

REF 300500 NeuMoDx™ HIV-1 Quant Test Strip

R only

VORSICHT: Nur für den US-Export

IVD Nur zur Verwendung mit dem NeuMoDx 288 Molecular System und dem NeuMoDx 96 Molecular System in der *In-vitro*-Diagnostik vorgesehen.

 Für Aktualisierungen dieser Beilage siehe: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Detaillierte Anleitungen sind dem Benutzerhandbuch für das NeuMoDx 288 Molecular System, Teile-Nr. 40600108, zu entnehmen.

Detaillierte Anleitungen sind dem Benutzerhandbuch für das NeuMoDx 96 Molecular System, Teile-Nr. 40600317, zu entnehmen.

VERWENDUNGSZWECK

Der NeuMoDx™ HIV-1 Quant Assay, durchgeführt auf dem NeuMoDx 96 Molecular System und dem NeuMoDx 288 Molecular System (NeuMoDx System(s)), ist ein diagnostischer, automatisierter, quantitativer und qualitativer *In-vitro*-Nukleinsäureamplifikationstest zur Quantifizierung und zum Nachweis der RNA des Humanen Immundefizienzvirus Typ 1 (HIV-1) in Humanplasma.

Der NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ist für die Verwendung im Zusammenhang mit dem klinischen Erscheinungsbild und anderen Labormarkern für die Krankheitsprognose vorgesehen. Er dient zur Unterstützung des klinischen Managements HIV-1-infizierter Patienten und zur Überwachung der Wirksamkeit einer antiretroviralen Behandlung, welche anhand von Änderungen der HIV-1-RNA-Konzentration im Plasma beurteilt werden kann. Der Assay kann HIV-1-RNA im Bereich von 34,2 bis $5,0 \times 10^7$ IU/ml ($1,5-7,7 \log_{10}$ IU/ml) quantifizieren. Der NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ist für die Quantifizierung von RNA der HIV-1-Gruppen M (Subtypen A, B, C, D, F, G, H, K, CRF01_AE, CRF02_AG) N, O und P validiert.

Der NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ist als Hilfsmittel bei der Diagnose von HIV-1-Infektionen, einschließlich akuter oder primärer Infektionen, vorgesehen. Das Vorhandensein von HIV-1-RNA im Plasma von Patienten ohne Antikörper gegen HIV-1 deutet auf eine akute oder primäre HIV-1-Infektion hin. Der NeuMoDx HIV-1 Quant Assay kann als ergänzender Test für Proben verwendet werden, für die mit zugelassenen HIV-Immunoassays wiederholt reaktive Ergebnisse erhalten wurden, um das Vorliegen einer HIV-1-Infektion zu bestätigen.

NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ist nicht als Spender-Screeningstest auf das Vorhandensein von HIV-1 in Blut oder Blutprodukten vorgesehen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Zur Plasmagewinnung kann humanes Vollblut verwendet werden, das in sterilen Blutentnahmeröhrchen mit entweder Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) oder Acid-Citrate-Dextrose (ACD) als Antikoagulans oder in Plasmapräparationsröhrchen (Plasma Preparation Tubes, PPT) entnommen wurde. Zur Vorbereitung des Tests wird das Plasma in einem sekundären Probenröhrchen oder das fraktionierte Blut in einem mit dem NeuMoDx System kompatiblen primären Probenröhrchen mithilfe eines speziellen Probenröhrchenträgers in das NeuMoDx System geladen, um die Verarbeitung zu beginnen. Für jede Probe wird ein 600- μ l-Aliquot der Plasmaprobe mit NeuMoDx Lysis Buffer 3 vermischt und das NeuMoDx System führt automatisch alle Schritte durch, die erforderlich sind, um die Zielnukleinsäure zu extrahieren, die isolierte RNA für die Echtzeit-Reverse-Transkriptase-Polymerasekettenreaktion (RT-PCR) vorzubereiten und die Amplifikationsprodukte (Abschnitte des HIV-1-Genoms in konservierten Regionen), falls vorhanden, zu amplifizieren und nachzuweisen. Der NeuMoDx HIV-1 Quant Assay umfasst eine RNA-Probenprozesskontrolle (Sample Process Control, SPC2), mit der überwacht wird, ob potenziell inhibitorische Substanzen vorhanden sind oder während des Extraktions- und Amplifikationsprozesses Fehler am NeuMoDx System oder bei den Reagenzien auftreten.

Das Humane Immundefizienzvirus (HIV) ist der Erreger des erworbenen Immundefizienzsyndroms (Acquired Immunodeficiency Syndrome, AIDS) und kann in zwei Haupttypen unterteilt werden; der häufigere und pathogenere ist HIV Typ 1 (HIV-1). HIV-1 kann durch Sexualkontakt, bei Exposition gegenüber infiziertem Blut oder Blutprodukten oder von einer infizierten Mutter auf den Fetus übertragen werden.¹⁻⁴ Innerhalb von 3 bis 5 Wochen nach Erstinfektion entwickelt sich eine akute HIV-1-Infektion. Sie löst grippeähnliche Symptome aus und geht mit einer ausgeprägten Virämie einher. Eine HIV-1-spezifische Immunantwort kann 4 bis 6 Wochen nach Einsetzen der Symptome nachgewiesen werden.⁵⁻⁹

Mit der Serokonversion treten die meisten Patienten in eine asymptomatische Phase ein, die über Jahre andauern kann. Quantitative Messungen der Konzentration von HIV-1-RNA im peripheren Blut haben maßgeblich zum Verständnis der Pathogenese von HIV-1-Infektionen beigetragen und sich als wesentlicher Parameter bei der Prognose und dem Management HIV-1-infizierter Patienten erwiesen.¹⁰⁻¹¹ Entscheidungen zur Initiierung oder Änderung einer antiretroviralen Therapie werden basierend auf der Konzentration von HIV-1-RNA im Plasma (Viruslast), der CD4+ T-Zell-Zahl und dem klinischen Zustand des Patienten getroffen.¹²⁻¹⁷ Ziel der antiretroviralen Therapie ist es, die Replikation von HIV-1 so weit zu unterdrücken, dass die Viruskonzentration mit den aktuell verfügbaren Viruslast-Tests nicht mehr nachweisbar ist. Die Viruskonzentration im peripheren Blut kann durch Messung des HIV-p24-Antigens im Serum, quantitative Kultur von HIV aus Plasma oder direkte Messung der viralen RNA im Plasma unter Zuhilfenahme von Technologien zur Nukleinsäureamplifikation oder Signalamplifikation quantifiziert werden.⁹⁻¹¹ Der Einsatz molekularer Techniken wie der Reverse-Transkriptase-vermittelten Polymerasekettenreaktion zur Amplifikation von Nukleinsäuren ist weit verbreitet.¹¹ Der NeuMoDx HIV-1 Quant Assay nutzt die RT-PCR-Technologie mit homogener Echtzeit-Fluoreszenzdetektion. Im Assay kommt eine duale Zielamplifikation und -detektion zum Einsatz, da er auf zwei unabhängige Regionen des HIV-1-Genoms abzielt. Zusätzlich erlaubt das entkoppelte Assaydesign den Nachweis von verschiedenen Subtypen der Gruppe M (A, B, C, D, F, G, H, K), einschließlich zirkulierender rekombinanter Formen, und von Isolaten der Gruppen N, O und P. Die Assayergebnisse werden in internationalen Einheiten pro ml (IU/ml) ausgegeben.

PRINZIPIEN DES VERFAHRENS

Der NeuMoDx HIV-1 Quant Assay kombiniert die automatisierte RNA-Extraktion mit der Amplifikation/dem Nachweis mittels Echtzeit-RT-PCR. Vollblutproben werden für die Gewinnung von Plasma in EDTA-, ACD- oder PPT-Röhrchen entnommen. Die primäre (fraktionierte) Blutprobe oder ein Plasmaaliquot in einem kompatiblen sekundären Probenröhrchen werden mit Barcode versehen und in das NeuMoDx System geladen. Das NeuMoDx System aspiriert automatisch ein Aliquot des Plasmas und mischt es mit NeuMoDx Lysis Buffer 3 und den Agenzien in der NeuMoDx Extraction Plate, um die Verarbeitung zu beginnen. Das NeuMoDx System automatisiert und integriert die RNA-Extraktion und -Konzentration, die Reagenzvorbereitung und die Nukleinsäureamplifikation/den Nachweis der Zielsequenzen mittels Echtzeit-RT-PCR. Die enthaltene Probenprozesskontrolle (Sample Process Control, SPC2) unterstützt die Überwachung auf das Vorhandensein von inhibitorischen Stoffen und System-, Prozess- oder Reagenzfehlern. Es ist kein Bedieneingriff erforderlich, sobald die Probe in das NeuMoDx System geladen ist. Das NeuMoDx System verwendet eine Kombination aus Wärme, lytischem Enzym und Extraktionsreagenzien, um automatisch Lyse, RNA-Extraktion und die Entfernung von Inhibitoren durchzuführen. Die freigesetzten Nukleinsäuren werden durch paramagnetische Partikel aufgenommen. Die Partikel werden zusammen mit den gebundenen Nukleinsäuren in die NeuMoDx Cartridge geladen, wo die ungebundenen Elemente mit NeuMoDx Wash Reagent ausgewaschen werden. Die gebundene RNA wird dann mit NeuMoDx Release Reagent eluiert. Das NeuMoDx System verwendet die eluierte RNA zur Rehydrierung proprietärer NeuDry™ Amplifikationsreagenzien, die alle für die Amplifikation der HIV-1- und SPC2-Zielsequenzen erforderlichen Elemente enthalten. Auf diese Weise können Amplifikation und Nachweis von Ziel- und Kontroll-RNA-Sequenzen gleichzeitig erfolgen. Nach der Rekonstitution der RT-PCR-Trockenreagenzien dispensiert das NeuMoDx System die vorbereitete RT-PCR-fertige Mischung in eine PCR-Kammer (pro Probe) der NeuMoDx Cartridge. Reverse Transkription, Amplifikation und Nachweis der Kontroll- und Zielsequenzen (falls vorhanden) erfolgen in der PCR-Kammer. Die NeuMoDx Cartridge ist dafür konzipiert, das Amplifikat nach der RT-PCR zu enthalten, wodurch das Kontaminationsrisiko nach Amplifikation nahezu eliminiert wird.

Die amplifizierten Ziele werden in Echtzeit anhand von Hydrolyse-Sonden-Chemie (allgemein als TaqMan® Chemie bezeichnet) nachgewiesen, wobei fluorogene Oligonukleotidsondenmoleküle angewendet werden, die spezifisch für die Amplifikate ihrer jeweiligen Ziele sind. TaqMan Sonden bestehen aus einem Fluorophor, das kovalent am 5'-Ende der Oligonukleotidsonde gebunden ist, und einem Quencher am 3'-Ende. Bei intakter Sonde führt die Nähe des Fluorophors zum Quencher dazu, dass das Quencher-Molekül die Fluoreszenz des Fluorophors durch Förster-Resonanzenergietransfer (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) unterdrückt.

TaqMan Sonden sind so entwickelt, dass sie sich an einen DNA-Bereich, der durch einen spezifischen Satz von Primern amplifiziert wurde, anlagern. Während die Taq-DNA-Polymerase den Primer verlängert und den neuen Strang synthetisiert, sorgt die 5'-3'-Exonuklease-Aktivität der Taq-DNA-Polymerase für den Abbau der Sonde, die sich an das Template angelagert hat. Der Abbau der Sonde setzt das Fluorophor frei und der Abstand zum Quencher wird größer. Dadurch wird der Löscheffekt durch FRET aufgehoben und das Fluorophor kann detektiert werden. Die Intensität des resultierenden Fluoreszenzsignals, das im quantitativen RT-PCR-Thermocycler des NeuMoDx Systems detektiert wird, ist direkt proportional zum freigesetzten Fluorophor und kann zur Menge der vorhandenen Zielsequenz in Beziehung gesetzt werden.

Eine TaqMan-Sonde, die mit einem Fluorophor (Anregung: 490 nm und Emission: 521 nm) am 5'-Ende und einem dunklen Quencher am 3'-Ende markiert ist, wird zum Nachweis von HIV-1-RNA verwendet. Für den Nachweis der SPC2 wird die TaqMan-Sonde mit einem alternativen Fluoreszenzfarbstoff (Anregung: 535 nm und Emission: 556 nm) am 5'-Ende und einem dunklen Quencher am 3'-Ende markiert. Die NeuMoDx System Software überwacht das von den TaqMan Sonden am Ende jedes Amplifikationszyklus abgegebene Fluoreszenzsignal. Nach Abschluss der Amplifikation analysiert die NeuMoDx System Software die Daten und gibt ein Ergebnis aus (POSITIVE (Positiv)/NEGATIVE (Negativ)/INDETERMINATE (Unbestimmt)/UNRESOLVED (Offen)). Wenn ein Ergebnis positiv ist und die berechnete Konzentration innerhalb der Quantifizierungsgrenzen liegt, gibt die NeuMoDx System Software auch einen quantitativen Wert für die Probe aus.

REAGENZIEN/VERBRAUCHSMATERIALIEN

Bereitgestelltes Material

REF	Inhalt	Tests pro Einheit	Tests pro Packung
300500	NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip <i>RT-PCR-Trockenreagenzien, die HIV-1- und SPC2-spezifische TaqMan Sonden und Primer enthalten</i>	16	96

Zusätzlich benötigte Materialien (separat erhältlich)

REF	Inhalt
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Getrocknete paramagnetische Partikel und Probenprozesskontrollen sowie getrocknetes lytisches Enzym</i>
800304	NeuMoDx HIV-1 Calibrators <i>Sets aus HIV-1-Kalibratoren mit hoher und niedriger Konzentration für den Einmalgebrauch, zur Validierung der Standardkurve</i>
900301	NeuMoDx HIV-1 External Controls <i>Sets aus HIV-1-Positiv- und Negativkontrollen für den Einmalgebrauch</i>
400600	NeuMoDx Lysis Buffer 3
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton CO-RE/CO-RE II Spitzen (300 µL) mit Filtern
235905	Hamilton CO-RE/CO-RE II Spitzen (1000 µL) mit Filtern

Benötigte Instrumente

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



WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Der NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip ist ausschließlich zur Verwendung in der *In-vitro*-Diagnostik mit den NeuMoDx Molecular Systems bestimmt.
- Die Reagenzien oder Verbrauchsmaterialien nach Ablauf des angegebenen Ablaufdatums nicht mehr verwenden.
- Reagenzien nicht verwenden, wenn das Sicherheitssiegel aufgebrochen oder die Verpackung bei Ankunft beschädigt ist.
- Verbrauchsmaterialien oder Reagenzien nicht verwenden, wenn der Schutzbeutel bei der Ankunft geöffnet oder beschädigt ist.
- Bevor Testergebnisse für klinische Proben generiert werden können, muss eine gültige Testkalibrierung (generiert durch Verarbeitung von Kalibratoren mit hoher und niedriger Konzentration aus den NeuMoDx HIV-1 Calibrators [REF 800304]) vorliegen.
- Externe Kontrollen (aus den NeuMoDx HIV-1 External Controls [REF 900301]) müssen alle 24 Stunden verarbeitet werden, solange Tests mit dem NeuMoDx HIV-1 Quant Assay durchgeführt werden.
- Das Mindestprobenvolumen von Sekundäraliquoten ist abhängig von der Röhrchengröße bzw. dem Probenröhrchenträger wie nachstehend definiert. Ein Volumen unter dem angegebenen Mindestvolumen kann zu dem Fehler „Quantity Not Sufficient“ (Menge nicht ausreichend) führen.
- Die Verwendung von Proben, die bei nicht geeigneten Temperaturen oder über die angegebenen Lagerzeiten hinaus aufbewahrt wurden, kann zu ungültigen oder fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Eine Kontamination von Reagenzien und Verbrauchsmaterialien mit Mikroben und Ribonuklease (RNase) ist zu vermeiden. Bei Verwendung von Sekundärröhrchen wird die Verwendung steriler, RNase-freier Einwegtransferpipetten empfohlen. Für jede Probe eine neue Pipette verwenden.
- Zur Vermeidung von Kontamination NeuMoDx Cartridge nach der Amplifikation weder handhaben noch beschädigen. NeuMoDx Cartridges unter keinen Umständen aus dem Behälter für biogefährlichen Abfall (NeuMoDx 288 Molecular System) oder dem Eimer für biogefährlichen Abfall (NeuMoDx 96 Molecular System) entnehmen. Die NeuMoDx Cartridge ist dafür konzipiert, Kontamination zu verhindern.
- Wenn das Labor auch PCR-Tests mit offenen Röhrchen ausführt, muss unbedingt gewährleistet werden, dass der NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, die für die Tests zusätzlich benötigten Verbrauchsmaterialien und Reagenzien, persönliche Schutzausrüstung wie Handschuhe und Laborkittel sowie das NeuMoDx System nicht kontaminiert werden.
- Bei der Handhabung von NeuMoDx Reagenzien und Verbrauchsmaterialien sollten saubere, puderfreie Nitrilhandschuhe getragen werden. Es ist darauf zu achten, dass die Oberseite der NeuMoDx Cartridge, die Oberfläche der Versiegelungsfolie eines NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip oder einer NeuMoDx Extraction Plate oder die Oberseite des Behälters mit NeuMoDx Lysis Buffer 3 nicht berührt werden; die Verbrauchsmaterialien und Reagenzien dürfen ausschließlich an den Seitenflächen angefasst werden.
- Für jedes Reagenz werden, sofern erforderlich, Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) bereitgestellt unter www.qiagen.com/neumodx-ifu
- Nach der Durchführung des Tests Hände gründlich waschen.
- Nicht mit dem Mund pipettieren. In Bereichen, in denen Proben oder Reagenzien verarbeitet werden, nicht rauchen, trinken oder essen.
- Proben sind immer wie infektiöses Material und entsprechend den sicheren Laborverfahren (beschrieben in *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁸ und im CLSI-Dokument M29-A4) zu behandeln.¹⁹
- Nicht verwendete Reagenzien und Abfall entsprechend den nationalen, bundesstaatlichen, regionalen, kommunalen und lokalen Vorschriften entsorgen.



LAGERUNG, HANDHABUNG UND STABILITÄT VON PRODUKTEN

- Die NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strips sind in der Primärverpackung bei Lagerung bei 15–23 °C bis zum angegebenen Ablaufdatum stabil.
- Der Versand der NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strips erfolgt in einem isolierten Behälter mit Gelkühlpacks.
- Die Verbrauchsmaterialien und Reagenzien nach Ablauf des angegebenen Ablaufdatums nicht mehr verwenden.
- Testprodukte nicht verwenden, wenn die Primär- oder Sekundärverpackung sichtbar beschädigt ist.
- Testprodukte, die bereits auf ein anderes NeuMoDx System geladen wurden, nicht erneut laden.
- Ein einmal in das NeuMoDx System geladener NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip kann dort bis zu sieben (7) Tage belassen werden. Die verbleibende Haltbarkeitsdauer der im Gerät befindlichen Teststreifen wird durch die Software verfolgt und dem Benutzer in Echtzeit mitgeteilt. Das System fordert zur Entfernung von Teststreifen auf, die schon über den zulässigen Zeitraum hinaus in Verwendung sind.
- Obwohl sie nicht infektiös sind, sind die Kalibratoren und externen Kontrollen von NeuMoDx nach Verwendung im Labor als biogefährlicher Abfall zu entsorgen, um das Risiko einer Kontamination durch die enthaltene Zielnukleinsäure zu verringern.

PROBENNAHME, TRANSPORT UND LAGERUNG



1. Alle Proben, Kalibratoren und Kontrollen so handhaben, als seien sie in der Lage, Infektionserreger zu übertragen.
2. Vollblut oder andere Proben, die in Primärröhrchen aufbewahrt werden, nicht einfrieren.
3. Zur Gewinnung der Plasmaproben sollte Vollblut in sterilen Röhrchen entnommen werden, die EDTA oder ACD als Antikoagulans enthalten. Zur Vorbereitung und Lagerung die Anweisungen des Herstellers der Probenentnahmeröhrchen befolgen.
4. Die Proben können entweder im primären Entnahmeröhrchen oder in sekundären Probenröhrchen getestet werden. Empfehlungen für Tests im Primärröhrchen: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD Nr. 368589) oder BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD Nr. 362799).
5. Die vorbereiteten Plasmaproben können bis zu 8 Stunden vor Beginn der Verarbeitung im NeuMoDx System aufbewahrt werden. Falls zusätzliche Lagerungszeit benötigt wird, empfiehlt es sich, die Proben in Form sekundärer Plasmaaliquote entweder gekühlt zu lagern oder einzufrieren.
6. Die vorbereiteten Plasmaproben sollten vor den Tests bei 2 bis 8 °C nicht länger als 7 Tage und bei Raumtemperatur maximal 8 Stunden lang gelagert werden.
7. Die vorbereiteten Proben können bei ≤ -20 °C vor der Weiterverarbeitung bis zu 8 Wochen lang aufbewahrt werden.
 - a. Wenn die Proben gefroren sind, diese bei Raumtemperatur (15–30 °C) vollständig auftauen lassen und dann vortexen, um eine gleichmäßige Verteilung in der Probe zu erhalten.
 - b. Nach dem Auftauen gefrorener Proben sollten diese innerhalb von 8 Stunden getestet werden.
 - c. Plasmaproben sollten vor der Verwendung nicht mehr als 4 Einfrier-/Auftauzyklen ausgesetzt werden.
8. Wenn die Proben verschickt werden, sind sie in Übereinstimmung mit den geltenden Vorschriften auf Landes- und/oder internationaler Ebene zu verpacken und beschriften.
9. Proben eindeutig beschriften und darauf hinweisen, dass die Proben für HIV-1-Tests bestimmt sind.
10. Mit dem Abschnitt *Testvorbereitung* fortfahren.

Der vollständige Prozess zur Implementierung des NeuMoDx HIV-1 Assay ist nachstehend in *Abbildung 1* zusammengefasst.

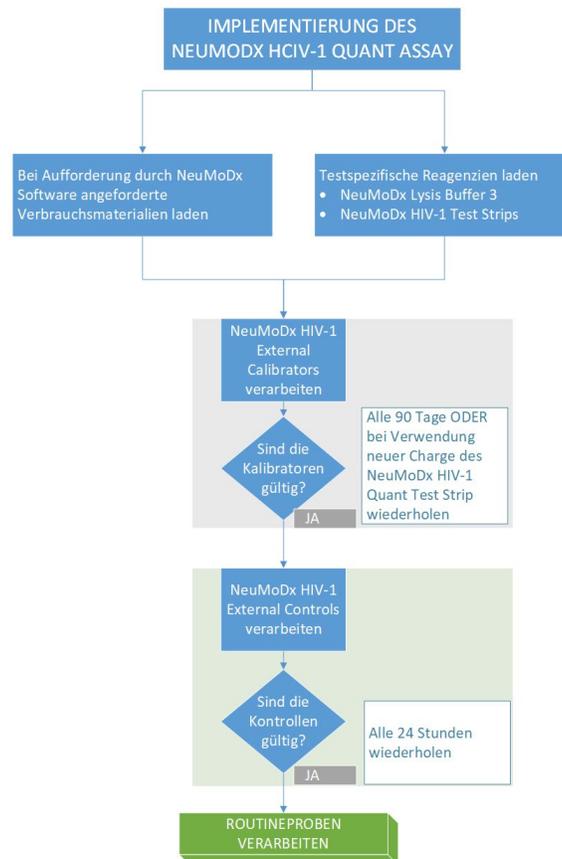


Abbildung 1: Workflow zur Implementierung des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

GEBRAUCHSANWEISUNG

Testvorbereitung

1. Proben-Barcodeetikett auf einem mit dem NeuMoDx System kompatiblen Probenröhrchen anbringen. Das primäre Blutentnahmeröhrchen kann beschriftet und direkt in einen 24- oder 32-Röhrchen-Probenröhrchenträger eingesetzt werden, gefolgt von einer Zentrifugation gemäß den Anweisungen des Herstellers. Alternativ kann ein Aliquot des Plasmas für die Verarbeitung im NeuMoDx System in ein Sekundärröhrchen überführt werden.
2. Wenn die Probe im primären Entnahmeröhrchen getestet wird, das mit Barcode versehene Röhrchen in den Probenröhrchenträger stellen und vor dem Einsetzen in das NeuMoDx System sicherstellen, dass der Deckel entfernt wurde.
3. Bei Verwendung eines Sekundärröhrchens ein Aliquot des Plasmas in ein mit dem NeuMoDx System kompatibles, mit Barcode versehenes Probenröhrchen überführen. Dabei die unten angegebenen Volumina beachten:
 - Probenröhrchenträger (32 Röhrchen): 11–14 mm Durchmesser und 60–120 mm Höhe; Mindestfüllvolumen $\geq 750 \mu\text{l}$
 - Probenröhrchenträger (24 Röhrchen): 14,5–18 mm Durchmesser und 60–120 mm Höhe; Mindestfüllvolumen $\geq 1200 \mu\text{l}$
 - Probenröhrchenträger für geringes Volumen (32 Röhrchen): 1,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen mit Konusboden; Mindestfüllvolumen $\geq 700 \mu\text{l}$

Betrieb des NeuMoDx System

Detaillierte Anleitungen sind den Benutzerhandbüchern für das NeuMoDx 288 Molecular System und das NeuMoDx 96 Molecular System (Teile-Nr. 40600108 und 40600317) zu entnehmen.

1. Einen oder mehrere NeuMoDx System Test Strip Carrier mit NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip(s) befüllen und den/die Teststreifenräger über den Touchscreen in das NeuMoDx System laden.
2. Bei Aufforderung durch die NeuMoDx System Software die erforderlichen Verbrauchsmaterialien in die Verbrauchsmaterialräger des NeuMoDx System geben und den/die Träger über den Touchscreen in das NeuMoDx System laden.
3. Bei Aufforderung durch die NeuMoDx System Software das NeuMoDx Wash Reagent oder NeuMoDx Release Reagent ersetzen, den Priming-Abfall, den Behälter für biogefährlichen Abfall (nur NeuMoDx 288 Molecular System), den Spitzenabfallbehälter (nur NeuMoDx 96 Molecular System) oder den Eimer für biogefährlichen Abfall (nur NeuMoDx 96 Molecular System) leeren.
4. Bei Aufforderung durch die NeuMoDx System Software NeuMoDx HIV-1 Calibrators [REF 800304] und/oder NeuMoDx HIV-1 External Controls [REF 900301] verarbeiten. Weitere Informationen hinsichtlich der Kalibratoren und Kontrollen sind dem Abschnitt *Ergebnisverarbeitung* zu entnehmen.
5. Das/die Proben-/Kalibrator-/Kontrollröhrchen in einen Probenröhrchenträger laden und darauf achten, dass die Deckel von allen Röhrchen entfernt wurden.
6. Den/die Probenröhrchenträger auf das Autolader-Regal setzen und über den Touchscreen in das NeuMoDx System laden. Dadurch wird die Verarbeitung der für die identifizierten Tests geladenen Proben eingeleitet, sofern im System ein gültiger Testauftrag vorliegt.

ANWENDUNGSEINSCHRÄNKUNGEN

1. Der NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip kann ausschließlich auf NeuMoDx Molecular Systems verwendet werden.
2. Die Leistung der NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip wurde für Plasmaproben ermittelt, die unter Verwendung von EDTA/ACD als Antikoagulans aus Vollblut gewonnen wurden. Die Verwendung des NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip mit Proben anderer Herkunft wurde nicht bewertet und die Leistungsmerkmale sind für andere Probentypen unbekannt.
3. Die Leistung des NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip wurde für Tests im Primärröhrchen bei Verwendung von BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tubes und BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tubes ermittelt.
4. Der NeuMoDx HIV-1 Quant Assay darf nicht für Proben von heparinisierten Patienten verwendet werden.
5. Da der HIV-1-Nachweis von der Anzahl der in der Probe vorhandenen Viruspartikel abhängig ist, sind ordnungsgemäße Probennahme, Handhabung und Lagerung für zuverlässige Ergebnisse erforderlich.
6. Bei Aufforderung durch die NeuMoDx System Software müssen zunächst NeuMoDx HIV-1 Calibrators und NeuMoDx HIV-1 External Controls entsprechend den Empfehlungen in der Packungsbeilage verarbeitet werden, bevor mit der routinemäßigen Verarbeitung klinischer Proben begonnen werden kann.
7. Eine unsachgemäße Probennahme, Handhabung, Lagerung, technische Fehler oder eine Verwechslung von Probenröhrchen können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Zusätzlich können negative Ergebnisse erhalten werden, wenn die Anzahl von Viruspartikeln in der Probe unterhalb der Nachweisgrenze des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay liegt.
8. Das NeuMoDx System darf ausschließlich von Personal bedient werden, das in der Anwendung des NeuMoDx System geschult ist.
9. Wenn weder die HIV-1-Zielssequenzen noch das SPC2-Ziel amplifiziert werden, wird ein ungültiges Ergebnis („Indeterminate“ (Unbestimmt) oder „Unresolved“ (Offen)) ausgegeben und der Test sollte wiederholt werden.

10. Wenn das Ergebnis des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay „Positive“ (Positiv) ist, der Quantifizierungswert jedoch außerhalb der Quantifizierungsgrenzen liegt, gibt das NeuMoDx System an, ob das nachgewiesene HIV-1 unterhalb der Unteren Quantifizierungsgrenze (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) oder oberhalb der Oberen Quantifizierungsgrenze (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) lag.
11. Sollte die nachgewiesene HIV-1-Konzentration unterhalb der LLoQ liegen, kann der NeuMoDx HIV-1 Quant Assay (falls gewünscht) mit einem anderen Aliquot der Probe wiederholt werden.
12. Sollte das nachgewiesene HIV-1 oberhalb der ULoQ liegen, kann der NeuMoDx HIV-1 Quant Assay mit einem verdünnten Aliquot der Originalprobe wiederholt werden. Empfohlen wird eine Verdünnung von 1:100 oder 1:1000 in HIV-1-negativem Plasma oder Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Die Konzentration der Originalprobe lässt sich wie folgt berechnen:

$$\text{Konzentration der Originalprobe} = \log_{10}(\text{Verdünnungsfaktor}) + \text{gemeldete Konzentration der verdünnten Probe}$$
13. Das gelegentliche Vorhandensein von PCR-Inhibitoren im Plasma kann zu einem Systemquantifizierungsfehler führen. Sollte ein solcher auftreten, empfiehlt es sich, den Test mit der gleichen Probe bei einer Verdünnung von 1:10 oder 1:100 in Basematrix zu wiederholen.
14. Ein positives Ergebnis zeigt nicht unbedingt das Vorhandensein lebensfähiger HIV-1-Erreger an. Allerdings weist ein positives Ergebnis auf das Vorhandensein von HIV-1-RNA hin.
15. Deletionen oder Mutationen in den konservierten Regionen, auf die der NeuMoDx HIV-1 Quant Assay abzielt, können den Nachweis beeinträchtigen und zu einem fehlerhaften Ergebnis führen.
16. Die Ergebnisse des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay sollten zusätzlich zu klinischen Beobachtungen und sonstigen Informationen, die dem Arzt zur Verfügung stehen, herangezogen werden.
17. Um die Kontamination von Proben zu vermeiden, werden gute Laborpraktiken, einschließlich des Wechselns der Handschuhe bei Handhabung verschiedener Patientenproben, empfohlen.

ERGEBNISVERARBEITUNG

Die verfügbaren Ergebnisse können unter der Registerkarte „Results“ (Ergebnisse) im Fenster „Results“ (Ergebnisse) auf dem Touchscreen des NeuMoDx System angezeigt oder ausgedruckt werden.

Die Ergebnisse des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay werden von der NeuMoDx System Software automatisch unter Anwendung des/der in der NeuMoDx HIV-1 Assay-Definitionsdatei (HIV-1 ADF) spezifizierten Entscheidungsalgorithmus und Ergebnisverarbeitungsparameter generiert. Abhängig vom Status für Zielsequenz und Probenprozesskontrolle kann das Ergebnis des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay „Negative“ (Negativ), „Positive“ (Positiv) mit Angabe der HIV-1-Konzentration, „Positive“ (Positiv) oberhalb der oberen Quantifizierungsgrenze, „Positive“ (Positiv) unterhalb der unteren Quantifizierungsgrenze, „Indeterminate“ (Unbestimmt) oder „Unresolved“ (Offen) sein. Die Ergebnisse werden auf Grundlage des ADF-Entscheidungsalgorithmus angegeben, wie nachstehend in *Tabelle 1* zusammengefasst.

Tabelle 1: Zusammenfassung des HIV-1 Quant Assay Entscheidungsalgorithmus

ERGEBNIS*	HIV-1-Ziel(e)	Probenprozesskontrolle (SPC2)
Positive (Positiv) mit Angabe der Konzentration	Amplified (Amplifiziert), $1,5 \leq [\text{HIV-1}] \leq 7,7 \log_{10} \text{ IU/ml}$	Amplified (Amplifiziert) oder Not Amplified (Nicht amplifiziert)
Positive (Positiv), oberhalb der ULoQ	Amplified (Amplifiziert), [HIV-1] $> 7,7 \log_{10} \text{ IU/ml}$	Amplified (Amplifiziert) oder Not Amplified (Nicht amplifiziert)
Positive (Positiv), unterhalb der LLoQ	Amplified (Amplifiziert), [HIV-1] $< 1,5 \log_{10} \text{ IU/ml}$	Amplified (Amplifiziert) oder Not Amplified (Nicht amplifiziert)
Negative (Negativ)	Not Amplified (Nicht amplifiziert)	Amplified (Amplifiziert)
Indeterminate (Unbestimmt)	Not Amplified, System Error Detected (Nicht amplifiziert, Systemfehler festgestellt)	
Unresolved (Offen)	Not Amplified, No System Error Detected (Nicht amplifiziert, kein Systemfehler festgestellt)	

*Der Quantifizierungsbereich NeuMoDx HIV-1 Quant Assay liegt bei 1,5 bis 7,7 \log_{10} IU/ml. Das Ergebnis POSITIVE (POSITIV) Ergebnis gibt an, dass HIV-1-RNA detektiert wurde, und unterstützt die Diagnose einer HIV-1-Infektion. Das Ergebnis NEGATIVE (NEGATIV) Ergebnis gibt an, dass entweder keine HIV-1-RNA vorhanden ist oder die Viruslast unterhalb der Nachweisgrenze liegt. Falsch negative oder falsch niedrige Ergebnisse für die Viruslast können durch eine unsachgemäße Probenahme oder -lagerung verursacht werden. Die Interpretation der Ergebnisse muss im Zusammenhang mit relevanten klinischen und Laborergebnissen erfolgen.

Testberechnung

1. Für Proben innerhalb des Quantifizierungsbereichs des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay wird die Konzentration der HIV-1-RNA in den Proben anhand der gespeicherten Standardkurven in Verbindung mit dem Kalibrationskoeffizienten berechnet.
 - a. Ein Kalibrationskoeffizient wird auf Grundlage der Ergebnisse für die verarbeiteten NeuMoDx HIV-1 Calibrators berechnet und dient dazu, die Gültigkeit der Standardkurve für eine gegebene Charge des NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip auf einem spezifischen NeuMoDx System nachzuweisen.
 - b. Der Kalibrationskoeffizient wird in die endgültige Bestimmung der Konzentration der HIV-1-RNA einbezogen.
2. Die Ergebnisse des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay werden in \log_{10} IU/ml angegeben. Der Umrechnungsfaktor für den NeuMoDx HIV-1 Quant Assay beträgt 0,75 Kopien/IU.
3. Die resultierende Quantifizierung unbekannter Proben kann auf ein kalibriertes Referenzmaterial des National Institute for Biological Standards and Control zurückgeführt werden.

Testkalibrierung

Für die Quantifizierung von HIV-1-RNA in den Proben ist eine gültige Kalibrierung auf Grundlage der Standardkurve erforderlich. Um gültige Ergebnisse zu generieren, muss eine Testkalibrierung mit den von NeuMoDx Molecular, Inc. bereitgestellten Kalibratoren erfolgen.

Kalibratoren

1. Die NeuMoDx HIV-1 Calibrators [REF 800304] enthalten in Basematrix vorbereitete, nicht infektiöse verkapselte HIV-1-Ziele.
2. Ein Set der HIV-1-Kalibratoren muss verarbeitet werden, wenn eine neue Charge der NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strips verwendet wird, eine neue HIV-1 Assay-Definitionsdatei auf das NeuMoDx System geladen wird, der Gültigkeitszeitraum des aktuellen Kalibratorsets abgelaufen ist (aktuell auf 90 Tage festgelegt) oder Veränderungen an der NeuMoDx System Software vorgenommen werden.
3. Die NeuMoDx System Software benachrichtigt den Benutzer, wenn eine Verarbeitung von Kalibratoren erforderlich ist. Bis zur erfolgreichen Verarbeitung der Kalibratoren kann keine neue Teststreifencharge für Tests verwendet werden.
4. Die Gültigkeit der Kalibrierung wird wie folgt ermittelt:
 - a) Zum Nachweis der Gültigkeit muss ein Set aus zwei Kalibratoren – einer (1) mit hoher und einer (1) mit niedriger Konzentration – verarbeitet werden.
 - b) Mindestens zwei (2) der drei (3) Replikate müssen Ergebnisse innerhalb der vordefinierten Parameter ergeben. Das Nominalziel für den Kalibrator mit niedriger Konzentration liegt bei $3 \log_{10}$ IU/ml und das Nominalziel für den Kalibrator mit hoher Konzentration bei $5 \log_{10}$ IU/ml.
 - c) Ein Kalibrationskoeffizient wird berechnet, um der erwarteten Variation zwischen verschiedenen Teststreifenchargen Rechnung zu tragen. Dieser Kalibrationskoeffizient wird bei der Bestimmung der HIV-1-Endkonzentration herangezogen.
5. Wenn ein oder beide Kalibratoren die Gültigkeitsprüfung nicht bestehen, ist die Verarbeitung für den/die fehlgeschlagenen Kalibrator(en) mit einem neuen Fläschchen zu wiederholen. Sollte einer der Kalibratoren die Gültigkeitsprüfung nicht bestehen, reicht es aus, nur die Verarbeitung des fehlgeschlagenen Kalibrators zu wiederholen; das System erfordert nicht, dass beide Kalibratoren erneut verarbeitet werden.
6. Wenn der/die Kalibrator(en) die Gültigkeitsprüfung wiederholt nicht besteht/bestehen, NeuMoDx Molecular, Inc. kontaktieren.

Qualitätskontrolle

Die lokalen Vorschriften legen in der Regel fest, dass das Labor für die Kontrollverfahren verantwortlich ist, die die Richtigkeit und Präzision des kompletten Analyseprozesses überwachen, und unter Verwendung bestätigter Leistungsspezifikationen für ein unverändertes, zugelassenes Testsystem Anzahl, Typ und Häufigkeit der Testkontrollmaterialien feststellen muss.

Externe Kontrollen

1. Die NeuMoDx HIV-1 External Controls [REF 900301] bestehen aus Positivkontrollen, die nicht infektiöse, verkapselte HIV-1-Ziele in Basematrix enthalten, und Negativkontrollen, die nur Basematrix enthalten.
2. Die positiven und negativen externen Kontrollen müssen alle 24 Stunden verarbeitet werden, solange Tests mit dem NeuMoDx HIV-1 Quant Assay durchgeführt werden. Wenn kein Satz gültiger externer Kontrollergebnisse vorhanden ist, fordert das NeuMoDx System den Benutzer dazu auf, Kontrollen zu verarbeiten, bevor Probenergebnisse ausgegeben werden können.
3. Die Gültigkeit der externen Kontrollen wird auf Grundlage des erwarteten Ergebnisses durch das NeuMoDx System bewertet. Die Positivkontrolle sollte ein HIV-1-Ergebnis Positive (Positiv) und die Negativkontrolle ein HIV-1-Ergebnis Negative (Negativ) ergeben.
4. Diskrepante Ergebnisse für die externen Kontrollen sind wie folgt zu behandeln:
 - a) Ein für eine Negativkontrollprobe gemeldetes positives Testergebnis weist auf ein Probenkontaminationsproblem hin.
 - b) Ein für eine Positivkontrollprobe gemeldetes Testergebnis „Negative“ (Negativ) kann darauf hinweisen, dass ein Problem mit dem Reagenz oder dem Instrument besteht.

- c) In jedem der oben beschriebenen Fälle, oder falls ein unbestimmtes (Indeterminate, IND) Ergebnis erhalten wird, die Verarbeitung der NeuMoDx HIV-1 External Controls mit frischen Fläschchen der Kontrolle(n) wiederholen, die die Gültigkeitsprüfung nicht bestanden hat/haben.
- d) Wenn die positive NeuMoDx HIV-1 External Control weiterhin das Ergebnis Negative (Negativ) ergibt, den technischen Service von NeuMoDx kontaktieren.
- e) Wenn die negative NeuMoDx HIV-1 External Control weiterhin das Ergebnis Positive (Positiv) ergibt, vor dem Kontaktieren des technischen Service von NeuMoDx möglichst alle in Frage kommenden Kontaminationsquellen eliminieren, was den Austausch aller Reagenzien einschließt.

(Interne) Probenprozesskontrollen

In der NeuMoDx Extraction Plate ist eine exogene Probenprozesskontrolle (Sample Process Control, SPC2) enthalten, die mit jeder Probe dem vollständigen Prozess der Nukleinsäure-Extraktion und Echtzeit-RT-PCR-Amplifikation unterzogen wird. Zudem enthält jeder NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip SPC2-spezifische Primer und Sonden, was den Nachweis von SPC2 zusammen mit der Ziel-HIV-1-RNA (falls vorhanden) in der Multiplex-RT-PCR ermöglicht. Der Nachweis der SPC2-Amplifikation erlaubt der NeuMoDx System Software die Überwachung der Effizienz der RNA-Extraktion und der RT-PCR-Amplifikation.

Ungültige Ergebnisse

Wenn ein auf dem NeuMoDx System ausgeführter NeuMoDx HIV-1 Quant Assay kein gültiges Ergebnis liefert, wird das Ergebnis basierend auf der aufgetretenen Fehlerart entweder als „Indeterminate“ (IND) (Unbestimmt) oder „Unresolved“ (UNR) (Offen) gemeldet.

Das Ergebnis IND wird gemeldet, wenn während der Probenverarbeitung ein Fehler im NeuMoDx System erkannt wird. Falls das Ergebnis IND gemeldet wird, empfiehlt sich ein erneuter Test.

Das Ergebnis UNR wird gemeldet, wenn keine gültige Amplifikation von HIV-1-RNA oder SPC2 detektiert wird, was auf einen möglichen Reagenzfehler oder das Vorhandensein von Inhibitoren hinweist. Falls das Ergebnis UNR gemeldet wird, wird als erster Schritt ein erneuter Test empfohlen. Wenn der Wiederholungstest fehlschlägt, kann eine Probenverdünnung verwendet werden, um die Effekte einer möglichen Probeninhibition abzumildern.

LEISTUNGSMERKMALE

Analytische Sensitivität – Nachweisgrenze

Die analytische Sensitivität des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay wurde durch Testen einer auf den WHO 3rd HIV-1 International Standard rückführbaren Verdünnungsreihe in gescreentem HIV-1-RNA-negativem EDTA-Plasma charakterisiert, um die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) auf den NeuMoDx Systems zu bestimmen. Die LoD ist definiert als die niedrigste Zielkonzentration, die gemäß Probit-Analyse mit einer Wahrscheinlichkeit von $\geq 95\%$ nachgewiesen wird. Die Studie wurde an drei (3) aufeinanderfolgenden Tagen mit verschiedenen Systemen, Bedienern, Läufen und Chargen der NeuMoDx HIV-1 Quant Assay Reagenzien durchgeführt. Pro Tag wurden mit jedem System 12 Replikate jeder Verdünnungsstufe verarbeitet. Die Nachweisraten sind in *Tabelle 2* dargestellt.

Tabelle 2: Positiv-Nachweisraten für die LoD-Bestimmung des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Zielkonzentration (IU/ml)	Zielkonzentration (\log_{10} IU/ml)	Anzahl gültiger Tests	Anzahl positiver Ergebnisse	Nachweisrate (%)
60	1,78	72	71	98,6 %
45	1,65	72	71	98,6 %
35	1,54	72	68	94,4 %
15	1,18	72	54	75,0 %
0	-	72	0	0 %

Mittels Probit-Analyse wurde die LoD des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay in Plasma für alle Genotypen als **34,2 IU/ml (1,5 \log_{10} IU/ml)** mit einem 95%-Konfidenzintervall (KI) von 27,8 bis 47,7 IU/ml (1,4–1,7 \log_{10} IU/ml) gemäß Test auf dem NeuMoDx 288 Molecular System [*Abbildung 2*] bestimmt.

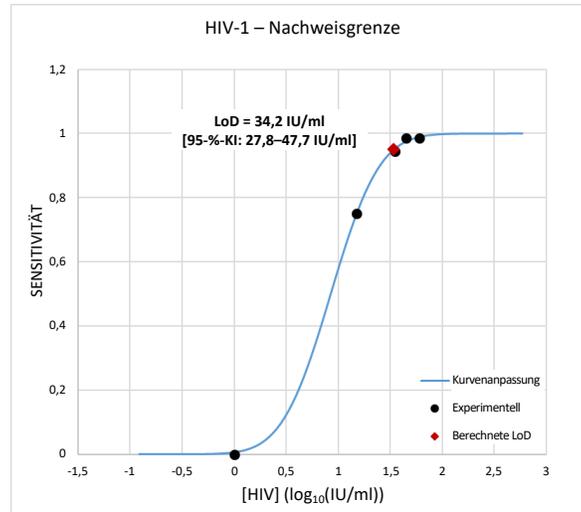


Abbildung 2: Probit-Analyse für die Nachweisgrenze des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Analytische Sensitivität – untere Quantifizierungsgrenze

Die untere Quantifizierungsgrenze (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ist definiert als die niedrigste Zielkonzentration, bei der ein Nachweis von > 95 % erreicht wird und der analytische Gesamtfehler ≤ 1 ist. Zur Bestimmung der LLoQ wurde im Rahmen der LoD-Berechnung für jede der HIV-1-Zielkonzentrationen der analytische Gesamtfehler (Total Analytical Error, TAE) berechnet. Der TAE ist wie folgt definiert:

$$\text{TAE} = \text{Bias} + 2 \cdot \text{SD} \quad (\text{Westgard Statistic})$$

wobei

Bias der absolute Wert der Differenz zwischen dem Durchschnitt der berechneten Konzentration und der erwarteten Konzentration und **SD** die Standardabweichung (Standard Deviation) des quantifizierten Werts der Probe ist.

Die zusammengestellten Ergebnisse für die vier (4) Konzentrationen der HIV-1-Plasmaproben, die für die Studie der LLoQ unter Anwendung von Subtyp B verwendet wurden, sind in *Tabelle 3* aufgeführt. Da der berechnete TAE bei HIV-1-Konzentrationen unterhalb der LoD ≤ 1 war, ergab sich für den NeuMoDx HIV-1 Quant Assay eine niedrigere Quantifizierungsgrenze, identisch mit der Nachweisgrenze: **34,2 IU/ml** (95%-KI 27,8–47,7 IU/ml) oder **1,5 log₁₀ IU/ml** (95%-KI 1,4–1,7 log₁₀ IU/ml).

Tabelle 3: LLoQ des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay mit Bias und TAE

Zielkonz. (IU/ml)	Zielkonz. (log ₁₀ IU/ml)	Konz.-Durchschnitt (log ₁₀ IU/ml)	Nachweis (%)	SD	Bias	TAE
60	1,78	1,76	99	0,28	0,02	0,59
45	1,65	1,82	99	0,30	0,17	0,78
35	1,54	1,69	94	0,39	0,15	0,93
15	1,18	1,52	75	0,54	0,34	1,44

Analytische Sensitivität – Linearität und Bestimmung der oberen Quantifizierungsgrenze

Zur Ermittlung der Linearität und der oberen Quantifizierungsgrenze (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay wurde eine Verdünnungsreihe mit HIV-1 erstellt. Dieses stammte vom The External Quality Assurance Program Oversight Laboratory (Duke University, NC, USA), aus der AccuPlex™ Recombinant HIV/HCV Control (Seracare, MA, USA) und aus dem HIV-1 RNA Working Reagent 2 für NAT-Assays (NIBSC). In gepooltem HIV-1-RNA-negativem EDTA-Plasma wurde ein Panel mit neun Mitgliedern vorbereitet, um einen Konzentrationsbereich von 7,70–1,70 log₁₀ IU/ml abzudecken. Der NeuMoDx HIV-1 Quant Assay war in der Lage, HIV-1 über den linearen Bereich von 6 log₁₀ hinweg mit einer Genauigkeit von ± 0,33 log₁₀ IU/ml zu quantifizieren (basierend auf dem Standardfehler gemäß Berechnung aus dem 95%-Konfidenzintervall). Die Anwendung von Regressionsanpassungen 2. oder 3. Ordnung brachte keinen signifikanten Vorteil. Die ULoQ wurde anhand der Daten aus dieser Studie als **7,7 log₁₀ IU/ml** bestimmt. Die vom NeuMoDx System ausgegebenen HIV-1-Assaykonzentrationen im Vergleich mit den Erwartungswerten sind in *Abbildung 3* dargestellt.

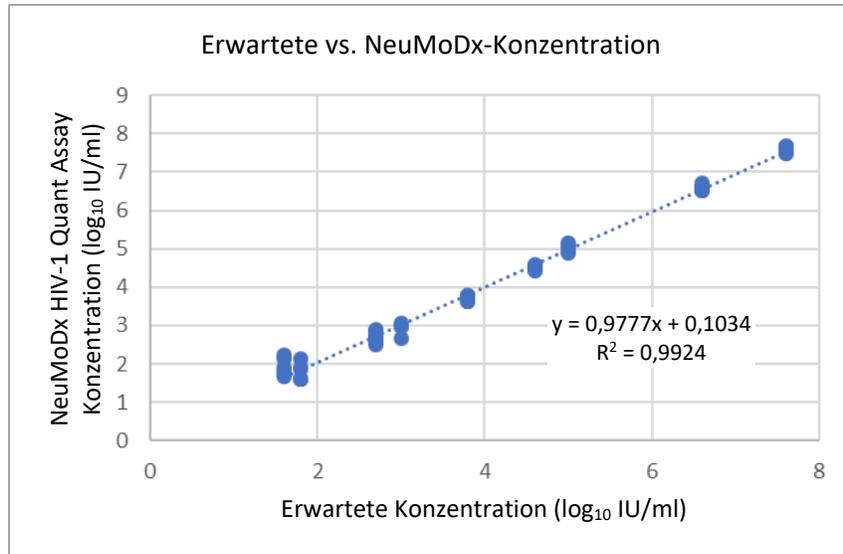


Abbildung 3: Linearer Bereich des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Analytische Sensitivität – Linearität über Genotypen hinweg

Die Linearität des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay über die HIV-1-Gruppen M (Subtypen A, B, C, D, F, G, H, K, CRF01_AE, CRF02_AG), N, O und P hinweg wurde durch Testen von mindestens fünf (5) verschiedenen Konzentrationen für jede(n) Gruppe/Subtyp von HIV-1, vorbereitet in gepooltem HIV-1-RNA-negativem EDTA-Plasma, charakterisiert. Die Konzentrationen der in dieser Studie getesteten HIV-1-Ziele waren abhängig von der jeweiligen Konzentration der ursprünglichen Probe, weshalb sie sich für die verschiedenen Gruppen/Subtypen unterscheiden. Die Studie wurde mit jeder Gruppe/jedem Subtyp unter Verwendung von jeweils sechs (6) Replikaten pro Konzentration durchgeführt. Die Linearität wurde über die getesteten Bereiche hinweg getestet; die Ergebnisse sind in *Tabelle 4* und *Abbildung 4* dargestellt.

Tabelle 4: Linearität des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay über die Gruppen M, N, O und P hinweg

Gruppe	Subtyp	Linearitätsgleichung	
		$y = \text{Quantifizierung gem. NeuMoDx HIV-1 Quant Assay (log}_{10} \text{ IU/ml)}$	R^2
		$x = \text{erwartete Quantifizierung (log}_{10} \text{ IU/ml)}$	
M	A	$y = 1,0217x - 0,008$	0,9953
	B	$y = 0,9715x + 0,1442$	0,9933
	C	$y = 1,0055x + 0,0658$	0,9879
	D	$y = 1,0203x - 0,3554$	0,9941
	F	$y = 0,9872x + 0,4278$	0,9955
	G	$y = 1,0282x + 0,2223$	0,9970
	CRF01_AE	$y = 1,0163x - 0,0053$	0,9824
	CRF02_AG	$y = 0,99x - 0,0783$	0,9989
	H	$y = 0,9803x + 0,4187$	0,9730
	K	$y = 1,0441x - 0,0223$	0,9684
N		$y = 0,996x + 0,2117$	0,9876
O		$y = 1,0043x + 0,6167$	0,9942
P		$y = 0,9927x + 0,1903$	0,9974

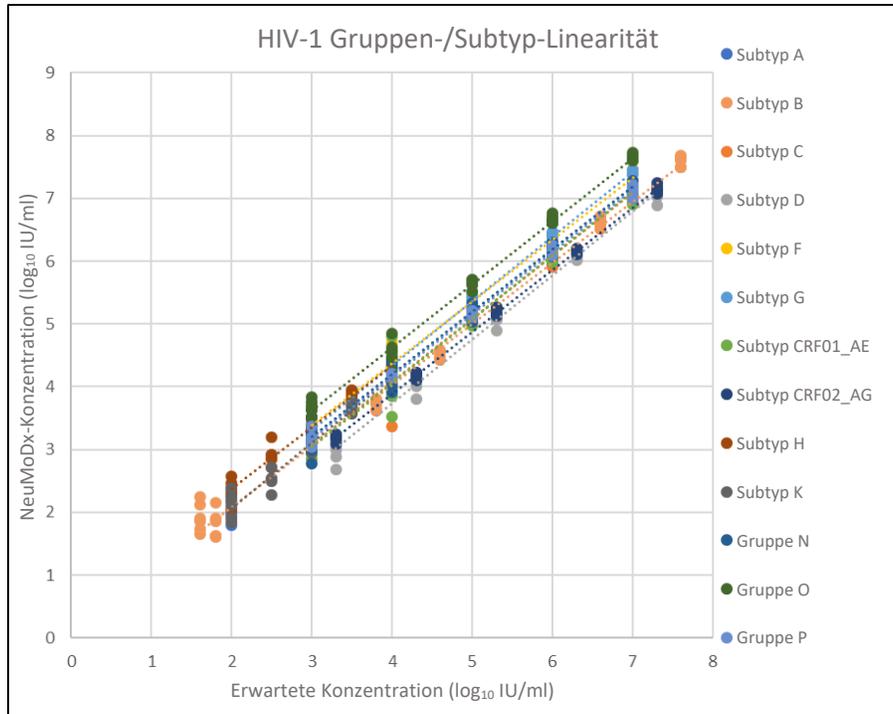


Abbildung 4: Linearität des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay über Subtypen hinweg

Analytische Spezifität – potenziell störende mikrobielle Kontaminanten

Die analytische Spezifität des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay wurde ermittelt, indem ein Panel von Mikroorganismen (*Tabelle 5*), in hohen Konzentrationen vorbereitet in HIV-1-RNA-negativem EDTA-Plasma, auf Kreuzreaktivität getestet wurde. Zur Bewertung möglicher Störungen wurde das gleiche Panel von in EDTA-Plasma vorbereiteten Mikroorganismen mit HIV-1 bei 2,02 log₁₀ IU/ml versetzt. Es wurde keine Kreuzreaktivität beobachtet; alle HIV-1-negativen mikrobiellen Proben ergaben negative Ergebnisse. Alle HIV-1-positiven mikrobiellen Proben ergaben positive Ergebnisse und für diese Proben wurden keine signifikanten Störungen beobachtet, was durch die minimale Abweichung der gemeldeten HIV-1-Quantifizierung von Kontrollproben ohne potenziell störende Mikroorganismen belegt wird. Weitere mögliche Kreuzreaktivitäten wurden durch Nukleotidsequenzvergleich der Zielsequenzen des NeuMoDx HIV Quant Assay mit den vollständigen Genomen von 26 weiteren Pathogenen (*Tabelle 6*) unter Verwendung des vom National Center for Biotechnology Information (NCBI) bereitgestellten Basic Local Alignment Search Tool (BLASTn) bewertet. Die Sequenzvergleichsanalyse ergab keine Analogie zwischen den Zielsequenzen und den untersuchten Genomen.

Tabelle 5: Für analytische Spezifität getestete Pathogene

Möglicherweise störende Mikroorganismen
Hepatitis-A-Virus
Hepatitis-B-Virus
Hepatitis-C-Virus
Humanes T-lymphotropes Virus Typ 1 (HTLV-1)
Humanes T-lymphotropes Virus Typ 2 (HTLV-2)
Humanes Immundefizienzvirus Typ 2 (HIV-2)
Simianes Immundefizienzvirus (SIV)
Epstein-Barr-Virus

Tabelle 6: In die BLASTn Sequenzalignement-Analyse eingeschlossene Mikroorganismen

Mikroorganismus	Zugriffsnummer(n)	Mikroorganismus	Zugriffsnummer(n)
Adenovirus Typ 12	X73487.1	Humanes Herpesvirus 5	GQ221974.1 KR534211.1 GQ221975.1 NC_006273.2
BK-Polyomavirus	AB369101.1 NC_001538.1 AB369092.1	Humanes Herpesvirus 7	AF037218.1 NC_001716.2
<i>Chlamydia trachomatis</i>	CP018052.1 CP017731.1	Humanes Herpesvirus 8	NC_009333.1
<i>Cutibacterium acnes</i>	NZ_CP006032.1	Humanes Papillomvirus Typ 18	NC_001357.1 MF288723.1
Dengue-Virus	KR919821.1 KR052012.1	Humanes Papillomvirus Typ 16	KY549222.1 KY549321.1
Herpes-Simplex-Virus Typ 2	Z86099.2	Humanes Parvovirus B19	KX752821.1 MH201456.1
Humanes Adenovirus 2	J01917.1 AC_000007.1	Influenza A (alle Segmente)	MN253846.1 MH797924.1 MH842686.1 MN037420.1
Humanes Adenovirus 5	KX868466.2 AC_000008.1 AY601635.1	JC-Virus	J02226.1 AB081030.1
Humanes Adenovirus C	AY339865.1	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	CP034022.1 CP041586.1
Humanes Betaherpesvirus 6A	NC_001664.4 X83413.2	<i>Propionibacterium acnes C1</i>	CP003877.1
Humanes Herpesvirus 1	X14112.1 JQ780693.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	AP017922.1
Humanes Herpesvirus 2	LT797626.1 JN561323.2	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	AP008934.1
Humanes Herpesvirus 3	DQ479962.1 KC847290.1	West-Nil-Virus	M12294.2 MF797870.1

Analytische Spezifität – potenziell störende endogene und exogene Substanzen

Der NeuMoDx HIV-1 Quant Assay wurde auf seine Anfälligkeit für Störungen durch Medikamente, die HIV-1-infizierten Patienten häufig verschrieben werden, erhöhte Konzentrationen endogener Substanzen und das Vorliegen von Autoimmunerkrankungen untersucht. Gescreentes HIV-1-RNA-negatives EDTA-Plasma wurde mit 3 log₁₀ IU/ml HIV-1 und mit Albumin (120 mg/ml), Bilirubin (0,03 mg/ml), Hämoglobin (3,5 mg/ml), Triglyceriden (5,3 mg/ml) und Medikamentenwirkstoffen (Tabelle 7) bei dreimal C_{max} versetzt. Den Krankheitszustand anzeigendes Plasma für systemischen Lupus erythematoses (SLE), antinukleäre Antikörper (ANA) und rheumatoide Arthritis (RA) wurde jeweils ebenfalls negativ gescreent und für die Tests mit 3 log₁₀ IU/ml HIV-1 versetzt. Es wurde keine signifikante Störung beobachtet. Die Ergebnisse der Studie sind in Tabelle 8 zusammengefasst.

Tabelle 7: Auf Störungen getestete Medikamentenwirkstoffe

Klassifizierung des Medikaments	Name des Medikaments
Immunmodulator	Interferon alfa-2a, Interferon alfa-2b, Ribavirin
CCR5-Antagonist	Maraviroc
Pharmakokinetischer Booster	Cobicistat
Nicht-nukleosidischer Reverse-Transkriptase-Inhibitor (NNRTI)	Doravirin, Efavirenz, Nevirapin, Rilpivirin
Proteaseinhibitor (PI)	Darunavir, Amprenavir, Ritonavir, Saquinavir, Simeprevir
Nukleosidischer Reverse-Transkriptase-Inhibitor (NRTI) oder DNA-Polymerase-Inhibitor	Cidofovir, Lamivudin, Ganciclovir, Tenofoviridisoproxil, Zidovudin, Valganciclovir, Abacavirsulfat, Emtricitabin, Entecavir, Foscarnet, Sofosbuvir
Integrase-Inhibitor	Raltegravir, Dolutegravir
Fusionsinhibitor	Enfuvirtid
Behandlung opportunistischer Infektionen	Azithromycin, Clarithromycin, Fluconazol, Sulfamethoxazol, Trimethoprim

Tabelle 8: Zusammenfassung der Störungstests – exogene und endogene Agenzien

Endogen	Durchschnitt [HIV-1] (log ₁₀ IU/ml)	Bias (log ₁₀ IU/ml)
Albumin	3,03	-0,11
Bilirubin	3,04	-0,09
Hämoglobin	3,04	-0,09
Triglyceride	3,14	0,01
Exogen (Medikamente)	Durchschnitt [HIV-1] (log ₁₀ IU/ml)	Bias (log ₁₀ IU/ml)
Pool 1: Interferon alfa-2a, Interferon alfa-2b, Ribavirin, Maraviroc, Cobicistat	3,06	-0,07
Pool 2: Raltegravir, Dolutegravir, Efavirenz, Nevirapin, Rilpivirin	3,04	-0,09
Pool 3: Doravirin, Darunavir, Amprenavir, Ritonavir, Saquinavir	3,11	-0,02
Pool 4: Simeprevir, Enfuvirtid, Abacavirsulfat, Emtricitabin, Entecavir, Foscarnet	3,12	-0,01
Pool 5: Cidofovir, Lamivudin, Ganciclovir, Tenofoviridisoproxil, Zidovudin, Valganciclovir	3,14	0,01
Pool 6: Sofosbuvir, Azithromycin, Clarithromycin, Fluconazol, Sulfamethoxazol, Trimethoprim	3,13	0
Krankheitszustand	Durchschnitt [HIV-1] (log ₁₀ IU/ml)	Bias (log ₁₀ IU/ml)
Systemischer Lupus Erythematoses (SLE)	3,00	-0,13
Antinukleäre Antikörper (ANA)	3,10	-0,03
Rheumatoide Arthritis (RA)	3,25	0,12

Präzision

Die Präzision des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay wurde durch Testen eines Vier-Mitglieder-Panels von in HIV-1-negativem Plasma vorbereiteten HIV-1-Proben (mit HIV-1 Subtyp B und Gruppe O, bezogen vom EQAPOL, Duke University) auf drei (3) NeuMoDx Systems über sechs (6) Tage ermittelt. Auf jedem System wurden für jede Konzentration insgesamt 12 Läufe durchgeführt, sodass im Rahmen des Tests für jede Probenkonzentration insgesamt 216 Replikate erhalten wurden. Die Intra-Lauf-, Intra-Tag- und Intra-System-Präzision wurden charakterisiert und die Gesamt-Standardabweichung wurde als $\leq 0,15 \log_{10}$ IU/ml bestimmt. Es wurden keine signifikanten Leistungsunterschiede zwischen den Systemen, Tagen oder Läufen festgestellt, wie in *Tabelle 9* erkennbar. Die Präzision von Bediener zu Bediener wurde nicht charakterisiert, da der Bediener bei der Verarbeitung von Proben mit dem NeuMoDx System keine wesentliche Rolle spielt.

Tabelle 9: Laborinterne Präzision – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay auf NeuMoDx Systems

	Zielkonz. (\log_{10} IU/ml)	Konz.-Durchschn. (\log_{10} IU/ml)	Intra-System-SD	Intra-Tag-SD	Intra-Lauf-SD	Laborinterne SD (gesamt)
Subtyp B	5,7	5,62	0,09	0,09	0,09	0,10
	3,7	3,62	0,10	0,10	0,10	0,13
Gruppe O	4,7	4,65	0,09	0,09	0,09	0,12
	2,7	2,66	0,13	0,13	0,12	0,15

Interchargen-Variation

Die Interchargen-Variation des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay wurde durch retrospektive Analyse von Qualitätstestdaten für drei (3) verschiedene Chargen kritischer Reagenzien verifiziert. Diese Daten wurden durch Funktionstests der Reagenzien an einem Drei-Mitglieder-Panel des HIV-Ziels (AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) in HIV-1-RNA-negativem Plasma sowie negativen Plasmaproben generiert. Pro Charge des NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip wurden insgesamt 18 positive und 14 negative Replikate verarbeitet. Die Variation innerhalb der und zwischen den Chargen wurde analysiert und ist in *Tabelle 10* aufgeführt. Das absolute Gesamt-Bias überstieg nicht $0,14 \log_{10}$ IU/ml und die Gesamt-Standardabweichung lag unter $0,25 \log_{10}$ IU/ml. Es wurde kein signifikanter Leistungsunterschied zwischen den Chargen festgestellt; die Quantifizierung aller Panel-Mitglieder lag innerhalb der Toleranzanforderungen.

Tabelle 10: Interchargen-Reproduzierbarkeit – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Zielkonz. (\log_{10} IU/ml)	Mittlere Konz. Gesamt (\log_{10} IU/ml)	Anzahl gültiger Tests	Bias (\log_{10} IU/ml)	Interchargen-SD	Intrachargen-SD	Gesamt-SD
5,00	4,96	18	0,04	0,08	0,08	0,12
3,00	2,86	17	0,14	0,12	0,18	0,22
2,00	1,92	18	0,08	0,17	0,14	0,22

Wirksamkeit der Kontrolle

Im NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ist eine Probenprozesskontrolle (Sample Process Control, SPC2) enthalten, die Prozess- und/oder Amplifikationsfehler anzeigt. Die Wirksamkeit dieser internen Kontrolle wurde am analogen NeuMoDx HCV Quant Assay unter Bedingungen getestet, die für kritische Prozessschrittfehler repräsentativ sind, welche potenziell während der Probenverarbeitung auftreten können und von den Sensoren des NeuMoDx System zur Leistungsüberwachung möglicherweise nicht erkannt werden. Moderat positive und negative Proben wurden analysiert, um die interne Kontrolle durch das Vorhandensein von Reaktionsinhibitoren, keine Bereitstellung von NeuMoDx Wash Reagent und kein Wasch-Blowout herauszufordern. Bedingungen mit einem nachteiligen Effekt auf den Zielnachweis spiegelten sich entsprechend im SPC2-Nachweis wider, wie zusammenfassend in der untenstehenden *Tabelle 11* dargestellt. Alle getesteten Szenarien demonstrierten die Fähigkeit der Probenprozesskontrolle zur angemessenen Überwachung auf Fehler oder die Tatsache, dass die nicht erkannten Fehler keinen signifikanten Einfluss auf Zielnachweis und -quantifizierung hatten.

Tabelle 11: Zusammenfassung der Wirksamkeitsstudie für die Probenprozesskontrolle

Simulierter Fehlerzustand	SPC2-Amplifikationsstatus	Zielamplifikationsstatus	Assayergebnis
Presence of Inhibitor (Vorhandensein von Inhibitor)	Not Amplified (Nicht amplifiziert)	Not Amplified (Nicht amplifiziert)	Unresolved (Offen)
No Wash Reagent Delivered (Kein Wash Reagent bereitgestellt)	Not Amplified (Nicht amplifiziert)	Not Amplified (Nicht amplifiziert)	Unresolved (Offen)
No Wash Blowout (Kein Wasch-Blowout)	Amplified (Amplifiziert)	Amplified (Amplifiziert)	Positive, $\pm 0,3 \log_{10}$ IU/mL of Control (Positiv, $\pm 0,3 \log_{10}$ IU/ml der Kontrolle)

Kreuzkontamination

Zur Bestimmung der Kreuzkontaminationsrate für den NeuMoDx HIV-1 Quant Assay wurden sechs (6) Läufe alternierend hoch-positiver und negativer HIV-1-Proben analysiert. Insgesamt 36 negative Replikate und 36 Replikate mit hohem HIV-1-Titer bei $6,0 \log_{10}$ IU/ml wurden in schachbrettartiger Anordnung verarbeitet. Alle Replikate der negativen Proben wurden als negativ bestimmt, was zeigt, dass im gesamten Probenverarbeitungsprozess im NeuMoDx System keine Kreuzkontamination aufgetreten ist.

Gleichwertigkeit der Probenmatrix

Tests wurden durchgeführt, um die Gleichwertigkeit der Probenmatrix für in EDTA- und ACD-Entnahmeröhrchen entnommenes Vollblut zur Gewinnung von Plasma zu demonstrieren. Zusätzliche Tests wurden durchgeführt, um die Gleichwertigkeit von frischen und gefrorenen Plasmaproben (entnommen in den zwei Röhrchentypen) zu bestimmen. Die frischen Proben wurden bei $2-4^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt, bevor sie mit HIV-1 in vier den quantitativen Bereich des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay abdeckenden Konzentrationen (einschließlich einer negativer Konzentration) versetzt und auf Gleichwertigkeit getestet wurden. Danach wurden die Proben für mindestens 24 Stunden bei $\leq -20^{\circ}\text{C}$ eingefroren. Im Anschluss an diesen Zeitraum der Lagerung im gefrorenen Zustand wurden die Proben aufgetaut und erneut getestet. Die Ergebnisse für EDTA- vs. ACD- und frische vs. gefrorene Plasmaproben wurden mittels Regressionsanalyse auf ihre Gleichwertigkeit untersucht. Die Ergebnisse der linearen Regressionsdatenanalyse zeigten keinen signifikanten Unterschied der gemeldeten Werte zwischen EDTA und ACD oder zwischen frischen und gefrorenen Lagerungsbedingungen für das mit dem NeuMoDx HIV-1 Quant Assay getestete Plasma.

Zusätzliche Tests wurden durchgeführt, um die Gleichwertigkeit der Leistung des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay bei Primärproben vs. Sekundärproben zu demonstrieren. Panels von mit HIV-1-Ziel (AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) versetzten HIV-1-negativen Spenderproben und von HIV-1-positiven Spenderproben wurden zunächst im primären Probenröhrchen verarbeitet. Nach der Verarbeitung im primären Probenröhrchen wurde das verbleibende Plasma jeder Probe in ein sekundäres Probenröhrchen aliquotiert und erneut verarbeitet. Es wurde keine signifikante Differenz zwischen den gemeldeten Ergebnissen bei Verarbeitung im primären und sekundären Plasmaröhrchen festgestellt.

Klinischer Methodenvergleich

Die qualitative und quantitative Leistung des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay wurde mit der eines FDA-/CE-IVD-zertifizierten Vergleichsassays verglichen. Interne Tests wurden in Form einer Einfachblindstudie an anonymisierten, übrig gebliebenen Plasmaproben durchgeführt, die von einem bei der FDA registrierten Anbieter bezogen wurden. Insgesamt 723 Plasmaproben wurden mit dem NeuMoDx HIV-1 Quant Assay auf mehreren NeuMoDx Systems verarbeitet. Alle Proben, die zunächst ein ungültiges Ergebnis ergaben, wurden erfolgreich erneut verarbeitet, sodass für alle in dieser Studie untersuchten Proben ein gültiges Ergebnis erhalten wurde.

Die während der Tests aufgetretenen Verarbeitungs- und Systemfehler waren minimal und lagen innerhalb der Annahmekriterien. Mit insgesamt zwölf (12) unbestimmten (Indeterminate, IND) und sieben (7) offenen (Unresolved, UNR) Ergebnissen betrug der Anteil unbestimmter Ergebnisse 1,48 % (95%-KI: 0,85–2,57 %) und der Anteil offener Ergebnisse 0,86 % (95%-KI: 0,42–1,77 %). Der Gesamtanteil gültiger Ergebnisse betrug 97,7 % (95%-KI: 96,4–98,5%).

Von den 723 erhaltenen gültigen Ergebnissen wurden 165 vom NeuMoDx HIV-1 Quant Assay als positiv gemeldet; entsprechende Konzentrationswerte wurden auch im Referenztest erhalten. Deming- und Passing-Bablok-Regressionsanalysen wurden zur Korrelation der Konzentrationswerte des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay mit den im Referenztest erhaltenen Werten verwendet.

Um für alle getesteten Proben die Korrelation zwischen den mit dem NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ermittelten Konzentrationen und den Konzentrationswerten aus dem Referenztest zu ermitteln, wurden Regressions- und Residuenplots mit den von beiden Methoden zugewiesenen Konzentrationen generiert. In *Abbildung 5 und 6* sind die mit der Deming-Methodenanalyse bzw. der Passing-Bablok-Methode generierten Plots dargestellt. Die Qualität der Deming-Regressionsanpassung wird durch einen Steigungskoeffizienten von 0,975 (95%-KI: 0,939, 1,011) und einen Achsenabschnitt (Bias) von $-0,121$ (95%-KI: $-0,276$, $0,033$) illustriert. Diese Werte demonstrieren, dass die mit dem NeuMoDx HIV-1 Quant Assay und den Referenztests erhaltenen Konzentrationsergebnisse mit annehmbarem Bias hochkorreliert sind. Die Qualität der linearen Passing-Bablok-Anpassung wird durch einen Steigungskoeffizienten von 0,981 (95%-KI: 0,950, 1,012) und einen Achsenabschnitt (Bias) von $-0,167$ (95%-KI: $-0,288$, $-0,036$) illustriert. Auch diese Werte demonstrieren, dass die mit dem NeuMoDx HIV-1 Quant Assay und den Referenztests erhaltenen Konzentrationsergebnisse mit annehmbarem Bias hochkorreliert sind. Die Ergebnisse der Deming- und Passing-Bablok-Analysen sind nachstehend in *Tabelle 12* zusammengefasst.

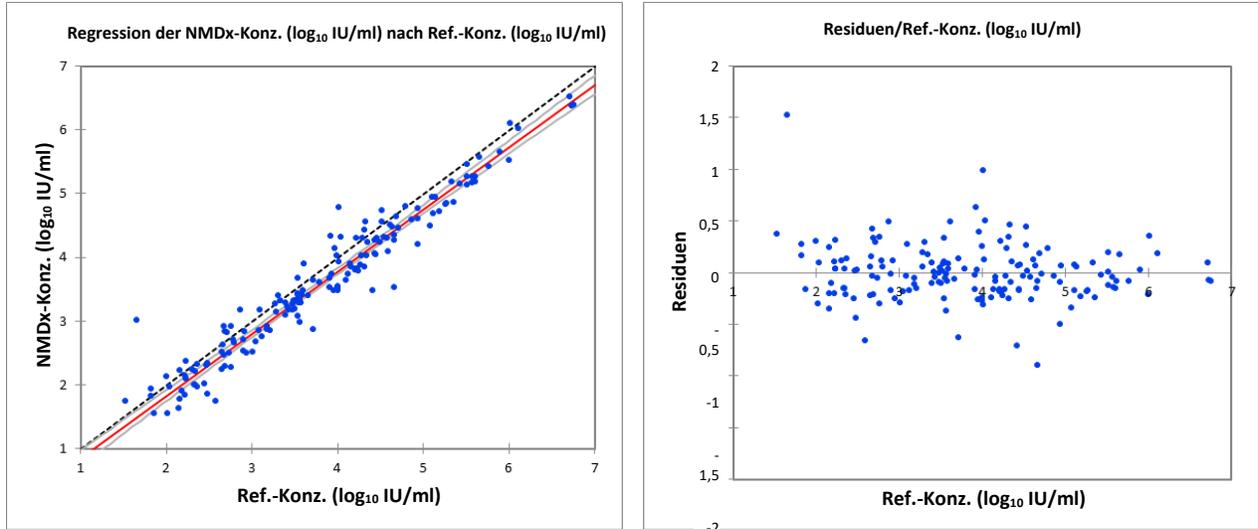


Abbildung 5: Gleichwertigkeits- (links) und Residuenplots (rechts) – kumulative Analyse des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay vs. Referenztests – Deming-Analyse

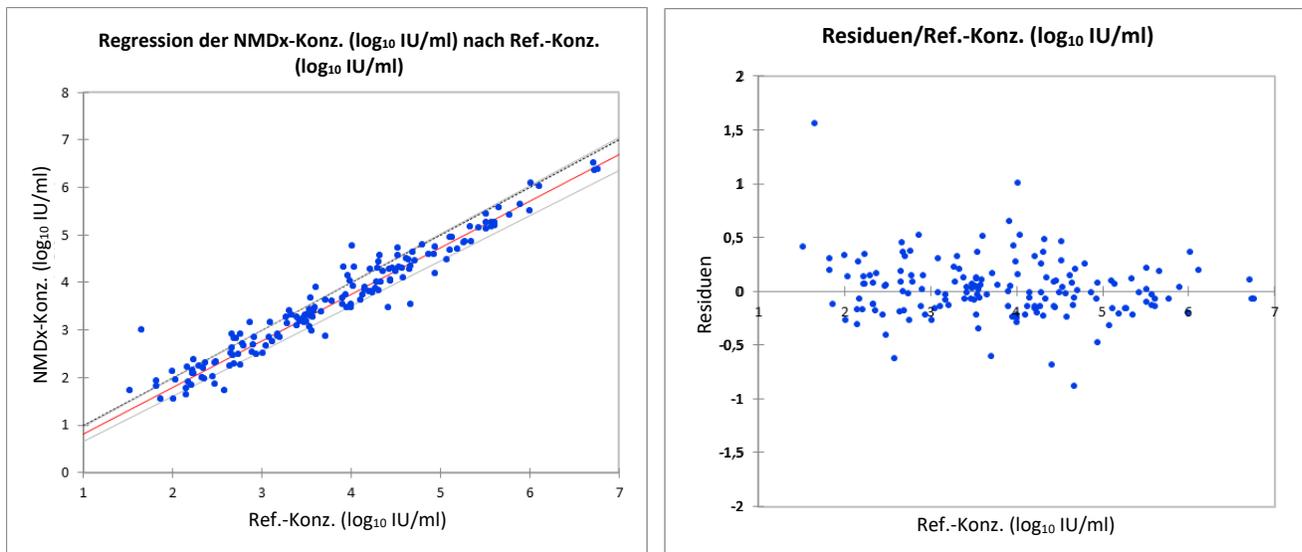


Abbildung 6: Gleichwertigkeits- (links) und Residuenplots (rechts) – kumulative Analyse des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay vs. Referenztests – Passing-Bablok-Analyse

Tabelle 12: Zusammenfassung der Deming- und linearen Passing-Bablok-Regressionsanalysen

Deming-Analyse		Passing-Bablok-Analyse	
Achsenabschnitt	Steigungskoeffizient	Achsenabschnitt	Steigungskoeffizient
-0,121	0,975	-0,167	0,981
95-%-KI (-0,276, 0,033)	95-%-KI (0,939, 1,011)	95-%-KI (-0,288, -0,036)	95-%-KI (0,950, 1,012)

Von den 723 mit dem NeuMoDx HIV-1 Quant Assay erhaltenen gültigen Ergebnisse wurden von den Referenztests 171 als positiv und 552 als negativ gemeldet. Sensitivität und Spezifität des NeuMoDx HIV-1 Quant Assay wurden im Vergleich mit den Referenztests berechnet. Die Ergebnisse sind nachstehend in *Tabelle 13* zusammengefasst. Von den 171 getesteten positiven Proben wurden 165 vom NeuMoDx HIV-1 Quant Assay als positiv gemeldet, was einer Sensitivität von 96,5 % (95-%-KI: 92,6–98,4 %) entspricht. Von den 552 getesteten negativen Proben wurden 551 vom NeuMoDx HIV-1 Quant Assay als negativ gemeldet, was einer Spezifität von 99,8 % (95-%-KI: 99,0–100%) entspricht.

Tabelle 13: Ergebnisse des qualitativen Methodenvergleichs für den NeuMoDx HIV-1 Quant Assay vs. Referenztests

		Referenztest		
		HIV-1	Positive (Positiv)	Negative (Negativ)
NeuMoDx	Positive (Positiv)	165	1	166
	Negative (Negativ)	6	551	557
	Gesamt	171	552	723
Sensitivität = 96,5 % (95%-KI 92,6–98,4 %)				
Spezifität = 99,8 % (95%-KI 99,0–100 %)				

Darüber hinaus wurden 12 handelsübliche Serokonversions-Panels, einschließlich 75 individueller Plasmaproben, mit dem NeuMoDx HIV-1 Quant Assay verarbeitet, um zu demonstrieren, dass der Nachweis von HIV-1-RNA früher möglich ist als der von Antikörpern/Antigenen mit handelsüblichen Tests. In die Analyse wurden Panel-Mitglieder mit den Status „vor Serokonversion“, „frühe Serokonversion“ und „Serokonversion“ eingeschlossen. Es wurde eine Analyse durchgeführt, um die erste Blutabnahme, bei der HIV-1-RNA mit dem NeuMoDx HIV-1 Quant Assay nachgewiesen wird, mit der ersten Blutabnahme, die mit handelsüblichen FDA-/CE-IVD-zertifizierten Bluttests positiv auf HIV-1-Antikörper/-Antigene (Ak/Ag) getestet wird, zu vergleichen. Für alle getesteten Panels konnte der NeuMoDx HIV-1 Quant Assay HIV-1-RNA mindestens eine Blutabnahme früher nachweisen als die Bluttests für den Antikörper-/Antigennachweis. Die Ergebnisse sind in *Tabelle 14* zusammengefasst.

Tabelle 14: Serokonversions-Panel-Vergleich – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay vs. Bluttest auf HIV-1-Ak/Ag

Panel-ID	Blutabnahmetag mit erstem positivem Ergebnis	
	NeuMoDx HIV-1 Quant Assay	HIV-1-Ak-/Ag-Bluttest
PRB969	4	7
PRB968	5	7
0600-0230	2	4
0600-0270	2	3
0600-0258	2	3
0600-0244 (PRB962)	3	5
0600-0272	3	4
PRB967	2	4
PRB964	3	6
PRB963	4	6
0600-0263	5	7
PRB956	2	4

Zusätzliche Analysen wurden durchgeführt, um die erste Blutabnahme, bei der HIV-1-RNA mit dem NeuMoDx HIV-1 Quant Assay nachgewiesen wird, mit der ersten HIV-1-RNA-positiven Blutabnahme bei Untersuchung mit handelsüblichen FDA-/CE-IVD-zertifizierten NAT-Tests zu vergleichen. Für alle getesteten Panels wies der NeuMoDx HIV-1 Quant Assay HIV-1-RNA bei der gleichen Blutabnahme nach wie die anderen NAT-Tests für den Nachweis von HIV-1-RNA. In zwei Panels konnte der NeuMoDx HIV-1 Quant Assay die HIV-1-RNA eine Blutabnahme früher nachweisen als andere NAT-Tests. Die Ergebnisse sind in *Tabelle 15* zusammengefasst.

Tabelle 15: Serokonversions-Panel-Vergleich – NeuMoDx HIV-1 Quant Assay vs. NAT für HIV-1-RNA

Panel-ID	Blutabnahmetag mit erstem positivem Ergebnis	
	NeuMoDx HIV-1 Quant Assay	Referenz-NAT
PRB969	4	4
PRB968	5	5
0600-0230	2	2
0600-0270	2	2
0600-0258	2	2
0600-0244 (PRB962)	3	3
0600-0272	3	3
PRB967	2	2
PRB964	3	4
PRB963	4	5
0600-0263	5	5
PRB956	2	2

LITERATUR

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

MARKENNAMEN

NeuMoDx™ und NeuDry™ sind Marken von NeuMoDx Molecular, Inc.

AccuPlex™ ist eine Marke von SeraCare Life Sciences, Inc.

BD Vacutainer® ist eine eingetragene Marke von Becton, Dickinson and Company

BD und PPT™ sind Marken von Becton, Dickinson and Company

TaqMan® ist eine eingetragene Marke von Roche Molecular Systems, Inc.

Alle anderen Produktbezeichnungen, Marken und eingetragenen Marken, die in diesem Dokument ggf. auftreten, sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

SYMBOLS

SYMBOL	BEDEUTUNG
R only	Nur zur Anwendung durch Fachpersonal
	Hersteller
IVD	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Autorisierter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft
REF	Katalognummer
LOT	Chargencode
	Verfallsdatum
	Zulässiger Temperaturbereich
	Zulässiger Luftfeuchtigkeitsbereich
	Nicht zur Wiederverwendung
	Inhalt ausreichend für <n> Tests
	Gebrauchsanweisung beachten
	Vorsicht
	Biologische Risiken
CE	CE-Kennzeichnung



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



Technischer Support/Vigilanzberichterstattung: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents