,53	0,18
Systemisk lupus erythematosus (SLE)	1,29	-0,06
Revmatoid artritt	1,39	0,04
HBV-antistoffer	1,45	0,10
Alkoholisk cirrhose	1,43	0,08
Revmatoidfaktor	1,43	0,08
Ikke-alkoholisk steatohepatitt (Non-Alcoholic Steatohepatitis, NASH)	1,32	-0,03

Presisjon innenfor laboratoriet

Presisjon av NeuMoDx HCV Quant Assay ble bestemt ved å teste et panel med 7 medlemmer av HCV-prøver (omfatter både HCV Armored RNA og AcroMetrix HCV Control) klargjort ved hjelp av tre NeuMoDx Systems over 12 dager. Presisjon innen kjøring, innen dag og innen system ble karakterisert, og det samlede standardavviket ble bestemt til å være $\leq 0,26 \text{ Log}_{10}$ IE/ml. Det ble ikke funnet noen signifikant forskjell i ytelse mellom systemer, dager eller kjøringer slik det fremgår av *tabell 11*. Presisjon mellom operatører ble ikke karakterisert ettersom operatøren ikke spiller noen vesentlig rolle i behandlingen av prøver på NeuMoDx System.

Tabell 11. Presisjon innen laboratoriet – NeuMoDx HCV Quant Assay på NeuMoDx Systems

	Målkons. $[\log_{10}$ IE/ml]	Gjennomsnittlig kons. $[\log_{10}$ IE/ml]	SD innen system	Innen dag-SD	Innen kjøring-SD	(Samlet) SD innen laboratorium
ARMORED	6	5,95	0,17	0,13	0,10	0,17
	5	4,87	0,20	0,14	0,12	0,20
	3	2,89	0,19	0,17	0,17	0,19
ACROMETRIX	4,4	4,45	0,12	0,10	0,08	0,13
	3,4	3,45	0,12	0,12	0,11	0,13
	2,4	2,41	0,17	0,15	0,15	0,17
	1,4	1,40	0,26	0,25	0,25	0,24

Reproduserbarhet mellom partier

Reproduserbarhet mellom partier for NeuMoDx HCV Quant Assay ble bestemt ved hjelp av tre forskjellige hovedreagenspartier – NeuMoDx Lysis Buffer 3, NeuMoDx Extraction Plates og NeuMoDx HCV Quant Test Strips. Et panel med 7 medlemmer av HCV (omfatter både HCV Armored RNA og AcroMetrix HCV Control) ble brukt til å vurdere ytelse. Testing ble utført ved hjelp av de tre hovedpartireagensene på tre systemer over 6 dager. Variasjonen innen og på tvers av partier ble analysert, og resultatene ble presentert i *tabell 12*. Maksimal generell skjevhet var 0,24 log₁₀IE/ml, og maksimalt generelt SD var 0,33 log₁₀ IE/ml. Det ble ikke funnet noen vesentlig forskjell i ytelse mellom partier ettersom kvantifisering av alle panelmedlemmer var innenfor toleransespesifikasjon.

Tabell 12. Reproduserbarhet mellom partier – NeuMoDx HCV Quant Assay

	Målkons. [log ₁₀ IE/ml]	Gjennomsnittlig kons. SAMLET [log ₁₀ IE/ml]	n (Gyldige resultater per parti)	ABS- SKJEVHET	SD mellom partier	SD innen parti	Samlet SD
ARMORED	6	5,76	36	0,24	0,35	0,13	0,37
	5	4,84	36	0,16	0,16	0,22	0,27
	3	2,81	36	0,19	0,31	0,16	0,35
ACROMETRIX	4,4	4,35	36	0,05	0,21	0,11	0,24
	3,4	3,31	36	0,09	0,17	0,11	0,20
	2,4	2,33	36	0,07	0,24	0,13	0,27
	1,4	1,38	36	0,02	0,23	0,13	0,33

Effekt av kontroll

SPC2 inngår i NeuMoDx HCV Quant Assay for å rapportere prosessstrinnfeil eller hemming som påvirker ytelsen av analysen. Effekten ble testet under betingelser representative for kritiske prosessstrinnfeil som potensielt kan skje under prøvebehandling og som *kanskje ikke detekteres* av systemensensorene som overvåker NeuMoDx System ytelsesovervåkingssensorer. Positive (3 log₁₀ IE/ml) og negative prøver ble utfordret i nærvær av en kontroll under følgende betingelser: forekomst av hemmer, ingen vaskereagens levert og ingen vaskeutblåsning. Prosessineffektiviteter som hadde en negativ effekt på HCV-deteksjon/-kvantifisering, ble speilet av ytelsen til SPC2-målet som vist i *tabell 13*. I alle testede tilfeller ble det vist at enten overvåket prøveprosesskontrollen prosessmanglene og forekomsten av hemmere tilstrekkelig, eller så hadde ikke den forventede prosessmangelen noen vesentlig dårlig effekt på SPC2-deteksjon eller HCV-deteksjon og kvantifisering. Derfor demonstrerte SPC2 suksess med å effektivt overvåke analyseprestasjoner på NeuMoDx System.

Tabell 13. Effektivitet av prøveprosesskontrollen

Prosesstrinnsvikt testet	Amplifikasjonsstatus for prøveprosesskontroll	HCV- målamplifikasjonsstatus	Analyseresultat
Presence of Inhibitor (Forekomst av hemmer)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Unresolved (Uløst)
No Wash Delivered (Ingen vaskeløsning levert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Unresolved (Uløst)
No Wash Blowout (Ingen vaskeutblåsning)	Amplified (Amplifisert)	Amplified (Amplifisert)	Positive (Positiv) med kvantifisering innenfor 0,3 Log ₁₀ IE/ml av kontroll

Gyldig resultat-rate

En retrospektiv analyse av data oppnådd under ytelseevalueringen av NeuMoDx HCV Quant Assay på NeuMoDx Systems ble brukt for å bestemme prosentandelen av gyldige resultater. Gyldige testresultater vil bli kalt Positive (positive) eller Negative (negative); ugyldige testresultater kan bli rapportert som enten Indeterminate (ubestemt) (IND) eller Unresolved (uløst) (UNR) basert på amplifikasjonsstatusen for målet og prøveprosesskontrollen. En IND-melding typisk forårsaket av instrumentfeil fører til en svikt i amplifikasjon av mål- og/eller internprosesskontrollen. En UNR-melding tilordnes til prøver når både målet og den interne prosesskontrollen ikke kan amplifiseres i fravær av en oppdaget instrumentsvikt. Det var 1962 individuelle NeuMoDx HCV Quant Assay-resultater inkludert i den retrospektive analysen, som inkluderte data oppnådd fra både serum- og plasmaprøver på både NeuMoDx 288 og NeuMoDx 96 Systems. UNR-raten ble bestemt til å være 0,61 % (12/1962), og IND-raten ble bestemt til å være 0,41 % (8/1962), noe som oppfyller akseptkriteriene for analysen. Derfor ble den gyldige resultatraten av NeuMoDx HCV Quant Assay mellom kliniske matriser og NeuMoDx Systems fastslått til å være 99,0 % med 95 % CI (98,4–99,3).

Krysskontaminering

Krysskontamineringsraten for NeuMoDx HCV Quant Assay ble bestemt ved testing av tre sett av HCV-prøver med vekslende høye positive og negative prøver. Samlet involverte dette testing av 144 replikater av HCV-negativ human prøve og 144 replikater av en høytitrert HCV-prøve ved 8,2 Log₁₀ IE/ml. Alle 144 replikater av den negative prøven ble rapportert som negative, noe som viser at ingen krysskontaminering skjedde under prøvebehandling på NeuMoDx System.

Prøvematriseekvivalens

Testing ble utført for å vise prøvematriseekvivalens mellom fullblod samlet inn i både prøvetakingsrør med etylenediamintetraeddiksyre (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) og syre-citratdextrose (Acid Citrate-Dextrose, ACD) for klargjøring av plasma. Ytterligere testing ble utført for å bestemme ekvivalens mellom ferske og fryste plasmaprøver (samlet inn i de to rørtypene) samt ferske og fryste serumprøver. Ferske prøver ble oppbevart ved 4 °C til de ble tilsatt fire nivåer av HCV og testet for ekvivalens. Deretter ble prøvene fryst i minst 24 timer ved -20 °C. Etter denne perioden med fryst oppbevaring ble prøvene tint og testet på nytt. Resultater fra fersk vs. fryst serum og plasma og EDTA- vs. ACD-plasmaprøver ble sammenlignet for ekvivalens ved regresjonsanalyse. Dataene viste utmerket ekvivalens mellom EDTA- og ACD-plasmaprøver, ferske og fryste plasmaprøver og ferske og fryste serumprøver.

Ytterligere testing ble utført for å vise ekvivalent NeuMoDx HCV Quant Assay-ytelse på primærprøver kontra sekundærprøver. Paneler med HCV-negative giverprøver tilsatt HCV-mål (AccuPlex™ Recombinant HCV Control) og med HCV-positive giverprøver ble først behandlet fra primærprøverene. Etter primærprøvebehandling ble gjenværende plasma eller serum fra hver prøve alikvotert i et sekundærprøverør og behandlet på nytt. Ingen signifikant forskjell ble funnet i rapporterte resultater mellom behandling av primær- og sekundærprøverør.

Klinisk metodesammenligning

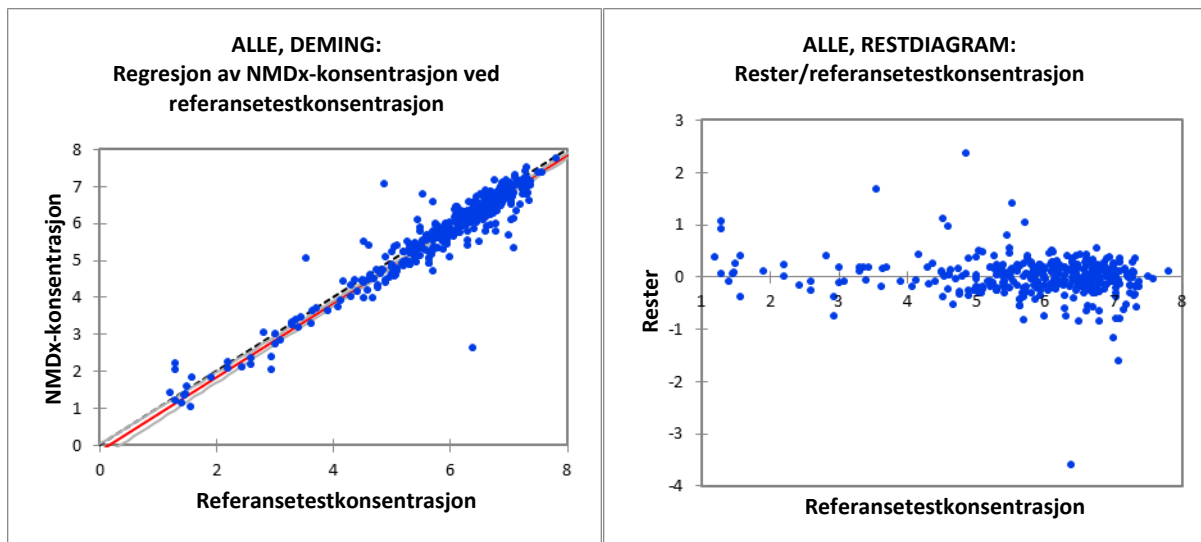
Kvalitativ og kvantitativ ytelse av NeuMoDx HCV Quant Assay ble vurdert mot FDA/CE-godkjente sammenligningsanalyser ved å teste uforynnede kliniske prøver fra HCV-infiserte pasienter. Testingen ble utført internt på NeuMoDx gjennom en enkeltblindet studie av anonymiserte, resterende kliniske prøver oppnådd fra seks eksterne referanselaboratorier. I alt 323 plasmaprøver og 336 serumprøver ble behandlet ved hjelp av NeuMoDx HCV Quant Assay på en (enkelt)blindet måte mellom flere NeuMoDx Molecular Systems. Av disse prøvene ble 35 plasmaprøver og 13 serumprøver behandlet på BÅDE NeuMoDx 288 og 96 Molecular Systems. Noen av prøvene som ga et INVALID (UGYLDIG) resultat kan ikke behandles igjen på grunn av mangel på tilgang til tilstrekkelig prøve.

Behandlings- og systemfeilene oppnådd på NeuMoDx Molecular Systems var minimale og oppfylte kriteriene. I alt 4 Indeterminate (Ubestemt) (IND) resultater ble først oppnådd for plasmaprøver, og 4 IND resultater ble oppnådd for serumprøver, noe som førte til en samlet initiell IND-rate på 1 % (95 % CI 0,5–3 %) for plasma, og 1 % (95 % CI 0,4–3 %) for serum. I alt 3 UNRESOLVED (Uløst) (UNR) resultater ble innledningsvis oppnådd for plasmaprøver og 5 UNR for serumprøver ble oppnådd, noe som ga en samlet rate på 1 % (95 % CI 0,2–3 %) for plasma og 1 % (95 % CI 0,6–4 %) for serum.

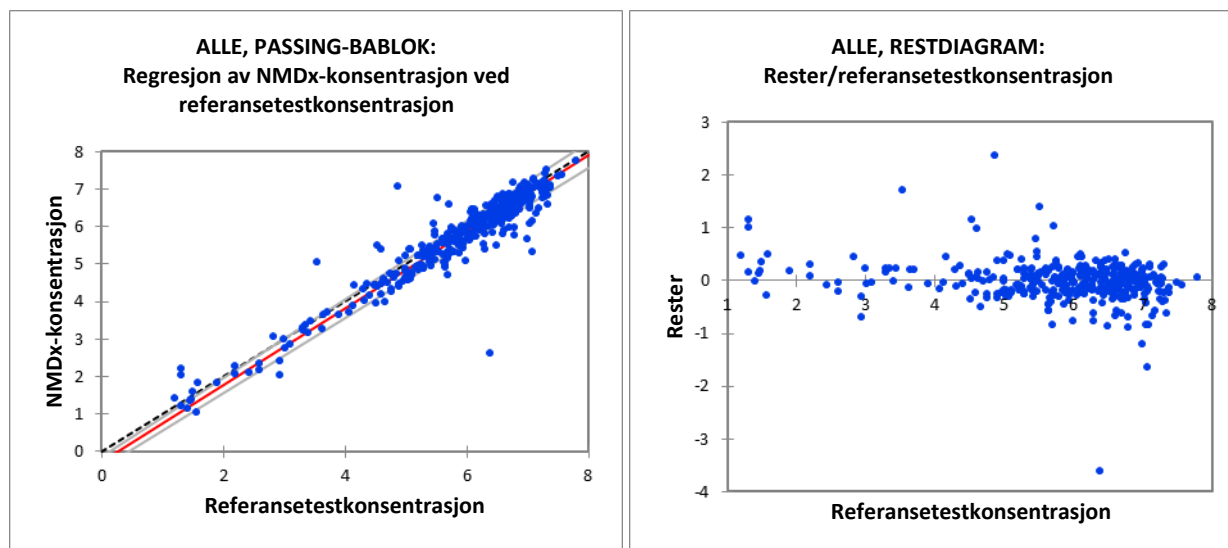
Prøver som ga ugyldige resultater (IND/UNR) eller en «Kvantifiseringsfeil», ble testet på nytt når tilstrekkelig volum var igjen; et fortyningstrinn ble utført på noen prøver for å gi gyldige resultater. Av de 13 prøvene som hadde tilstrekkelig volum til å bli gjentatt (fortynnet ELLER ren), ble et gyldig resultat oppnådd.

Av de 321 gyldige resultatene som ble oppnådd for plasmaprøver, og de 334 gyldige resultatene som ble oppnådd for serumprøver, ble 206 plasmaprøver og 154 serumprøver rapportert POSITIVE (positive) av NeuMoDx HCV Quant Assay med tilsvarende konsentrasjonsverdier tilordnet av referansetestene. Deming-regresjons- og Passing-Bablok-regresjonsanalyser ble brukt til å korrelere mellom konsentrasjonsverdiene fra NeuMoDx HCV Quant Assay og verdiene rapportert av referansetestene for både plasma- og serumprøver.

Ekvivalensgrafer ble generert til å representere korrelasjonen mellom NeuMoDx HCV Quant Assay-konsentrasjoner og referansetestenes konsentrasjonsverdier for alle prøver testet med Deming-regresjonstilpasning og Passing-Bablok-tilpasning. De presenteres på *figur 7* og *figur 8*. Kvaliteten på Deming-regresjonstilpasningen illustreres av en hellingskoeffisient på 1,00 med en 95 % CI (0,97, 1,03) og et skjæringspunkt (skjevhet) på -0,16 med en 95 % CI (-0,37, 0,06), noe som viser at konsentrasjonsresultatene oppnådd mellom NeuMoDx HCV Quant Assay og referansetester er svært korrelert og med akseptabel skjevhet. Kvaliteten på Passing-Bablok-lineærtilpasningen illustreres av en hellingskoeffisient på 1,02 med en 95 % CI (0,99, 1,05) og et skjæringspunkt (skjevhet) på -0,28 med en 95 % CI (-0,43, -0,14), noe som viser at konsentrasjonsresultatene oppnådd mellom NeuMoDx HCV Quant Assay og referansetester er svært korrelert og med akseptabel skjevhet slik det fremgår av *tabell 14*.



Figur 7: Graf for Ekvivalens (venstre) og Rest (høyre) – Kumulativ analyse (mellom begge NeuMoDx Systems) av NeuMoDx HCV Quant Assay-resultater sammenlignet med referansetestresultater for ALLE prøver basert på Deming-regresjonsanalyse.



Figur 8: Graf for Ekvivalens (venstre) og Rest (høyre) – Kumulativ analyse (mellom begge NeuMoDx Systems) av NeuMoDx HCV Quant Assay-resultater sammenlignet med referansetestresultater for ALLE prøver basert på Passing-Bablok-regresjonsanalyse.

Tabell 14. Sammendrag av Deming-analyse og Passing-Bablok lineær regresjonsanalyse

	Deming-analyse		Passing-Bablok-analyse	
	Skjæringspunkt	Hellingskoeffisient	Skjæringspunkt	Hellingskoeffisient
KUMULATIV (Alle plasma + serum)	- 0,16 95 % CI (-0,37,0,06)	1,00 95 % CI (0,97,1,03)	- 0,28 95 % CI (-0,43,-0,14)	1,02 95 % CI (0,99,1,05)

Av de 655 gyldige resultatene oppnådd for plasma- og serumprøver ved hjelp av NeuMoDx HCV Quant Assay ble 361 rapportert positive av referansetester for HCV, og 294 ble rapportert negative. Sensitiviteten og spesifisiteten av NeuMoDx HCV Quant Assay ble beregnet ved hjelp av dataene fra alle gyldige kliniske prøver sammenlignet med referansetesten, som er samlet og presentert i *tabell 15*. Av de 361 positive testede prøvene ble også 360 rapportert positive av NeuMoDx HCV Quant Assay, og dette viser 99,7 % sensitivitet med 95 % CI (98,2–100 %). Av de 294 negative prøvene testet ble også 271 rapportert negative av NeuMoDx HCV Quant Assay, og dette viser 92,2 % spesifisitet med 95 % CI (88,3–94,9 %).

Ekvivalens av NeuMoDx HCV Quant Assay ble vist gjennom svært korrelerte analyseytelsesresultater mellom NeuMoDx 288 Molecular System og NeuMoDx 96 Molecular System, og referansetest for både plasma- og serumprøver.

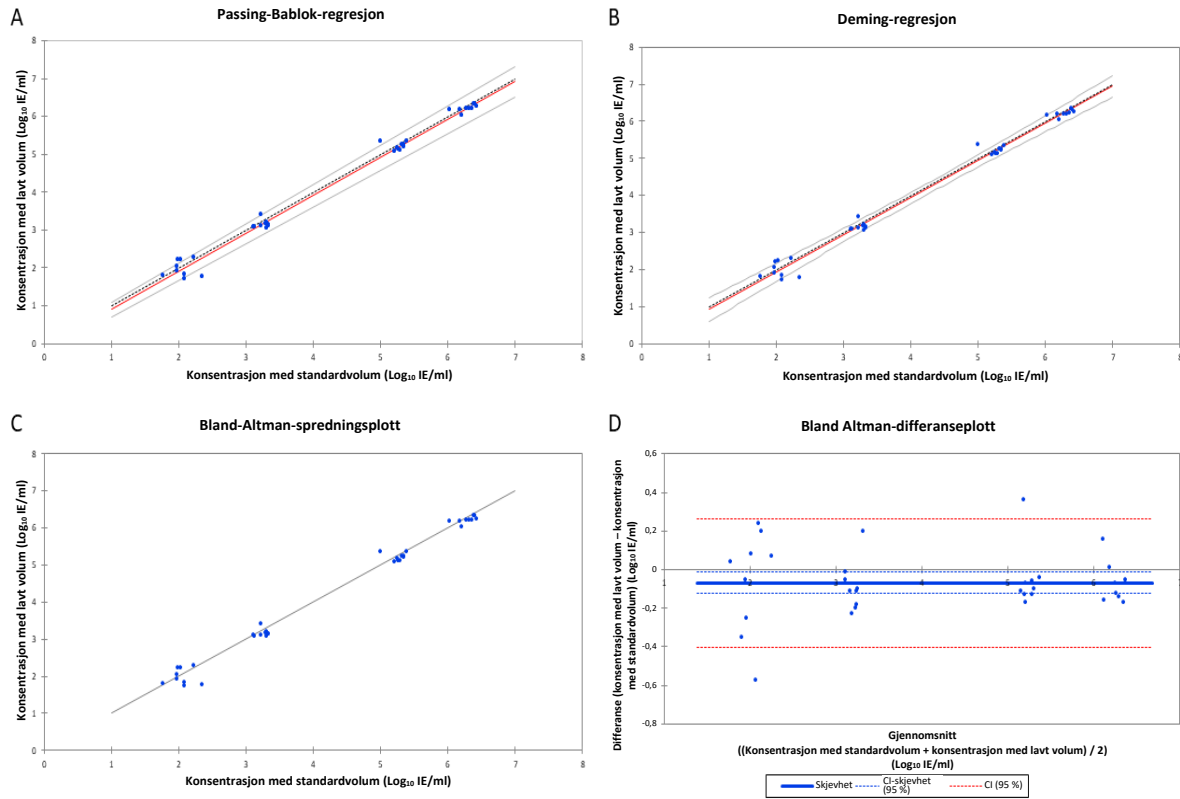
Tabell 15. Resultater for kvalitativ metodesammenligning for NeuMoDx HCV Quant Assay sammenlignet med referansetester – plasma og serum

	Referanseanalyse (POS)	Referanseanalyse (NEG)	TOTALT
NeuMoDx HCV Quant Assay (POS)	360	23	383
NeuMoDx HCV Quant Assay (NEG)	1	271	272
TOTALT	361	294	655
SENSITIVITET = 99,7 % 95 % CI (98,2–100 %) *SPESIFISITET = 92,2 % 95 % CI (88,3–94,9 %)			

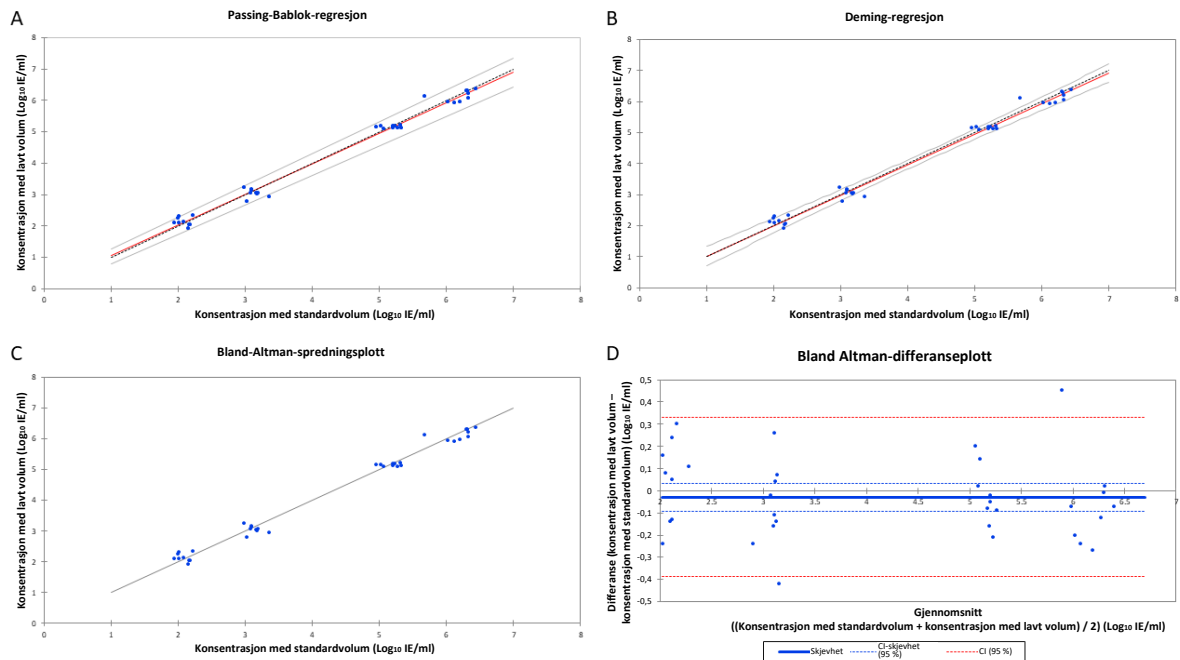
***MERK:** LLoQ for NeuMoDx HCV Quant Assay er 0,9 Log₁₀ IE/ml, noe som er lavere enn sammenligningsanalysen brukt som referansetesten. En etterfølgende analyse ble utført med unntak av 9 prøver der HCV ble oppdaget av NeuMoDx, men rapportert som negative av sammenligningsanalysen. Med unntak av disse 9 prøvene ble spesifisiteten til NeuMoDx HCV Quant Assay beregnet på nytt til å være 95,1 % med en 95 % CI (91,7–97,2).

Testing av konstruerte prøver – arbeidsflyt med 200 µl prøvevolum

Kvantitativ korrelasjon mellom arbeidsflyten med 200 µl og 550 µl prøvevolum ble bekreftet ved hjelp av et panel bestående av individuelle, HCV-negative plasma- og serumprøver tilsatt fire kjente nivåer med Accuplex HCV-kontrollmateriale, som er sporbar til WHO's 5. internasjonale standard for HCV-RNA for nukleinsyretester. Disse individuelle plasma- og serumprøvene ble behandlet ved hjelp av både arbeidsflyten med 550 µl og 200 µl prøvevolum for i alt 324 utførte tester. Ekvivalenssammenligninger mellom konsentrasjonen rapportert av NeuMoDx-programvaren for arbeidsflyten med 200 µl og 550 µl med det konstruerte panelet ble utført med individuelle prøver. Deming- og Passing-Bablok-regresjonsanalyse hadde en helling på 1,003 og 1,000 med skjæringspunkter på henholdsvis -0,082 og -0,085 i plasma og 0,974 og 0,984 med skjæringspunkter på henholdsvis 0,086 og 0,037 i serum og viste utmerket samsvar for HCV-quantifiseringer mellom de to arbeidsflytene med behandlingvolum. En Bland-Altman-sammenligning viste en minimal skjevhet mellom de to arbeidsflytene. Enkle lineære regresjonsanalyser med den forventede konsentrasjonen og den rapporterte konsentrasjonen for arbeidsflyten med 200 µl hadde dessuten en helling på 1,0432 og en korrelasjonskoeffisient på 0,994 (plasma) og på 1,0007 og 0,993 (serum), noe som videre støtter utmerket ytelse ved hjelp av arbeidsflyten med 200 µl prøvevolum for NeuMoDx HCV Quant Assay. Resultater av disse studiene er oppsummert nedenfor på *figur 9* og *figur 10*.



Figur 9: Ekvivalensplottssammenligninger mellom rapporterte konsentrasjoner ved arbeidsflyt med 200 µl prøvevolum og rapporterte konsentrasjoner ved arbeidsflyt med 550 µl prøvevolum. A) Passing-Bablok-regresjon. B) Deming-regresjon. C) Bland-Altman-spredningsplott D) Bland-Altman-differanseplott – plasmaprøver



Figur 10: Ekvivalensplottssammenligninger mellom rapporterte konsentrasjoner ved arbeidsflyt med 200 µl prøvevolum og rapporterte konsentrasjoner ved arbeidsflyt med 550 µl prøvevolum. A) Passing-Bablok-regresjon. B) Deming-regresjon. C) Bland-Altman-spredningsplott D) Bland-Altman-differanseplott – serumprøver

REFERANSER















1. Rachel H. Westbrook, Geoffrey Dusheiko. Natural history of hepatitis C. *Journal of Hepatology Update: Hepatitis C*, Volume 61, Issue 1, Supplement, November 2014, Pgs S58-S68.
2. Annual Epidemiological Report for 2016, Hepatitis C, European Centre for Disease Prevention and Control. Hepatitis C. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2016. Stockholm: ECDC; 2018. (<https://www.cdc.gov/hepatitis/statistics/2016surveillance/pdfs/2016HepSurveillanceRpt.pdf>)
3. Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2017; 2: 161–76.
4. Surveillance for Viral Hepatitis – United States, 2016, CDC. <https://www.cdc.gov/hepatitis/statistics/2016surveillance/index.htm>
5. Diagnosis and management of hepatitis C virus-infected children. Javeri R. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 2011;30(11):983 – 985.
6. American Association for the Study of Liver Disease (AASLD) and Infectious Disease Society of America (IDSA), HCV Guidance: Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C, Sept 21, 2017. (www.hcvguidelines.org)
7. Centers for Disease Control (CDC), Testing for HCV Infection: An Update of Guidance for Clinicians and Laboratorians Recommendations and Reports MMWR / Vol. 62 / May 7, 2013.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014


VAREMERKER

NeuMoDx™ og NeuDry™ er varemerker som tilhører NeuMoDx Molecular, Inc.
 AcroMetrix™ er et varemerke som tilhører Thermo Fisher Scientific.
 Armored RNA® er et registrert varemerke som tilhører Asuragen, Inc.
 BD Vacutainer® er et registrert varemerke som tilhører Becton, Dickinson and Company
 BD, PPT™ og SST™ er varemerker som tilhører Becton, Dickinson and Company
 TaqMan® er et registrert varemerke som tilhører Roche Molecular Systems, Inc.


Alle andre produktnavn, varemerker og registrerte varemerker som kan forekomme i dette dokumentet, tilhører respektive eiere.

SYMBOLFORKLARING

 Reseptpliktig	 Temperaturbegrensning
 Produsent	 Må ikke gjenbrukes
 Medisinsk utstyr til <i>in vitro</i> -diagnostikk	 Innholder nok til <n> tester
 Autorisert representant i EU	 Se bruksanvisningen
 Katalognummer	 Forsiktig
 Partinummer	 Biologiske risikoer
 Siste forbruksdato	 CE-merke

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

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

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

 CE
 2797

Teknisk støtte / overvåkingsrapportering: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents