

- ↑ **300300 NeuMoDx™ HCV Quant Test Strip** **R only**  
IAKTTAG FÖRSIKTIGHET! Endast för export till USA
- └ För *in vitro*-diagnostisk användning med NeuMoDx 288 och NeuMoDx 96 Molecular System
- ↓ *Uppdaterade bipacksedlar finns på: [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)*  
*Se operatörshandboken till NeuMoDx 288 Molecular System för utförliga anvisningar, art.nr 40600108*  
*Se operatörshandboken till NeuMoDx 96 Molecular System för utförliga anvisningar, art.nr 40600317*

### AVSEDD ANVÄNDNING

NeuMoDx HCV Quant Assay är ett automatiserat *in vitro*-nukleinsyreamplifieringstest för kvantifiering av hepatit C virus (HCV) RNA i humanplasma- och humanserumprover för HCV-antikroppspositiva genotyper 1 till 6 hos HCV-infekterade individer. NeuMoDx HCV Quant Assay utförd på NeuMoDx 288 Molecular System och NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System) använder automatisk RNA-extraktion för att isolera målnukleinsyran från prov och använder en realtidspolymeraskedjereaktion med omvänd transkriptas (RT-PCR) för att söka upp de i hög grad bevarade sekvenserna i Hepatit C-virusgenomet.

NeuMoDx HCV Quant Assay är avsedd att användas som hjälp vid hantering av patienter med HCV-infektioner. Resultaten från NeuMoDx HCV Quant Assay måste tolkas mot bakgrund av relevanta kliniska resultat och laboratorieresultat. NeuMoDx HCV Quant Assay är inte avsedd att användas som screeningstest för blod eller blodprodukter eller för att diagnostisera HCV-infektionens kliniska status.

### SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Humant helblod som samlats i sterila blodprovtagningsrör som innehåller antingen etylendiamintetraättisyra (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) eller sur citratdextros (Acid Citrate-Dextrose, ACD) som antikoagulationsmedel eller i plasmaberedningsrör (Plasma Preparation Tubes, PPT) får användas för beredning av plasma, medan serum ska samlas i serumrör eller serumseparationsrör (Serum Separation Tubes, SST). För att förbereda för testning laddas plasma i ett sekundärt provrör eller fraktionerat blod i ett primärt provrör som är kompatibelt med NeuMoDx System i NeuMoDx System med hjälp av en dedikerad provrörshållare för att påbörja bearbetningen. För varje prov blandas en aliquot av plasma-/serumprovet med NeuMoDx Lysis Buffer 3 och NeuMoDx System utför automatiskt alla steg som krävs för extraktion av målnukleinsyran, preparering av den isolerade RNA:n för realtids-RT-PCR-amplifiering och i förekommande fall, detektion av produkter för amplifiering. NeuMoDx HCV Quant Assay riktar sig mot två högradigt konserverade regioner i HCV-genomet för att öka analysens robusthet. NeuMoDx HCV Quant Assay innehåller även en RNA-provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC2) för att underlätta övervakning beträffande närvaro av potentiella hämmande substanser samt NeuMoDx System- eller reagensfel som kan uppstå under extraktions- och amplifieringsprocessen.

HCV är ett enkelsträngat, positivt sense-RNA-virus som kan orsaka både akut och kronisk infektion.<sup>1</sup> Det finns för närvarande inget vaccin mot hepatit C. Medan akut infektion vanligtvis är asymptomatisk och mycket sällan associerad med livshotande sjukdom, kan mer än hälften av de som är smittade med HCV utveckla kronisk infektion. Av dem med kronisk HCV-infektion är risken för levercirros mellan 15–30 % inom 20 år. Globalt uppskattas 71 miljoner människor ha kronisk HCV-infektion av vilka ett betydande antal förväntas utveckla cirros eller levercancer.<sup>2-4</sup> Som ett blodburet virus har HCV främst överförts genom blod och blodprodukter. Omfattande införande av blodscreeningstester har kraftigt minskat förekomsten av infektioner från donerat blod.<sup>1</sup>

Detektion av antikroppar mot HCV skiljer inte åt mellan aktiva och rensade infektioner. Följaktligen kräver HCV-laboratorietestningsalgoritmer diagnos av aktiva HCV-infektioner hos antikroppspositiva individer genom detektion av HCV-RNA i plasma eller serum innan behandlingen påbörjas (om nödvändigt). Kvantifiering av HCV-RNA (viral belastning) används nu rutinmässigt för att definiera och övervaka framgångsrik HCV-behandling.

Nuvarande riktlinjer för hantering och behandling av HCV-infektioner rekommenderar kvantitativ HCV-RNA-testning innan antiviral behandling påbörjas för att fastställa baslinjen och efter 12 veckor eller senare efter avslutad behandling. Ytterligare tidpunkter kan ibland rekommenderas. Bestående virologiskt svar (Sustained virologic response, SVR) är målet för HCV-behandling och definieras som icke detekterbart HCV-RNA (med en analys som har en detektionsgräns på < 25 IE/mL) efter behandling.<sup>5-7</sup> De senaste riktlinjerna från American Association for the Study of Liver Diseases föreslår testning av HCV-RNA inte bara vid baslinjen utan också periodiskt under behandlingen (dvs. 4 veckor) och 12 veckor efter avslutad behandling. Tester för detektion av HCV-RNA, i kombination med de serologiska testerna, används för att identifiera en aktiv HCV-infektion.<sup>6</sup>

### PRINCIPER FÖR RUTINEN

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

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

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

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

En TaqMan-prob märkt med fluoroforen (excitering: 490 nm och emission: 521 nm) vid 5' änden och en mörk quencher vid 3' änden används för detektion av HCV RNA. För detektion av SPC2 är TaqMan-proben märkt med alternativt fluorescerande färg (excitering: 535 nm och emission: 556 nm) vid 5'-ändan och en mörk quencher vid 3'-ändan. Via NeuMoDx System-programvaran övervakas den fluorescenssignal som emitteras av TaqMan-proberna i slutet av varje amplifieringscykel. Efter avslutad amplifiering analyserar NeuMoDx System-programvaran data och rapporterar ett slutresultat (POSITIVE (Positivt) /NEGATIVE (Negativt)/ INDETERMINATE (Obestämt)/ UNRESOLVED (Olöst)/NO RESULT (Inget resultat)). Om resultatet är positivt och den beräknade koncentrationen ligger inom kvantifieringsgränserna, ger NeuMoDx Systems programvara också ett kvantitativt värde som associeras med provet.

### 🏠 REAGENSER/FÖRBRUKNINGSVAROR

#### Material som medföljer

REF	Innehåll	Enheter per förpackning	Tester per enhet	Tester per förpackning
300300	<b>NeuMoDx HCV Quant Test Strip</b> <i>Torkade RT-PCR-reagenser som innehåller HCV- och SPC2-specifika TaqMan-prober och primrar</i>	6	16	96

#### Material som krävs men inte medföljer (tillgängligt separat från NeuMoDx)

REF	Innehåll
100200	<b>NeuMoDx Extraction Plate</b> <i>Torkade paramagnetiska partiklar, lytiska enzymer och provprocesskontroller</i>
800200 eller 800202	<b>NeuMoDx HCV Calibrators</b> <i>HCV hög kalibrator och låg kalibrator för engångsbruk, för fastställning av kalibreringskurvas giltighet</i>
900201 eller 900202	<b>NeuMoDx HCV External Controls</b> <i>Satser med HCV-positiva och -negativa kontroller för engångsbruk</i>
400600	<b>NeuMoDx Lysis Buffer 3</b>
400100	<b>NeuMoDx Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx Release Reagent</b>
100100	<b>NeuMoDx Cartridge</b>
235903	<b>Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (300 µL) med filter</b>
235905	<b>Hamilton CO-RE/CO-RE II Tips (1 000 µL) med filter</b>

#### Instrument som behövs

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

### ☰ ⇌ VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- NeuMoDx HCV Quant Test Strip är enbart avsedd för *in vitro*-diagnostisk användning tillsammans med NeuMoDx System.
- Använd inte reagenser eller förbrukningsvaror efter det angivna utgångsdatumet.
- Använd inte reagenser om förseglingen är bruten eller om förpackningen är skadad vid leverans.
- Använd inte förbrukningsvaror eller reagenser om skyddspåsen är öppen eller trasig vid leverans.
- En giltig testkalibrering (skapas genom bearbetning av höga och låga kalibratorer från NeuMoDx HCV Calibrators) måste finnas tillgänglig innan testresultat kan genereras för kliniska prover.
- NeuMoDx HCV External Controls måste bearbetas var 24:e timme under testning med NeuMoDx HCV Quant Assay.
- Minsta provvolym av sekundära alikvoter är beroende av rörstorlek, provrörscarrier och provvolymbearbetning enligt nedan. Volymen som är lägre än den minsta provvolymen kan leda till felet "Quantity Not Sufficient" (otillräcklig mängd).
- Användning av prover som har förvarats vid fel temperatur eller längre än den angivna förvaringstiden kan leda till felaktiga eller ogiltiga resultat.
- Undvik alltid kontaminering med mikrober eller ribonukleas (RNase) av alla reagenser och förbrukningsvaror. Användning av sterila, RNase-fria överföringspipetter för engångsbruk rekommenderas vid användning av sekundära provrör. Använd en ny pipett för varje prov.
- Undvik att hantera eller bryta loss någon NeuMoDx Cartridge efter amplifiering för att undvika kontaminering. Hämta inte NeuMoDx Cartridge från behållaren för biologiskt avfall (NeuMoDx 288 Molecular System) eller tunnan för biologiskt avfall (NeuMoDx 96 Molecular System) under några omständigheter. NeuMoDx Cartridge är utformad för att förebygga kontaminering.
- Om PCR-tester med öppna rör även utförs av laboratoriet ska åtgärder vidtas för att säkerställa att NeuMoDx HCV Quant Test Strip, ytterligare förbrukningsvaror och reagenser som behövs för testning, personlig skyddsutrustning som handskar och labbrockar och NeuMoDx System inte är förorenade.
- Rena, puderfria nitrilhandskar ska bäras vid hantering av alla NeuMoDx-reagenser och -förbrukningsvaror. Rör inte vid ovasidan av NeuMoDx Cartridge, folieförseglingen till NeuMoDx HCV Quant Test Strip och NeuMoDx Extraction Plate eller ovasidan av NeuMoDx Lysis Buffer 3; ta endast i sidorna när förbrukningsvaror och reagenser hanteras.
- Säkerhetsdatablad (Safety Data Sheets, SDS) medföljer varje reagens (i förekommande fall) på [www.qiagen.com/neumodx-ifu](http://www.qiagen.com/neumodx-ifu)
- Tvätta händerna noga när testet har utförts.
- Pipettera inte med munnen. Rök, drick eller ät inte i områden där prover eller reagenser hanteras.
- Hantera alltid prover som om de vore smittfarliga och i enlighet med säkra laboratorierutiner såsom de som beskrivs i *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>8</sup> och i CLSI-dokument M29-A4.<sup>9</sup>
- Avfallshantera oanvända reagenser och avfall i enlighet med nationella, federala, regionala och lokala föreskrifter.
- Får ej återanvändas.

### ⇌ PRODUKTFÖRVARING, HANTERING OCH STABILITET

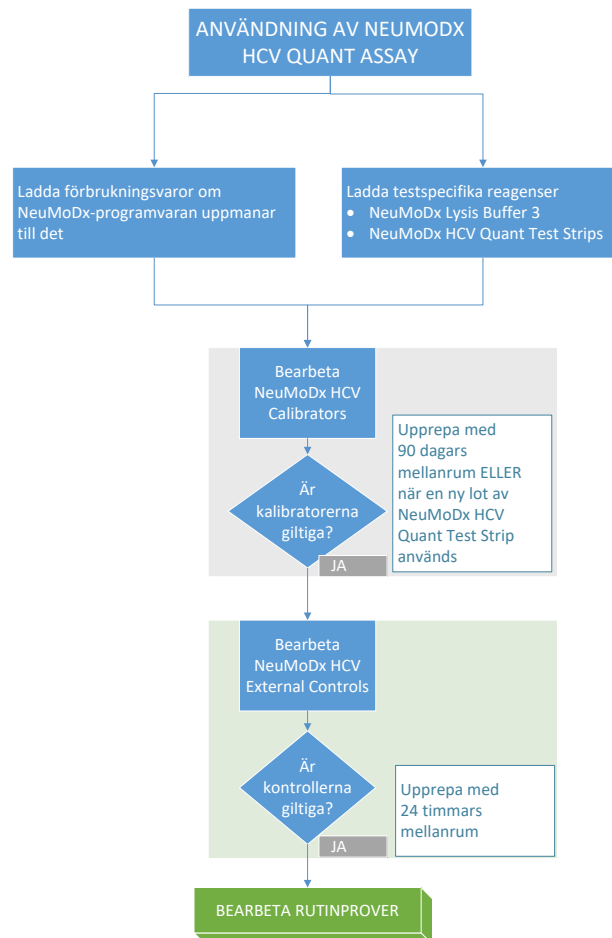
- NeuMoDx HCV Quant Test Strips är stabila i primärförpackningen till och med det utgångsdatum som står på den inre produktetiketten om de förvaras vid 4–28 °C.
- Använd inte förbrukningsvaror och reagenser efter det angivna utgångsdatumet.
- Använd inte någon testprodukt om den inre eller yttre förpackningen är synligt skadad.
- Ladda inte om någon testprodukt som redan har laddats på ett annat NeuMoDx System.
- Efter laddning kan NeuMoDx HCV Quant Test Strip lämnas kvar i NeuMoDx System i upp till 14 dagar. Återstående hållbarhet för de laddade testremorna övervakas via programvaran och rapporteras till användaren i realtid. Systemet kommer att uppmana användaren att ta bort testremor som har gått ut.

### INSAMLING, TRANSPORT OCH LAGRING AV PROV

1. Hantera alla prover, kalibratorer och kontroller som potentiella smittbärare.
2. Frys inte helblod eller prover som förvaras i primärrör.
3. Plasmaprov ska prepareras genom att helblod samlas in i sterila provrör med EDTA eller ACD som antikoagulerande medel eller i plasmaberedningsrör (PPT). Följ instruktionerna från tillverkaren av provröret för förberedelse och förvaring.
4. För att förbereda serumprover bör helblod samlas in i serumrör eller SST-rör. Följ instruktionerna från tillverkaren av provröret för förberedelse och förvaring.
5. Prover kan testas i primära eller sekundära provrör. Rekommenderas för test i primära provrör:
  - a. Plasmaprover: BD Vacutainer® Plus Plastic K<sub>2</sub>EDTA Tube (BD #368589) eller BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD #362799).
  - b. Serumprover: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD #367820) eller BD Vacutainer SST™ Tube (BD #367988).

6. Preparerade prover kan förvaras i NeuMoDx System i upp till 8 timmar före bearbetningen. Om ytterligare förvaringstid behövs rekommenderar vi att proven antingen kyls eller infrysas i sekundära alikvoter.
7. Preparerade prover ska förvaras vid 2–8 °C i högst 7 dagar innan de testas och högst 8 timmar i rumstemperatur.
8. Preparerade prover i sekundära rör får förvaras vid  $\leq -20$  °C i upp till 24 veckor före bearbetningen. Frysta prover ska inte genomgå mer än två (2) frys- /tiningscyklar före användning.
  - a. Plasmaprover som är frysta och genomgår en (1) frys-/tiningscykel kan förvaras ombord på systemet i ytterligare 8 timmar.
  - b. Plasmaprover som är frysta och genomgår två (2) frys-/tiningscyklar ska inte förvaras ombord på systemet i mer än 4 timmar.
  - c. Serumprover som är frysta och genomgår en (1) eller två (2) frys-/tiningscyklar ska testas omedelbart efter upptining.
  - d. Om proverna är frysta: låt dem tina helt till rumstemperatur (15–30 °C) och blanda i vortexblandare så att de blir homogena.
  - e. Frysning av plasma/serum i primära uppsamlingsrör rekommenderas inte.
9. Om proverna ska skickas ska de förpackas och märkas i enlighet med gällande nationella och/eller internationella föreskrifter.
10. Märk proven tydligt och ange att de är avsedda för HCV-testning.
11. Fortsätt till avsnittet *Beredning av test*.

Den övergripande processen för implementering av NeuMoDx HCV Quant Assay sammanfattas nedan i *Bild 1*.



**Bild 1:** Arbetsflöde för användning av NeuMoDx HCV Quant Assay

## BRUKSANVISNING

### Beredning av test

*NeuMoDx HCV Quant Assay kan köras direkt från primära blodprovtagningsrör eller från provalikvoter i sekundära rör. Bearbetningen kan köras med en av två arbetsflöden för bearbetning av provvolymen – 550  $\mu$ L provvolymarbetsflöde eller 200  $\mu$ L provvolymarbetsflöde.*

- Fäst provstreckkodsetiketten på ett provrör som är kompatibelt med NeuMoDx System. Det primära blodprovvröret kan märkas och placeras direkt i en 32-rörs provrörscarrier efter centrifugering enligt tillverkarens anvisningar. Alternativt kan en aliquot av plasma överföras till ett sekundärt provrör för bearbetning i NeuMoDx System.
- Om du testar provet i det primära provvröret ska provvröret med streckkodsetiketten placeras i en carrier. Kontrollera att locket har avlägsnats innan du laddar provvröret på NeuMoDx System. Minimivolymer **över** lättcellskoncentratskiktet definieras nedan och kommer att uppfyllas om prover samlas in och behandlas enligt rörtillverkarens anvisningar. Prestandan garanteras inte för prover som samlas in på fel sätt.

Provrörstyp	Minsta provvolym som krävs	
	550 µL arbetsflöde	200 µL arbetsflöde
SST – 3,5 mL	1 550 µL	1 200 µL
PPT/SST – 5,0 mL	1 800 µL	1 450 µL
PPT/SST – 8,5 mL	2 500 µL	2 200 µL
K <sub>2</sub> EDTA/Serum – 4,0 mL	1 050 µL	700 µL
K <sub>2</sub> EDTA/Serum – 6,0 mL	1 250 µL	900 µL
K <sub>2</sub> EDTA/Serum – 10,0 mL	1 600 µL	1 250 µL

- Om du använder ett sekundärt rör:
  - Vortexblanda provet för att få en jämn fördelning
  - Om du använder en ny överföringspipett för varje prov överför du en aliquot av plasma eller serum till det streckkodsmärkta provvröret som är kompatibelt med NeuMoDx System enligt nedanstående volymer:

Provrörscarrier	Rörstorlek	Minsta provvolym som krävs	
		550 µL arbetsflöde	200 µL arbetsflöde
<b>32-Tube Specimen Tube Carrier</b> (Provrörscarrier för 32 provrör)	11–14 mm diameter med 60–120 mm höjd	700 µL	400 µL
<b>24-Tube Specimen Tube Carrier</b> (Provrörscarrier för 24 provrör)	14,5–18 mm diameter med 60–120 mm höjd	1 100 µL	800 µL
<b>Low Volume Specimen Tube Carrier</b> (Provrörscarrier för lågvolumsprovvrör)	1,5 mL mikrocentrifugrör med konisk botten	650 µL	300 µL

- Se till att inga klumpar överförs från provet till provvröret.

### Användning av NeuMoDx System

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

- Ladda testordern i NeuMoDx System enligt önskat arbetsflöde för provvolym och provrörstyp.
  - 550 µL provvolym testas genom att definiera provtypen som "Plasma" eller "Serum"
  - 200 µL provvolym testas genom att definiera provtypen som "Plasma2" eller "Serum2"
  - Om inte har definierats i testordern kommer provtypen **Plasma** i ett **Secondary Tube (Sekundärt rör)** att användas som standard.
- Fyll en eller flera NeuMoDx System testremse-carrier(s) med NeuMoDx HCV Quant Test Strip och använd pekskärmen för att ladda testremsecarrieren i NeuMoDx System.
- Om NeuMoDx System-programvaran uppmanar till det ska du tillsätta nödvändiga förbrukningsvaror i NeuMoDx Systems carriers för förbrukningsvaror och använda pekskärmen för att ladda carrieren i NeuMoDx System.
- Om programvaran för NeuMoDx System uppmanar till det ska du ersätta NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, tömma primningsavfallet, behållaren för biologiskt avfall (endast NeuMoDx 288 Molecular System), spetsavfallsbehållaren (endast NeuMoDx 96 Molecular System) eller tunnan för biologiskt avfall (endast NeuMoDx 96 Molecular System) enligt uppmaningen.
- Om programvaran i NeuMoDx System uppmanar till det ska NeuMoDx HCV Calibrators och/eller NeuMoDx HCV External Controls bearbetas. Mer information om kalibratorer och kontrollerar finns i avsnittet *Bearbetning av resultat*.
- Ladda provrören med prov/kalibrator/kontroll i en provrörscarrier. Se till att alla provrörslock är borttagna.
- Placera provrörscarriern i Autoloader-hyllan och ladda carrieren i NeuMoDx System med hjälp av pekskärmen. Detta startar bearbetningen av de laddade proverna för de identifierade testerna. Förutsatt att en giltig testbeställning finns i systemet.

### BEGRÄNSNINGAR

1. NeuMoDx HCV Quant Test Strip kan bara användas på NeuMoDx System.
2. Prestandan hos NeuMoDx HCV Quant Test Strip har fastställts för plasmaprov som beretts med EDTA/ACD som antikoagulanter eller serumprover som beretts i serumseparatorrör. Användning av NeuMoDx HCV Quant Test Strip med andra källor har inte bedömts, och prestandaegenskaperna för detta test är okända för övriga typer av prover.
3. Prestandan hos NeuMoDx HCV Quant Test Strip har fastställts för primära provrörstest med BD Vacutainer Plus Plastic K<sub>2</sub>EDTA Tubes, BD Vacutainer PPT Plasma Preparation Tubes, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tubes och BD Vacutainer SST Tubes.
4. Provhantering utöver lagringsförhållandena kan påverka den kvantitativa noggrannheten för NeuMoDx HCV Quant Assay negativt men påverkar mindre sannolikt den kvalitativa (positiva/negativa) procentsatsen.
5. Förvaring av serumprover ombord på systemet efter långvarig frusen lagring och som genomgått två frys-/tiningcykler utan omedelbar testning kan påverka den kvantitativa noggrannheten hos NeuMoDx HCV Quant Assay negativt.
6. En liten ökning av detektionsgränsen och den lägre kvantifieringsgränsen för NeuMoDx HCV Quant Assay har observerats vid användning av 200 µL provvolym.
7. NeuMoDx HCV Quant Assay får inte användas med prover från hepariniserade människor.
8. Eftersom detektion av HCV är beroende av antalet mål-RNA-virala partiklar i provet är pålitliga resultat beroende av att provet samlas in, hanteras och lagras på korrekt sätt.
9. NeuMoDx HCV Calibrators och NeuMoDx HCV External Controls måste behandlas enligt rekommendationerna i bipacksedlarna och uppmaningarna i NeuMoDx System-programvaran innan kliniska prover rutinbearbetas.
10. Felaktiga resultat kan uppstå vid felaktig insamling, hantering, förvaring, tekniska fel eller felidentifiering av provrör. Dessutom kan felaktigt negativa resultat bli följderna eftersom antalet viruspartiklar i provet ligger under detektionsgränsen för NeuMoDx HCV Quant Assay.
11. NeuMoDx System får bara användas av personal som utbildats inom användning av NeuMoDx System.
12. Om både HCV-målet och SPC2-målen inte amplificeras rapporteras ett ogiltigt resultat (Indeterminate (obestämt), No Result (inget resultat) eller Unresolved (olöst)). Då ska testet upprepas.
13. Om NeuMoDx HCV Quant Assay är positivt, men kvantifieringsvärdet är utanför kvantifieringsgränserna, så rapporterar NeuMoDx System om detekterad HCV var *under* Lower Limit of Quantitation (lägre gräns för kvantifiering) (LLOQ) eller *över* Upper Limit of Quantitation (övre gräns för kvantifiering) (ULOQ).
14. Om detekterad HCV är *under* LLOQ kan analysen med NeuMoDx HCV Quant Assay upprepas (om så önskas) med en annan alikvot av provet.
15. Om detekterad HCV var över ULOQ ska analysen upprepas med NeuMoDx HCV Quant Assay och en utspädd alikvot av originalprovet. Vi rekommenderar en spädning på 1:100 eller 1:1 000 i HCV-negativ plasma eller Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Koncentrationen i det ursprungliga provet beräknas enligt följande:  
$$\text{ursprunglig provkoncentration} = \log_{10}(\text{spädningsfaktor}) + \text{rapporterad koncentration av det utspädda provet}$$
16. Tillfällig förekomst av PCR-hämmare i plasma och serum kan resultera i ett systemkvantifieringsfel. Om detta inträffar rekommenderas att testet upprepas med samma prov som späds i Basematrix vid 1:10 eller 1:100.
17. Ett positivt testresultat indikerar inte nödvändigtvis förekomsten av levande organismer. Snarare tyder ett positivt resultat på förekomst av RNA från hepatit C-virus.
18. Borttagning eller mutationer i de bevarade regionerna som är mål för NeuMoDx HCV Quant Assay kan påverka detekteringen eller ge upphov till felaktiga resultat med NeuMoDx HCV Quant Test Strip.
19. Resultat från NeuMoDx HCV Quant Assay ska användas som komplement till kliniska observationer och övrig information som är tillgänglig för läkaren. Testet är inte avsett för diagnostisering av infektioner.
20. God laboratorised inklusive att byta handskar mellan hantering av patientprover rekommenderas för att undvika kontaminering.

### BEARBETNING AV RESULTAT

Tillgängliga resultat kan visas eller skrivas ut från fliken Results (Resultat) i fönstret Results (Resultat) på NeuMoDx Systems pekskärm. Resultatet av NeuMoDx HCV Quant Assay genereras automatiskt av programvaran i NeuMoDx System med beslutsalgoritmen och resultatbearbetningsparametrarna som angetts i definitionsfilen till NeuMoDx HCV Assay (HCV ADF). Ett resultat kan anges som Negative (negativt), Positive (positivt) med en rapporterad HCV-koncentration, Positive (positivt) över ULoQ, Positive (positivt) under LLoQ, Indeterminate (obestämt, IND) eller Unresolved (olöst, UNR) eller No Result (Inget resultat, NR) baserat på amplifieringsstatus för målet och provbearbetningskontrollen. Resultaten rapporteras baserat på ADF-beslutsalgoritmen som sammanfattas nedan i *tabell 1*.

**Tabell 1.** Sammanfattning av beslutsalgoritm för NeuMoDx HCV Quant Assay

RESULTAT	HCV-mål	Provprocesskontroll (Sample Process Control, SPC2)	Resultattolkning
<b>Positive (positivt) med rapporterad koncentration</b>	Amplified (Amplifierad) $0,9 \leq [\text{HCV}] \leq 8,2 \log_{10} \text{ IE/mL}$ (550 $\mu\text{L}$ arbetsflöde) $1,5 \leq [\text{HCV}] \leq 8,2 \log_{10} \text{ IE/mL}$ (200 $\mu\text{L}$ arbetsflöde)	Amplified (amplifierad) eller Not Amplified (ej amplifierad)	HCV RNA detekterat inom kvantitativt intervall
<b>Positive (positivt), över ULoQ</b>	Amplified (Amplifierad) $[\text{HCV}] > 8,2 \log_{10} \text{ IE/mL}$	Amplified (amplifierad) eller Not Amplified (ej amplifierad)	HCV RNA detekterat över kvantitativt intervall
<b>Positive (positivt), under LLoQ</b>	Amplified (Amplifierad) $[\text{HCV}] < 0,9 \log_{10} \text{ IE/mL}$ (550 $\mu\text{L}$ arbetsflöde) $[\text{HCV}] < 1,5 \log_{10} \text{ IE/mL}$ (200 $\mu\text{L}$ arbetsflöde)	Amplified (amplifierad) eller Not Amplified (ej amplifierad)	HCV RNA detekterat under kvantitativt intervall
<b>Negative (Negativt)</b>	Not Amplified (Ej amplifierad)	Amplified (Amplifierad)	HCV RNA har inte detekterats
<b>Indeterminate (Obestämt)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Ej amplifierad, Systemfel upptäcktes, Provbearbetning slutförd)		Alla målresultat var ogiltiga – testa om provet†
<b>No Result* (Inget resultat)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Ej amplifierad, Systemfel upptäcktes, Provbearbetning avbruten)		Provbearbetning avbröts; testa om provet†
<b>Unresolved (Olöst)</b>	Not Amplified, No System Error Detected (Ej amplifierad, Systemfel upptäcktes inte)		Alla målresultat var ogiltiga – testa om provet†

\* No Result-flaggan (Inget resultat) rapporteras bara på NeuMoDx System programversion 1.8 och senare.

† NeuMoDx System har utrustats med en automatisk funktion för Rerun (Omkörning)/Repeat (Upprepning) som slutanvändaren kan välja att använda för att säkerställa att resultatet IND (Obestämt)/UNR (Olöst)/NR (Inget resultat) bearbetas om automatiskt och därmed minska förseningar av resultatrapportering.

### Testberäkning

- För prover inom kvantifieringsintervallet för NeuMoDx HCV Quant Assay så beräknas koncentrationen av HCV RNA i proverna med hjälp av den lagrade standardkurvan tillsammans med kalibreringskoefficienten och provvolymen.
  - En s.k. kalibreringskoefficient beräknas utifrån resultatet av NeuMoDx HCV Calibrators som bearbetats för att fastställa standardkurvas giltighet för en viss lot av NeuMoDx HCV Quant Test Strip i ett specifikt NeuMoDx System.
  - Kalibreringskoefficienten räknas in i den slutliga bestämningen av koncentrationen av HCV RNA.
  - NeuMoDx Software står för provets indatavolym vid bestämning av koncentrationen av HCV RNA per mL prov.
- Resultaten av NeuMoDx HCV Quant Assay rapporteras i  $\log_{10}$  IE/mL.
- Den resulterande kvantifieringen av de okända proverna kan spåras till WHO:s femte internationella standard för HCV.

### Testkalibrering

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

### Kalibratorer

- En uppsättning NeuMoDx HCV Calibrators behöver bearbetas för varje ny lot med NeuMoDx HCV Quant Test Strips, när en ny HCV-analysdefinitionsfil laddas upp i NeuMoDx System eller om utgångsdatum har passerat för den aktuella kalibratoruppsättningen (90 dagar) eller om programvaran i NeuMoDx System förändras.
- NeuMoDx System-programvaran informerar användaren när kalibratorerna måste bearbetas. En ny lot testresor kan inte användas för testning förrän kalibratorerna har bearbetats.



3. Kalibreringsvaliditeten fastställs så här:
  - a) En uppsättning med två kalibratorer – en (1) hög och en (1) låg – behöver bearbetas för att fastställa validiteten.
  - b) För att resultaten ska vara giltiga ska minst två (2) av de tre (3) replikaten ge resultat som ligger inom de förinställda parametrarna. Det nominella målvärdet för låg kalibrator är  $3 \log_{10}$  IE/mL och för hög kalibrator  $5 \log_{10}$  IE/mL.
  - c) En kalibreringskoefficient beräknas för att ta hänsyn till förväntad variation mellan olika loter av testremсор. Kalibrationskoefficienten används vid bestämning av den slutgiltiga HCV-koncentrationen.
4. Om en eller bägge kalibratorer inte godkänns av validitetskontrollen så upprepar du bearbetningen av de misslyckade kalibratorerna med en ny ampull. Om en kalibrator inte valideras så går det att enbart upprepa den misslyckade kalibratören eftersom systemet inte kräver att användaren kör bägge kalibratorerna.
5. Kontakta NeuMoDx Molecular, Inc. om en eller båda kalibratorer underkänns i valideringen i följd.

### Kvalitetskontroll

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

### Externa kontroller

1. Positiva och negativa externa kontroller måste bearbetas var 24:e timme under testning med NeuMoDx HCV Quant Assay. Om inga giltiga externa kontrollresultatuppsättningar finns begär NeuMoDx System-programvara användaren att tillhandahålla dessa kontroller innan provresultat kan rapporteras.
2. Giltigheten för externa kontroller analyseras av NeuMoDx System baserat på det förväntade resultatet. Den positiva kontrollen ska ge resultatet HCV Positive (positivt) och den negativa kontrollen resultatet HCV Negative (negativt).
3. Gör så här om resultaten för externa kontroller avviker från varandra:
  - a) Ett positivt testresultat som rapporteras för ett negativt kontrollprov indikerar att provet är kontaminerat.
  - b) Ett negativt testresultat som rapporteras för ett positivt kontrollprov kan indikera att det finns ett reagens- eller instrumentrelaterat problem.
  - c) Upprepa NeuMoDx HCV External Controls med färsk flaskor av de kontroller som inte godkändes av valideringen i något av ovanstående fall, eller vid resultatet Indeterminate (Obestämt, IND) eller No Result (Inget resultat, NR).
  - d) Om den positiva NeuMoDx HCV External Control återigen ger resultatet Negative (negativt) ska du kontakta den tekniska supporten hos NeuMoDx.
  - e) Om den negativa NeuMoDx HCV externa kontrollen återigen ger ett positivt resultat: försök eliminera alla potentiella kontamineringskällor, bland annat genom att byta alla reagenser innan du kontaktar den tekniska supporten hos NeuMoDx.

### Provprocesskontroller (interna)

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

### Ogiltiga resultat

Om en NeuMoDx HCV Quant Assay som utförs i NeuMoDx System inte producerar ett giltigt resultat efter att provbearbetningen har slutförts rapporteras det som antingen Indeterminate (Obestämt) (IND), No result (Inget resultat) (NR) eller Unresolved (Olöst) (UNR) baserat på typen av fel som uppstod.

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

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

Om en NeuMoDx HCV Quant Assay som utförts på NeuMoDx System inte ger ett giltigt resultat och provbearbetningen avbryts innan den slutfördes kommer den att rapporteras som No Result (Inget resultat, NR). Om NR (Inget resultat) rapporteras rekommenderas ett omtest.



### PRESTANDAEGENSKAPER

#### Analytisk sensitivitet – detektionsgräns enligt WHO-standard

Den analytiska sensitiviteten hos NeuMoDx HCV Quant Assay bestämdes genom att testa negativa prover och en spädningsserie enligt WHO:s femte internationella standard (genotyp 1) i screenad negativ human plasma och serum för att fastställa detektionsgränsen (Limit of Detection, LoD) på NeuMoDx System. LoD definierades som den lägsta målnivån som detekteras till en kvot på 95 %, vilket fastställdes av probitanalysen. Undersökningen utfördes i tre dagar med flera system och flera loter med NeuMoDx-reagenser. Varje system (N288 och N96) behandlade 18 replikat vid varje spädningnivå per dag. Detektionsnivåerna visas i *tabell 2*. Ytterligare en studie utfördes för att bestämma LoD för NeuMoDx HCV Quant Assay när arbetsflödet med 200 µL provvolym används, vars resultat visas i *tabell 3*.

**Tabell 2.** Positiva detektionsnivåer för LoD-bestämning av NeuMoDx HCV Quant Assay– 550 µL arbetsflöde

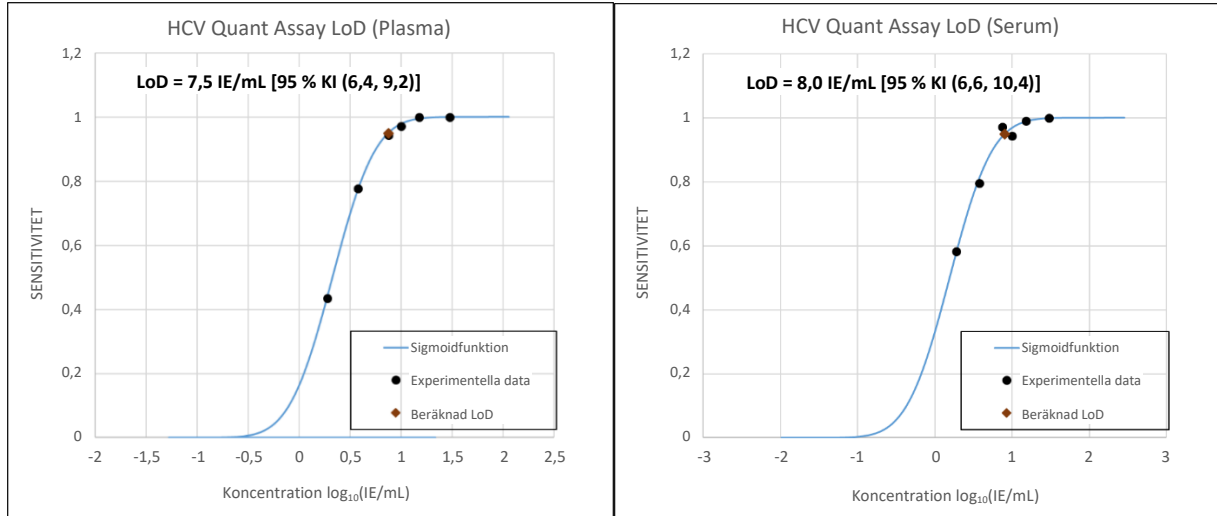
Målkoncentration [IE/mL]	Målkoncentration [ $\log_{10}$ IE/mL]	PLASMA			SERUM		
		Antal giltiga tester	Antal positiva	Detektionsnivå	Antal giltiga tester	Antal positiva	Detektionsnivå
30	1,48	108	108	100 %	108	108	100 %
15	1,18	108	108	100 %	108	107	99 %
10	1,00	108	105	97 %	108	102	94 %
7,5	0,88	108	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.** Positiva detektionsnivåer för LoD-bestämning av NeuMoDx HCV Quant Assay– 200 µL arbetsflöde

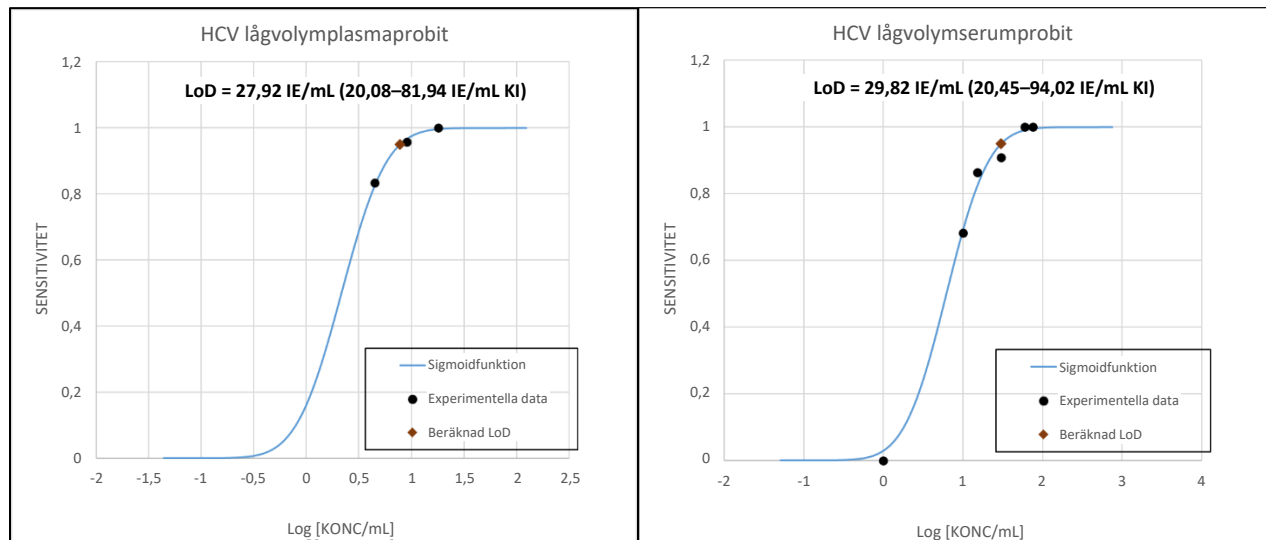
Målkoncentration [IE/mL]	Målkoncentration [ $\log_{10}$ IE/mL]	PLASMA			SERUM		
		Antal giltiga tester	Antal positiva	Detektionsnivå	Antal giltiga tester	Antal positiva	Detektionsnivå
75	1,88	N/A (EJ TILLÄMPLIGT)	N/A (EJ TILLÄMPLIGT)	N/A (EJ TILLÄMPLIGT)	22	22	100 %
60	1,78	22	22	100 %	22	22	100 %
30	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 för NeuMoDx HCV Quant Assay i plasma över alla genotyper bestämdes vara 7,5 IE/mL (95 % KI 6,4 till 9,2 IE/mL) [(0,9  $\log_{10}$  IE/mL) (95 % KI 0,8 till 1,0  $\log_{10}$  IE/mL)] enligt test på NeuMoDx 288 Molecular System med 550 µL provvolymarbetsflöde (*bild 2*). LoD för NeuMoDx HCV Quant Assay för serumprover fastställdes till 8,0 IE/mL (95 % KI 6,6 till 10,4 IE/mL) [(0,9  $\log_{10}$  IE/mL) (95 % KI 0,8–1,0  $\log_{10}$  IE/mL)] med arbetsflödet med 550 µL provvolym (*bild 2*). LoD för båda provtyperna med arbetsflödet med 550 µL provvolym är **8,0 IE/mL (0,9  $\log_{10}$  IE/mL)**.

LoD för NeuMoDx HCV Quant Assay med arbetsflödet med 200 µL provvolym fastställdes till 27,9 IE/mL (95 % KI 20,1–81,9) i plasmaprover och 29,8 IE/mL (95 % KI 20,5–94,0) i serumprov (*bild 3*). LoD för båda provtyperna med arbetsflödet med 200 µL provvolym är **30,0 IE/mL (1,5  $\log_{10}$  IE/mL)**.



**Bild 2:** Probitformatanalys som används för att bestämma LoD för NeuMoDx HCV Quant Assay, Plasma (vänster) och Serum (höger) – arbetsflöde med 550 µL



**Bild 3:** Probitformatanalys som används för att bestämma LoD för NeuMoDx HCV Quant Assay, Plasma (vänster) och Serum (höger) – arbetsflöde med 200 µL

### Analytisk sensitivitet – kvantifieringsgräns– lägre kvantifieringsgräns (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) enligt WHO-standard

Den lägre kvantifieringsgränsen (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) definieras som den lägsta målnivån där > 95 % detektion uppnås OCH totalt analytiskt fel (Total Analytical Error, TAE) ≤ 1,0. För att fastställa LLoQ beräknades det totala analytiska felet (Total Analytical Error, TAE) för var och en av målnivåerna för HCV som rapporterade > 95 % detektion som en del av LoD-beräkningen. Det totala analytiska felet definieras enligt följande:

$$TAE = \text{bias} + 2 * SD \quad [\text{Westgard-statistik}]$$

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

Sammanställda resultat för de sex nivåerna av HCV-plasma och serumprover som testades i LLoQ-studien med genotyp 1 med arbetsflödet med 550 µL provvolym visas i *tabell 4*. Resultat från ytterligare testning av arbetsflödet med 200 µL provvolym visas i *tabell 5*.

**Tabell 4.** NeuMoDx HCV Quant Assay LLoQ med Bias och TAE– arbetsflöde med 550 µL

Målkonc. [IE/mL]	Målkonc. [log <sub>10</sub> IE/mL]	Plasma					Serum				
		Snittkonc. [log <sub>10</sub> IE/mL]	Detektion (%)	SD	Bias	TAE	Snittkonc. [log <sub>10</sub> IE/mL]	Detektion (%)	SD	Bias	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.** NeuMoDx HCV Quant Assay LLoQ med Bias och TAE– arbetsflöde med 200 µL

Målkonc. [IE/mL]	Målkonc. [log <sub>10</sub> IE/mL]	Plasma					Serum				
		Snittkonc. [log <sub>10</sub> IE/mL]	Detektion (%)	SD	Bias	TAE	Snittkonc. [log <sub>10</sub> IE/mL]	Detektion (%)	SD	Bias	TAE
75	1,88	N/A (EJ TILLÄMP-LIGT)	N/A (EJ TILLÄMP-LIGT)	N/A (EJ TILLÄMP-LIGT)	N/A (EJ TILLÄMP-LIGT)	N/A (EJ TILLÄMP-LIGT)	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 för NeuMoDx HCV Quant Assay fastställs till 7,7 IE/mL (0,9 log<sub>10</sub> IE/mL) för plasma, och 8,4 IE/mL, (0,9 log<sub>10</sub> IE/mL) för serum med arbetsflödet med 550 µL provvolym. LLoQ för både plasma och serum fastställs till **8,4 IE/mL (0,9 log<sub>10</sub> IE/mL)** med arbetsflödet med 550 µL provvolym.

LLoQ för NeuMoDx HCV Quant Assay med WHO:s standard fastställs till 30,0 IE/mL (1,5 log<sub>10</sub> IE/mL) för plasma, och 29,8 IE/mL, (1,37 log<sub>10</sub> IE/mL) för serum med arbetsflödet med 200 µL provvolym. LLoQ för både plasma och serum fastställs till **30,0 IE/mL (0,9 log<sub>10</sub> IE/mL)** med arbetsflödet med 200 µL provvolym.

#### Analytisk sensitivitet – LoD och LLoQ över HCV-genotyper

LoD fastställdes först för genotyp 1 (WHO:s femte internationella standard) och därefter utfördes ytterligare testning omkring fastställd LoD med var och en av de andra 5 genotyperna. Trettiosex (36) replikat vid nivåer motsvarande 2X, 1X och 0,5X av det övre gränsvärdet för 95 % KI LoD testades med NeuMoDx HCV Quant Assay med plasma och arbetsflödet med 550 µL provvolym. Positiv procentandel för varje genotyp vid var och en av dessa testade nivåer uppställdes i tabellform och användes för att beräkna LoD med en probitanalys.

Totalt analytiskt fel vid dessa nivåer beräknades också. Den lägsta nivån med 95 % positiv detektering och beräknat TAE på ≤ 1,0 bedömdes återigen vara LLoQ för genotypen. Dessa resultat bekräftar att NeuMoDx HCV Quant Assay har utmärkt och ekvivalent detektionsprestanda över alla sex genotyper med ett intervall på 4,5–7,5 IE/mL, inklusive de resultat som erhållits med WHO:s femte internationella standard (Genotyp 1). Sammantaget fastställdes LoD för NeuMoDx HCV Quant Assay över genotyper till 7,5 IE/mL (0,88 log<sub>10</sub> IE/mL) och LLoQ fastställdes till det högsta värdet som är 7,7 IE/mL (0,9 log<sub>10</sub> IE/mL), enligt vad som rapporterats för WHO:s femte internationella standard (Genotyp 1, ovan). *Tabell 6* visar LoD- och LLoQ-resultaten för testning över HCV-genotyper enligt vad som fastställts i plasma.

**Tabell 6.** HCV-genotyper testade i plasma med arbetsflödet med 550 µL provvolym

GENOTYP	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

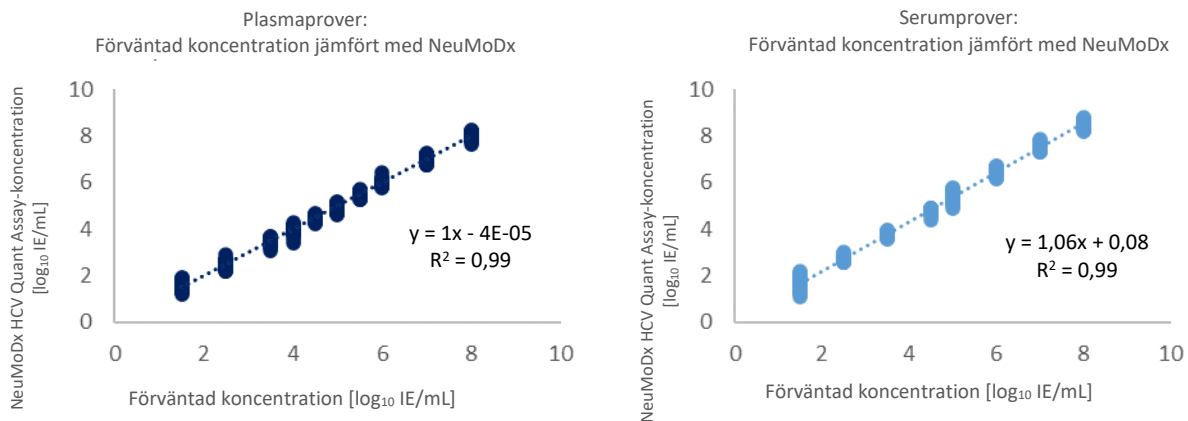
Baserat på resultatet av ovan nämnda studier fastställer NeuMoDx ett **LoD på 8,0 IE/mL (0,9 log<sub>10</sub> IE/mL)** och ett **LLoQ på 8,4 IE/mL (0,9 log<sub>10</sub> IE/mL)** för NeuMoDx HCV Quant Assay i **plasma och serum** med arbetsflödet med **550 µL provvolym**.

De LoD och LLoQ som fastställts för NeuMoDx HCV Quant Assay för **båda provtyperna (plasma och serum)** med **200 µL provvolymarbetsflöde** är **30,0 IE/mL (1,5 log<sub>10</sub> IE/mL)**. **the 200 µL specimen volume workflow is 30.0 IU/mL (1.5 log<sub>10</sub> IU/mL)**.

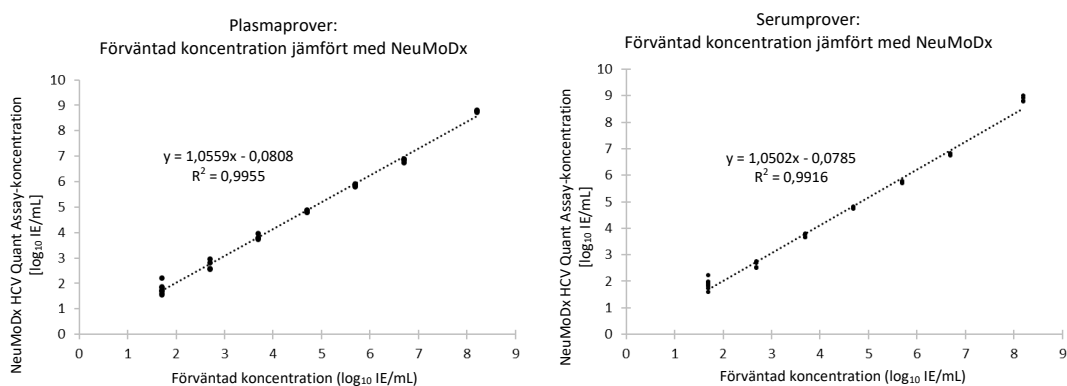
### Analytisk sensitivitet – Linjäritet och bestämning av övre kvantifieringsgräns (Upper Limit of Quantitation, ULOQ)

Linjäritet och övre kvantifieringsgräns (ULOQ) för NeuMoDx HCV Quant Assay fastställdes i plasma genom att förbereda en spädningsserie med HCV Armored RNA® (Asuragen Inc., Austin, TX) och AcroMetrix™ High Control HCV (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA ) med fastställd spårbarhet till WHO:s femte internationella standard. En panel med 11 deltagare preparerades i poolad HCV-negativ plasma så att panelen omfattade koncentrationer på 8,2–1,5 log<sub>10</sub> IE/mL. NeuMoDx HCV Quant Assay visade möjligheten att kvantifiera HCV över det linjära 8 log<sub>10</sub>-intervallet med en noggrannhet på ± 0,3 log<sub>10</sub> IE/mL baserat på det standardfel som beräknats med 95 % konfidensintervall. Ingen betydande fördel uppnåddes vid användning av regressionsanpassningar i 2:a och 3:e ordningen. ULOQ i plasma fastställdes till 8,2 log<sub>10</sub> IE/mL. En efterföljande studie utfördes för att visa matrisekvivalens och analysen jämfört med kvantitativa resultat för NeuMoDx HCV för prover som förberetts i plasma och serum med två olika modeller för regressionspassform, inklusive regressionsverktyget i MS Excel och Passing-Bablok. Resultaten visade en stark korrelation som representeras av lutnings- och interceptvärden nära 1,00 respektive 0,00 och ett R<sup>2</sup>-värde på 0,99 (regressionsverktyget i MS Excel) eller ett p-värde på 0,600 (Passing-Bablok). De HCV-analyskoncentrationer som NeuMoDx System rapporterat jämfört med de förväntade värdena presenteras i *bild 4*.

Linjäritet och ULOQ utvärderades sedan med arbetsflödet med 200 µL provvolym. Ekvivalensjämförelser utfördes mellan de koncentrationer som rapporterats av NeuMoDx Software för arbetsflöden med 200 µL och 550 µL. Deming och Passing-Bablok-regressionsanalys visade en utmärkt korrelation och en lutning nära 1 och minimala intercept (bias) för de rapporterade koncentrationerna av både plasma- och serumprover över det linjära området. En Bland-Altman-jämförelse av den rapporterade koncentrationen för arbetsflödet med 200 µL provvolym och den genomsnittliga rapporterade koncentrationen för både 200 µL och 550 µL provvolym visade minimal bias. Precisionen tillskrivs den algoritm som användes för att skapa resultat för arbetsflödet med 200 µL. Dessutom jämförde en enkel linjär regression den förväntade koncentrationen med den rapporterade koncentrationen för arbetsflödet med 200 µL och gav en lutning nära 1, vilket visar en utmärkt korrelation (*bild 5*). Tillsammans visar dessa jämförelser korrekt kvantifiering av HCV över det linjära intervallet för NeuMoDx HCV Quant Assay med arbetsflödet med 200 µL provvolym.



**Bild 4:** Linjärt intervall av NeuMoDx HCV Quant Assay-plasma (till vänster) och -serum (till höger) – arbetsflöde med 550 µL



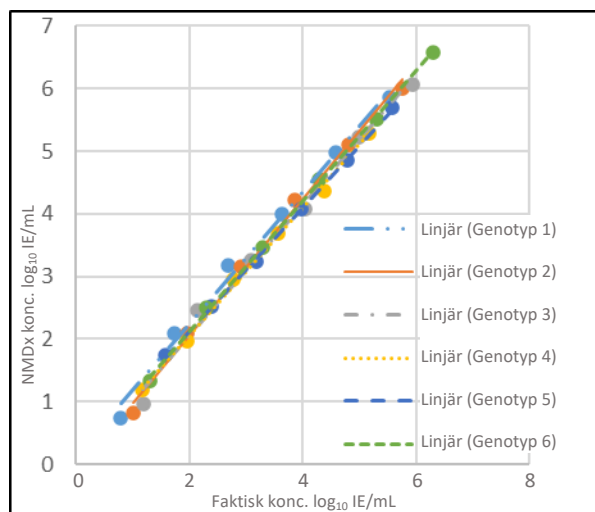
**Bild 5:** Linjärt intervall av NeuMoDx HCV Quant Assay-plasma (till vänster) och -serum (till höger) – arbetsflöde med 200 µL

### Analytisk sensitivitet – Linjäritet över genotyper

Linjäriteten hos NeuMoDx HCV Quant Assay över sex HCV-genotyperna bestämdes genom att testa minst fyra (4) olika koncentrationer av varje genotyp av HCV preparerade i poolad HCV-negativ plasma. Nivåerna för HCV-målen som testades i den här studien var beroende av koncentrationen av källprovet och skilde sig därmed mellan genotyper. I studien använde varje genotyp sex replikat på varje nivå. Linjäriteten över sex HCV-genotyper presenteras i *tabell 7* och *bild 6*.

**Tabell 7.** Linjäritet hos NeuMoDx HCV Quant Assay över genotyper

Genotyp	Linjäritetsekvation y = NeuMoDx HCV Assay Quantitation x = Förväntat kvantifiering	R <sup>2</sup>
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



**Bild 6:** Linjäritet hos NeuMoDx HCV Quant Assay över genotyper

### Analytisk specificitet – korsreaktivitet

Analytisk specificitet demonstrerades genom screening av 33 organismer som kan finnas i blod- och plasmaprover och prover som fylogenetiskt liknar HCVi korsreaktivitetssyfte. Organismerna förbereddes i pooler på 4 till 6 organismer vardera och testades i en hög koncentration. De testade organismerna visas i *tabell 8*. Ingen korsreaktivitet observerades med någon av de testade organismerna vilket bekräftar 100 % analytisk specificitet för NeuMoDx HCV Quant Assay.

**Tabell 8.** Patogener som används för att demonstrera analytisk specificitet

Icke-målorganismer						
Adenovirus 2	Dengue V1	Hepatit A	Humant immunbristvirus-2	Humant T-lymfotropt virus 1	Propionibacterium acnes	West Nile-virus
Adenovirus 5	Dengue V2	Hepatit B	Humant papillomvirus 16	Humant T-lymfotropt virus 2	Rubella	Gula febern
Candida albicans	Dengue V3	Herpes simplex-virus (HSV) 1	Humant papillomvirus 18	Influensa A	Saint Louis-encefalit	Zikavirus
Chlamydia trachomatis	Dengue V4	Herpes simplex-virus (HSV) 2	Humant herpesvirus 6b	Neisseria gonorrhoeae	Staphylococcus aureus	
Cytomegalovirus	Epstein-Barr-virus	Humant immunbristvirus-1	Humant herpesvirus 8	Parvovirus B19	Staphylococcus epidermidis	

### Analytisk specificitet – Störande ämnen, kommensala organismer

NeuMoDx HCV Quant Assay utvärderades för interferens vid närvaro av icke-målorganismer med hjälp av samma organismpooler som förberetts för korsreaktivitetstestningen som beskrivs ovan i *tabell 8*. Negativ HCV-plasma spetsades med organismerna och poolades i grupper om 4–6 och spetsades också med en HCV-positiv kontroll i en koncentration av  $1,4 \log_{10}$  IE/mL. Ingen betydande interferens observerades i närvaron av de här kommensala organismerna vilket visas av den minimala avvikelserna i kvantifiering från kontrollproverna utan interfererande agent.

### Analytisk specificitet – Störande ämnen, endogena och exogena substanser

NeuMoDx HCV Quant Assay utvärderades vid närvaro av typiska exogena och endogena interfererande substanser som påträffas i HCV-kliniska plasmaprover. Det inkluderade onormalt höga nivåer av blodkomponenter samt vanliga antivirala läkemedel, vilka klassificerats i *tabell 9*. Varje substans tillsattes till screenad HCV-negativ humant plasma som spetsats med  $1,7 \log_{10}$  IE/mL HCV, och proverna analyserades med avseende på interferens. Dessutom interferenstestades plasma som smittats med vanliga sjukdomar kopplade till infektion med hepatit C. Den genomsnittliga koncentrationen och bias för alla testade ämnen anges i *tabell 10*. Inga av de exogena eller endogena substanserna påverkade specificiteten hos NeuMoDx HCV Quant Assay.

**Tabell 9.** Interferenstestning – exogena ämnen (läkemedelsklassificeringar)

	Produkt	Klassificering		Produkt	Klassificering
Pool 1	Sofosbuvir	Direktverkande antiviral HCV	Pool 2	Paritaprevir	HCV NS3/4A-proteashämmare
	Ledipasvir	HCV-hämmare		Ombitasvir	Antiviral HCV
	Velpatasvir	HCV NS5A-hämmare		Ritonavir	HIV-proteashämmare
	Clarithromycin	Antibiotika		Abacavir sulfate	Omvända transkriptashämmare
	Interferon alfa-2a	Immunmodulator		Ribavirin	Immunmodulator
Pool 3	Grazoprevir	HCV NS3/4A-proteashämmare	Pool 4	Efavirenz	Omvända transkriptashämmare
	Elbasvir	HCV NS5A-hämmare		Lopinavir	Proteashämmare
	Tenofovir disoproxil	Antiviral HBV/HIV		Azithromycin	Antibiotika
	Lamivudine	Antiviral HBV/HIV		Dolutegravir	Antiviral HIV
	Valganciclovir	Antiviral CMV		Simeprevir	HCV NS3/4A-proteashämmare
Pool 5	Emtricitabine	Antiviral HIV			
	Raltegravir	Antiviral HIV			
	Amoxicillin	Antibiotika			
	Rilpivirine	Antiviral HIV			
	Dasabuvir	Direktverkande antiviral HCV			
	Glecaprevir	HCV NS3/4A-proteashämmare			

**Tabell 10.** Interferenstestning – exogena och endogena medel

Endogena	Snittkonc. log <sub>10</sub> IE/mL	Bias log <sub>10</sub> IE/mL
Hemoglobin	1,61	0,28
Triglycerider	1,31	-0,02
Bilirubin	1,47	0,14
Albumin	1,47	0,14
Exogena (läkemedel)	Snittkonc. log <sub>10</sub> IE/mL	Bias log <sub>10</sub> IE/mL
Pool 1: Zidovudine (ZDV), Saquinavir, Ritonavir, Clarithromycin, Interferon alfa-2a, Interferon alfa-2b	1,48	0,15
Pool 2: Abacavir sulfat, Amprenavir, Ribavirin, Entecavir, Fluoxetine, Valacyclovirhydroklorid	1,40	0,07
Pool 3: Tenofovir disoproxil, Lamivudine, Ganciclovir, Valganciclovir, Nevirapine	1,40	0,07
Pool 4: Efavirenz, Lopinavir, Enfuvirtide, Ciprofloxacin, Paroxetine,	1,51	0,18
Pool 5: Adefovir (dipivoxil), Azithromycin, Indinavir sulfat, Sertraline	1,40	0,07
Sjukdomstillstånd	Snittkonc. log <sub>10</sub> IE/mL	Bias log <sub>10</sub> IE/mL
Antinukleär antikropp (Antinuclear Antibody, ANA)	1,53	0,18
Systemic Lupus Erythematosus (SLE)	1,29	-0,06
Reumatoid artrit	1,39	0,04
HBV-antikroppar	1,45	0,10
Alkoholcirros	1,43	0,08
Reumatoidfaktor	1,43	0,08
Alkoholfri steatohepatit (NASH)	1,32	-0,03

### Precision inom labbet

Precision för NeuMoDx HCV Quant Assay fastställdes genom att testa en 7-medlemspanel med HCV-prover som preparerats (med både HCV Armored RNA och AcroMetrix HCV Control) med tre NeuMoDx System under 12 dagar. Precisionerna inom körning, inom dag och inom system karakteriserades och den övergripande standardavvikelsen fastställdes till  $\leq 0,26$  log<sub>10</sub> IE/mL. Inga betydande prestandaskillnader påträffades mellan system, dagar eller körningar, vilket framgår av *tabell 11*. Precisionen mellan användare beräknades inte eftersom inte användaren spelar någon tydlig roll i bearbetningen av prover med NeuMoDx System.

**Tabell 11.** Precision inom labbet – NeuMoDx HCV Quant Assay på NeuMoDx Systems

	Målkonc. [log <sub>10</sub> IE/mL]	Genomsn. konc. [log <sub>10</sub> IE/mL]	SD inom system	SD inom dag	SD inom körning	SD inom labbet (övergripande)
<b>ARMORED</b>	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
<b>ACROMETRIX</b>	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



### Reproducerbarhet lot till lot

Reproducerbarhet från lot till lot för NeuMoDx HCV Quant Assay bestämdes med tre olika loter av nyckelreagenser – NeuMoDx Lysis Buffer 3, NeuMoDx Extraction Plates och NeuMoDx HCV Quant Test Strips. En panel med 7 medlemmar HCV (med både HCV Armored RNA och AcroMatrix HCV Control) användes för att bedöma prestanda. Testen utfördes med de tre reagensloterna på tre system under 6 dagar. Variationen inom och mellan loter analyserades och resultaten presenteras i *tabell 12*. Största övergripande bias var 0,24 log<sub>10</sub> IE/mL och största övergripande standardavvikelse var 0,33 log<sub>10</sub> IE/mL. Inga signifikanta skillnader påträffades i prestandan mellan loter eftersom kvantifiering av alla panelmedlemmar var inom toleransspecifikationen.

**Tabell 12.** Reproducerbarhet från lot till lot – NeuMoDx HCV Quant Assay

	Målkonc. [log <sub>10</sub> IE/mL]	Medelkonc. ÖVERGRIPANDE [log <sub>10</sub> IE/mL]	n (Giltiga resultat per lot)	ABS BIAS	SD mellan loter	SD inom lot	Övergripande 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

### Kontrolleffektivitet

SPC2 ingår i NeuMoDx HCV Quant Assay för att rapportera processtegfel eller hämmande som påverkar metodens prestanda. Effektiviteten testades under förhållanden som är representativa för kritiska processtegsfel som kan uppstå vid probbearbetning och som *eventuellt inte detekteras* av sensorerna som övervakar prestandan för NeuMoDx System. Positiva (3 log<sub>10</sub> IE/mL) och negativa prover utmanades i närvaron av en kontroll under följande förhållanden: närvaro av hämmare, ingen wash-reagens levererad och ingen wash-utblåsning. Ineffektiviteter hos processen som hade en negativ inverkan på detektion/-kvantifiering av HCV speglades av prestandan för SPC2-målet som det visas i *tabell 13*. I alla testade instanser kunde det visas att provprocesskontrollen på ett adekvat sätt fångade upp de ineffektiva processdelarna eller eventuell hämmarnärvaro eller också att den förväntade processineffektiviteten inte signifikant försämrade SPC2-detekteringen eller detekteringen/kvantifieringen av HCV. SPC2 övervakade därmed analysprestanda för NeuMoDx System framgångsrikt.

**Tabell 13.** Effektivitet hos provprocesskontrollen

Testat processtegfel	Status för processkontrollamplifiering för prov	HCV-mål Status för amplifiering	Analysresultat
Presence of Inhibitor (Närvaro av hämmare)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Unresolved (Olöst)
No Wash Delivered (Ingen sköljning tillförd)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Not Amplified (Ej amplifierad)	Unresolved (Olöst)
No Wash Blowout (Ingen Wash-utblåsning)	Amplified (Amplifierad)	Amplified (Amplifierad)	Positive (Positiv) med kvantifiering inom 0,3 log <sub>10</sub> IE/mL av kontroll

### Frekvens av giltiga resultat

En retrospektiv analys av data som erhöles under prestandautvärderingen av NeuMoDx HCV Quant Assay på NeuMoDx System användes för bestämning av procentandelen giltiga resultat. Giltiga testresultat kallas Positive (Positivt) (POS) eller Negative (Negativt) (NEG); ogiltiga testresultat kan anges antingen som Indeterminate (Obestämt) (IND) eller Unresolved (Olöst) (UNR) baserat på status för amplifiering för målet och provprocesskontrollen. Ett IND-resultat orsakas vanligtvis av instrumentfel som leder till att målet och/eller den interna processkontrollen inte amplifieras. Ett UNR-resultat tilldelas prover när både målet och den interna processkontrollen inte amplifieras i frånvaro av ett detekterat instrumentfel. Det fanns 1 962 individuella NeuMoDx HCV Quant Assay-resultat i den retrospektiva analysen, som inkluderade data erhållna från både serum- och plasmaprover på både NeuMoDx 288 och NeuMoDx 96 System. UNR-frekvensen bestämdes till 0,61 % (12/1 962) och IND-frekvensen bestämdes till 0,41 % (8/1 962), vilket uppfyller acceptanskriterierna för analysen. Därför antogs frekvensen av giltiga resultat för NeuMoDx HCV Quant Assay över kliniska matriser och NeuMoDx System vara 99,0 % med 95 % KI (98,4–99,3).

### Korskontaminering

Korskontamineringshastigheten för NeuMoDx HCV Quant Assay fastställdes genom testning av tre uppsättningar HCV-prov med alternerande höggradigt positiva och negativa prover. Totalt omfattade detta testning av 144 replikat av ett HCV-negativt humant prov och 144 replikat av ett HCV-högnivåprov vid  $8,2 \log_{10}$  IE/mL. Alla 144 replikaten av det negativa provet rapporterades som negativa, vilket visar att ingen korskontaminering förekom under probbearbetning i NeuMoDx System.

### Provmatrisekvivalens

Testning utfördes för att påvisa likvärdighet för provmatrisen mellan helblod som samlats i både provrör med etylendiamintetraättiksyra (ethylendiaminetetraacetic acid, EDTA) och sur citratdextros (acid citrate dextrose, ACD) för beredning av plasma. Ytterligare tester utfördes för att fastställa likvärdigheten mellan färska och frysta plasmaprover (insamlade i de två provrörstyperna) liksom färska och frusna serumprover. Färska prover förvarades vid 4 °C tills de spetsades med fyra nivåer HCV och ekvivalenstestades. Därefter frystes proverna i minst 24 timmar vid -20 °C. Efter den här perioden av fryst förvaring så tinades proverna och testades om. Resultaten från färska kontra frysta serum- och plasmaprover liksom EDTA- kontra ACD-plasmaprover jämfördes för ekvivalens med regressionsanalys. Dessa data visade utmärkt ekvivalens mellan EDTA- och ACD-plasmaprover, färska och frysta plasmaprover och färska och frysta serumprover.

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

### Jämförelse av klinisk metod

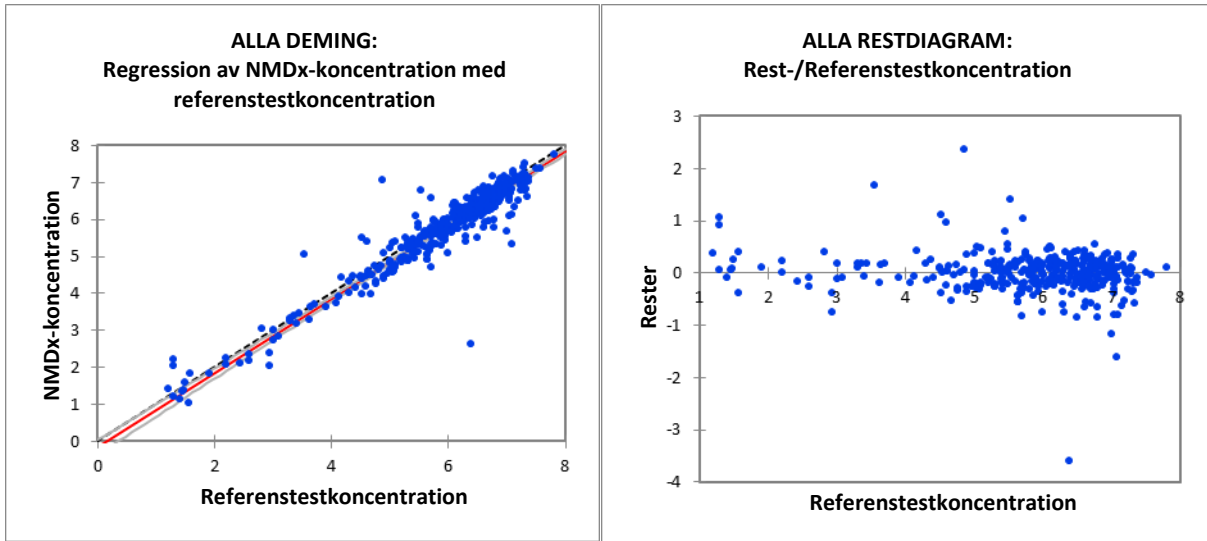
Kvalitativ och kvantitativ prestanda hos NeuMoDx HCV Quant Assay utvärderades mot FDA-/CE-godkända jämförelseanalyser genom att testa ospädda kliniska prov från HCV-infekterade patienter. Test utfördes internt hos NeuMoDx med en enkelblindad studie på anonymiserade, kvarvarande kliniska prover som erhöles från sex externa referenslaboratorier. Totalt 323 plasmaprover och 336 serumprover bearbetades med NeuMoDx HCV Quant Assay på ett (enkel)blindat sätt överflera NeuMoDx Molecular System. Av dessa prover bearbetades 35 plasmaprover och 13 serumprover på BÅDE NeuMoDx 288 och 96 Molecular System. Några av proverna som gav ett INVALID (ogiltigt) resultat kunde inte bearbetas igen på grund av bristande tillgänglighet av tillräckligt med prov.

Bearbetnings- och systemfelen som erhöles över NeuMoDx Molecular System var minimala och uppfyllde kriterierna. Totalt erhöles 4 obestämda (IND) resultat initialt för plasmaprover och 4 IND-resultat erhöles för serumprover, vilket resulterade i en övergripande initial IND-frekvens på 1 % (95 % KI 0,5 %–3 %) för plasma, och 1 % (95 % KI 0,4 %–3 %) för serum. Totalt erhöles 3 UNRESOLVED (olösta) (UNR)-resultat initialt för plasmaprover och 5 UNR erhöles för serumprover vilket gav en övergripande frekvens på 1 % (95 % KI 0,2 %–3 %) för plasma och 1 % (95 % KI 0,6 %–4 %) för serum.

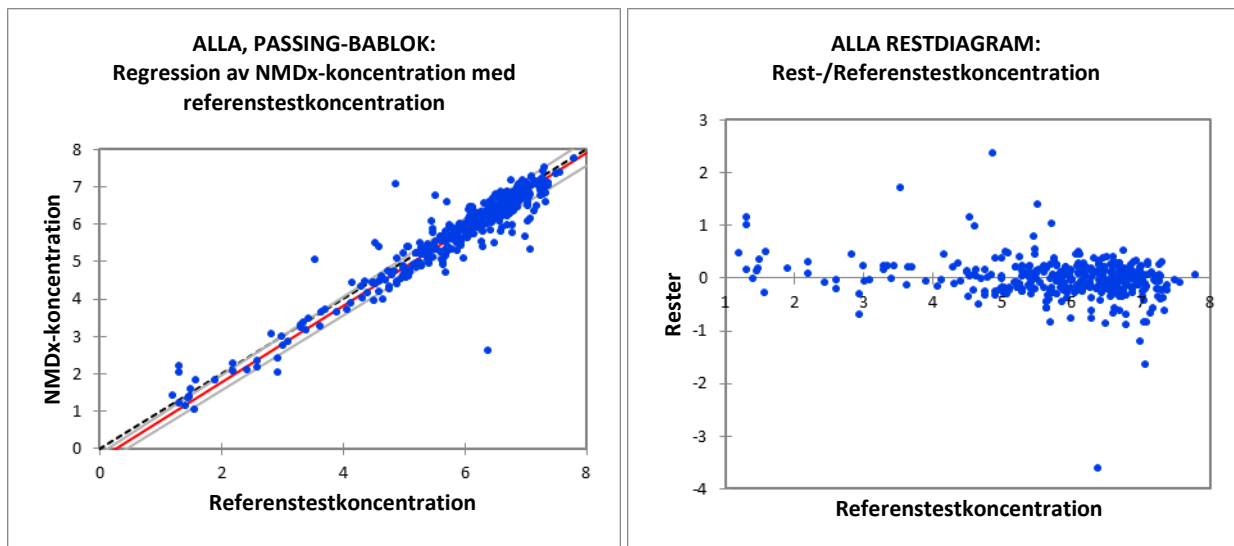
För prover som gav ogiltiga resultat (IND/UNR) eller ett "kvantifieringsfel" upprepades testen när tillräcklig volym kvarstod, och ett utspädningssteg utfördes på vissa prover för att ge giltiga resultat. Av de 13 proverna som hade tillräcklig volym för att upprepas (utspädd ELLER ren) erhöles ett giltigt resultat.

Av de 321 giltiga resultaten som erhöles för plasmaprover och 334 giltiga resultat som erhöles för serumprover rapporterades 206 plasmaprover och 154 serumprover som POSITIVA av NeuMoDx HCV Quant Assay med motsvarande koncentrationvärden som tilldelats genom referenstesterna. Deming-regressions- och Passing-Bablok-regressionsanalyser användes för att korrelera mellan koncentrationvärdena för NeuMoDx HCV Quant Assay och de värden som rapporterats av referenstesterna för både plasma- och serumprover.

Ekvivalensdiagram genererades för att representera korrelationen mellan NeuMoDx HCV Quant Assay-koncentrationerna och referenstestkoncentrationvärdena för alla prover som testades med Deming-regressionsanpassningen och Passing-Bablok-regressionsanpassningen, såsom visas i *bild 7* och *bild 8*. Kvaliteten på Deming-regressionsanpassningen illustreras av en lutningskoefficient på 1,00 med 95 % KI (0,97, 1,03) och en skärningspunkt på -0,16 med 95 % KI (-0,37, 0,06), vilket visar att de koncentrationresultat som erhöles mellan NeuMoDx HCV Quant Assay och referenstesten är mycket korrelerade och med en godtagbar bias. Kvaliteten på den linjära Passing-Bablok-regressionsanpassningen illustreras av en lutningskoefficient på 1,02 med 95 % KI (0,99, 1,05) och en skärningspunkt på -0,28 med 95 % KI (-0,43, -0,14), vilket visar att de koncentrationresultat som erhöles mellan NeuMoDx HCV Quant Assay och referenstesten är mycket korrelerade och med en godtagbar bias, vilket framgår av *tabell 14*.



**Bild 7:** Diagram över ekvivalens (till vänster) och rester (till höger) – Kumulativ analys (över båda NeuMoDx Systems) av NeuMoDx HCV Quant Assay-resultat jämfört med referenstestresultat för ALLA prover baserat på Deming-regressionsanalys.



**Bild 8:** Diagram över ekvivalens (till vänster) och rester (till höger) – Kumulativ analys (över båda NeuMoDx Systems) av NeuMoDx HCV Quant Assay-resultat jämfört med referenstestresultat för ALLA prover baserat på Passing-Bablok-regressionsanalys.

**Tabell 14.** Sammanfattning av linjär regressionsanalys enligt Deming och Passing-Bablok

	Deming-analys		Passing-Bablok-analys	
	Skärningspunkt	Lutningskoefficient	Skärningspunkt	Lutningskoefficient
<b>KUMULATIV (Alla plasma + serum)</b>	- 0,16 95 % KI (-0,37, 0,06)	1,00 95 % KI (0,97, 1,03)	- 0,28 95 % KI (-0,43, -0,14)	1,02 95 % KI (0,99, 1,05)

Av de 655 giltiga resultaten som erhållits för plasma- och serumprover med NeuMoDx HCV Quant Assay, rapporterades 361 som positiva av referenstesterna för HCV och 294 rapporterades som negativa. Sensitiviteten och specificiteten för NeuMoDx HCV Quant Assay beräknades med hjälp av data från alla giltiga kliniska prover i jämförelse med referenstestet, vilket har sammanställts och presenteras i *tabell 15*. Av de 361 testade positiva proverna rapporterades 360 även som positiva av NeuMoDx HCV Quant Assay vilket visar en sensitivitet på 99,7 % med 95 % KI (98,2 %–100 %). Av de 294 testade negativa proverna rapporterades 271 även som negativa av NeuMoDx HCV Quant Assay, vilket visar en specificitet på 92,2 % med 95 % KI (88,3 %–94,9 %).

Ekvivalens för NeuMoDx HCV Quant Assay demonstrerades genom mycket korrelerade resultat för analysprestanda hos NeuMoDx 288 Molecular System, NeuMoDx 96 Molecular System och referenstest för både plasma- och serumprover.

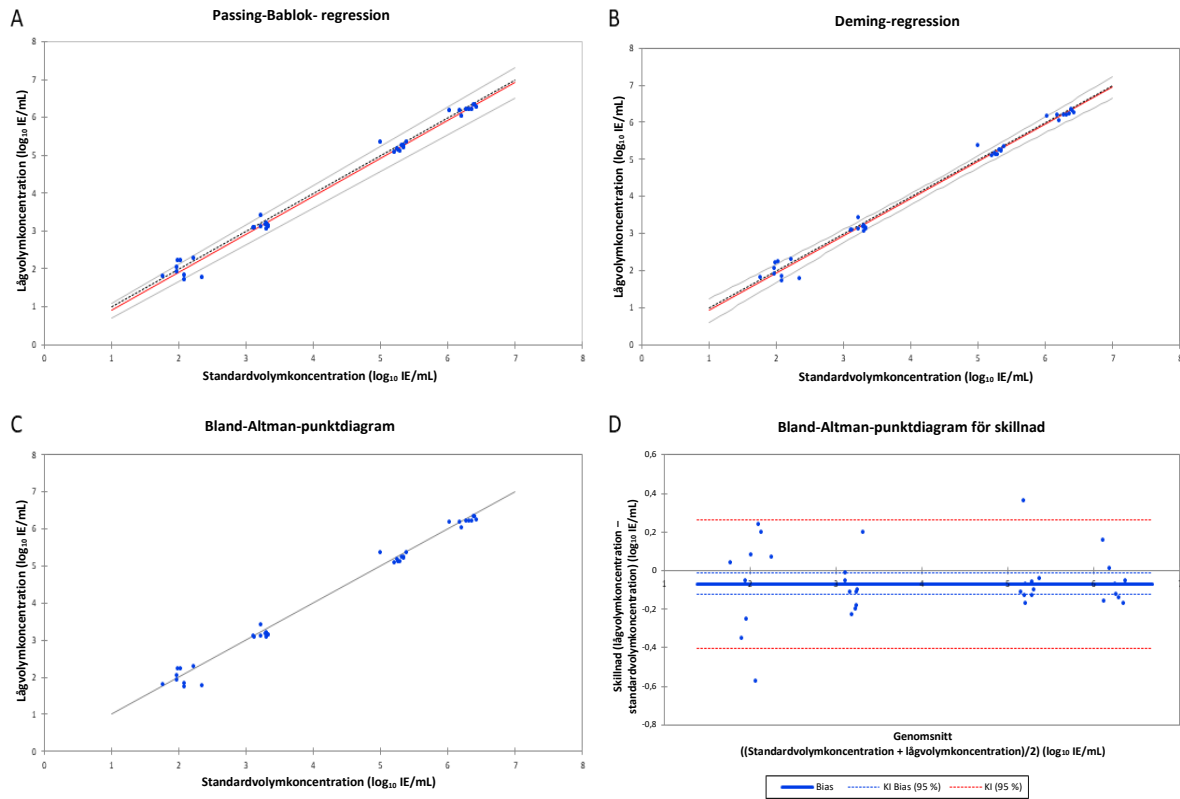
**Tabell 15.** Jämförelseresultat för kvalitativ metod för NeuMoDx HCV Quant Assay jämfört med referenstester för plasma och serum

	Referensanalys (POS)	Referensanalys (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 % KI (98,2 %–100 %) *SPECIFICITET = 92,2 % 95 % KI (88,3 %–94,9 %)			

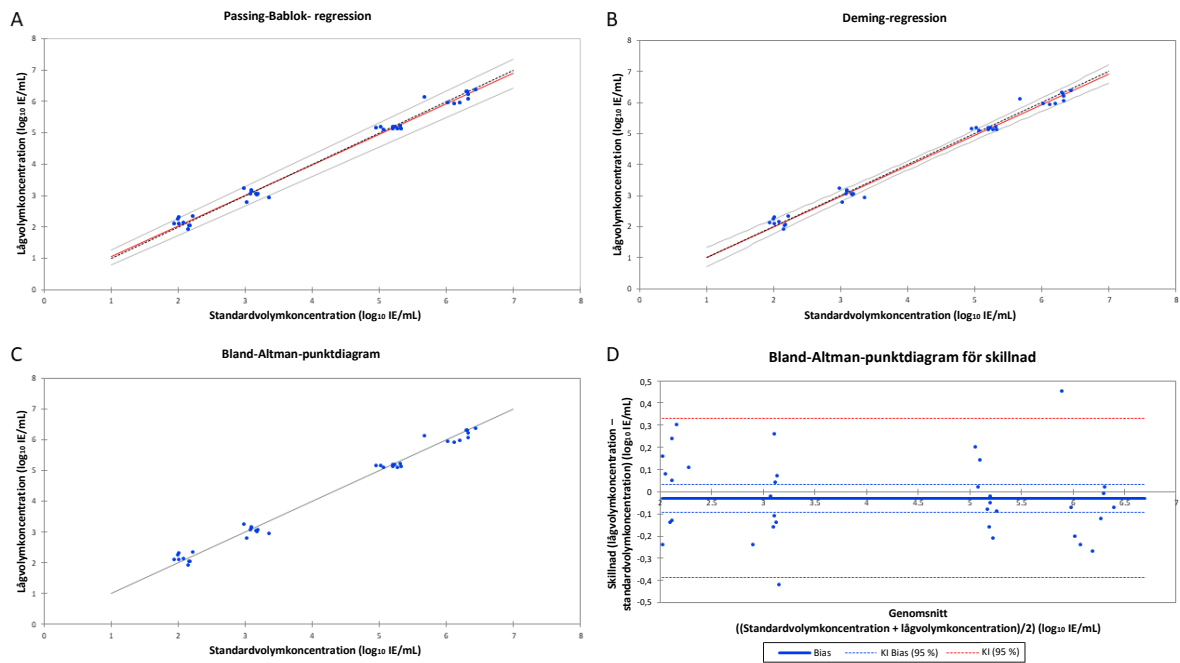
**\*OBS:** LLoQ för NeuMoDx HCV Quant Assay är 0,9 log<sub>10</sub> IE/mL, vilket är lägre än jämförelseanalysen som användes som referenstest. En efterföljande analys utfördes exklusive 9 prover där HCV detekterades av NeuMoDx, men rapporterades som negativt av jämförelseanalysen. Med utslutning av dessa 9 prover beräknades specificiteten om för NeuMoDx HCV Quant Assay till att vara 95,1 % med ett 95 % KI (91,7–97,2).

### Testning av konstruerade prover – 200 µL provvolymarbetsflöde

Kvantitativ korrelation mellan arbetsflöden med 200 µL och 550 µL provvolym bekräftades med hjälp av en panel bestående av individuella, HCV-negativa plasma- och serumprover som spetsats med fyra kända nivåer av Accuplex HCV-kontrollmaterial, som kan spåras till WHO:s femte internationella standard för HCV RNA för nukleinsyretester. Dessa individuella plasma- och serumprover bearbetades med 550 µL och 200 µL provvolym vilket sammanlagt gav 324 utförda tester. Ekvivalensjämförelser mellan den koncentration som rapporterades av NeuMoDx Software för arbetsflödena med 200 µL och 550 µL provvolym med den konstruerade panelen utfördes på individuell provbasis. Deming och Passing-Bablok regressionsanalysen hade en lutning på 1,003 respektive 1,000 med intercept på -0,082 respektive -0,085 i plasma respektive 0,974 och 0,984 med intercept på 0,086 och 0,037 i serum, vilket visar utmärkt överensstämmelse mellan HCV-kvantiteterna hos de två bearbetningsvolymarbetsflödena. En Bland-Altman-jämförelse visade minimal bias mellan de två arbetsflödena. Dessutom hade enkla linjära regressionsanalyser med förväntad koncentration och den rapporterade koncentrationen för arbetsflödet med 200 µL en lutning på 1,0432 och en korrelationskoefficient på 0,994 (plasma) och 1,0007 och 0,993 (serum), vilket ytterligare gav utmärkt prestanda med användning av arbetsflödet med 200 µL provvolym för NeuMoDx HCV Quant Assay. Resultaten från dessa studier sammanfattas nedan i *bild 9* och *bild 10*.



**Bild 9:** Ekvivalenspunktdiagram av 200 µL provvolymarbetsflöde rapporterade koncentrationer till 550 µL rapporterade koncentrationer för provvolymarbetsflöde. A) Passing-Bablok-regression. B) Deming-regression. C) Bland-Altman-punktdiagram D) Bland-Altman-skillnadsdiagram – Plasmaprover



**Bild 10:** Ekvivalenspunktdiagram av 200 µL provvolymarbetsflöde rapporterade koncentrationer till 550 µL rapporterade koncentrationer för provvolymarbetsflöde. A) Passing-Bablok-regression. B) Deming-regression. C) Bland-Altman-punktdiagram D) Bland-Altman-skillnadsdiagram – Serumprover

### REFERENSER

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](http://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, 5<sup>th</sup> 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

### VARUMÄRKEN

NeuMoDx™ och NeuDry™ är varumärken som tillhör NeuMoDx Molecular, Inc.  
 AcroMatrix™ är ett varumärke som tillhör Thermo Fisher Scientific.  
 Armored RNA® är ett registrerat varumärke som tillhör Asuragen, Inc.  
 BD Vacutainer® är ett registrerat varumärke som tillhör Becton, Dickinson and Company  
 BD, PPT™ och SST™ är varumärken som tillhör Becton, Dickinson and Company  
 TaqMan® är ett registrerat varumärke som tillhör Roche Molecular Systems, Inc.

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

### SYMBOLNYCKEL

<b>R only</b>	Enbart med recept	↙	Temperaturbegränsning
↶	Tillverkare	↔	Får ej återanvändas
—	<i>In vitro</i> -diagnostisk medicinteknisk produkt	☰	Innehållet räcker till <n> tester
▲	Auktoriserad representant i europeiska gemenskapen	↓	Läs bruksanvisningen
↑	Katalognummer	⚠	lakttag försiktighet
→	Batchkod	⚠	Biologiska risker
↔	Utgångsdatum	☒	CE-märkning



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

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



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



2797

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

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