

REF Testovací proužek NeuMoDx™ HIV-1 Quant Test Strip 300500
R only

UPOZORNĚNÍ: Pouze pro export do USA

IVD Pro diagnostiku *in vitro* se soustavami NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System

Chcete-li vložit aktualizace, přejděte na internetové stránky: www.qiagen.com/neumodx-ifu
Podrobné pokyny naleznete v návodu k obsluze soustavy NeuMoDx 288 Molecular System, výr. č. 40600108.
Podrobné pokyny naleznete v návodu k obsluze soustavy NeuMoDx 96 Molecular System, výr. č. 40600317.
ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

Analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, prováděná na soustavách NeuMoDx 96 Molecular System a NeuMoDx 288 Molecular System (soustava/soustavy NeuMoDx System), je automatizovaný, kvantitativní a kvalitativní diagnostický amplifikační *in vitro* test nukleových kyselin určený pro kvantifikaci a detekci RNA viru lidské imunodeficiency typu 1 (HIV-1) v lidské plazmě.

Analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay je určena pro použití ve spojení s klinickou přítomností a jinými laboratorními markery pro prognózu onemocnění pro použití jako pomůcka při klinické léčbě pacientů infikovaných virem HIV-1 a monitorování účinků antiretrovirové léčby, měřeno změnami plazmatických hladin RNA HIV-1. Tato analýza dokáže stanovit RNA HIV-1 v rozsahu 34,2 až $5,0 \times 10^7$ IU/ml (1,5–7,7 \log_{10} IU/ml). Analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay je validována pro kvantifikaci RNA ze skupiny M viru HIV-1 (podtypy A, B, C, D, F, G, H, K, CRF01_AE, CRF02_AG) N, O a P.

Analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay je určena jako pomůcka při diagnostice infekce HIV-1, včetně akutní nebo primární infekce. Přítomnost RNA HIV-1 v plazmě u pacientů bez protilátek proti HIV-1 svědčí o akutní nebo primární infekci HIV-1. Analýzu NeuMoDx HIV-1 Quant Assay je možné použít jako doplňkový test pro vzorky, které mají u schválených imunotestů na HIV opakované reaktivní výsledky a jako potvrzení infekce HIV-1.

Analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay není určena k použití jako HIV-1 vyšetřovací test dárce na přítomnost HIV-1 v krvi nebo přípravcích z krve.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Pro přípravu plazmy může být použita plná lidská krev, která je odebírána do sterilních zkumavek pro odběr krve, jež obsahují buď kyselinu ethylendiamintetraoctovou (Ethylendiaminetetraacetic Acid, EDTA), nebo kyselinu-citrát-dextrózu (Acid Citrate-Dextrose, ACD) jako antikoagulant, anebo do zkumavek pro přípravu plazmy (Plasma Preparation Tubes, PPT). Při přípravě na testování se do soustavy NeuMoDx System vloží pomocí stojanu na zkumavky se vzorkem plazma v sekundární zkumavce se vzorkem nebo frakcionovaná krev v primární zkumavce se vzorkem, které jsou kompatibilní se soustavou NeuMoDx System, a začne zpracování. U každého vzorku se poměrné množství 600 μ l vzorku plazmy smíchá s lýzovým pufrém NeuMoDx Lysis Buffer 3 a soustava NeuMoDx System automaticky provede všechny kroky nezbytné k extrakci cílové nukleové kyseliny, přípravě izolované RNA pro polymerázovou řetězovou reakci s reverzní transkripcí (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) v reálném čase a, pokud jsou přítomny, k amplifikaci a detekci produktů amplifikace (úseky genomu HIV-1 v konzervovaných oblastech). Analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay obsahuje kontrolu zpracování vzorků RNA (Sample Process Control, SPC2), která pomáhá sledovat přítomnost možných inhibičních látek a také selhání soustavy NeuMoDx System nebo reagentie, ke kterému může dojít během extrakce a amplifikace.

Virus lidské imunodeficiency (HIV) je etiologickým původcem syndromu získané imunodeficiency (AIDS) a je rozdělen do dvou hlavních typů, z nichž častější a patogenní je HIV typu 1 (HIV-1). HIV-1 může být přenášen pohlavním stykem, kontaktem s infikovanou krví nebo krevními produkty anebo infikovanou matkou na plod.¹⁻⁴ Akutní infekce HIV-1, charakterizovaná příznaky podobné chřipce, se vyvíjí 3 až 5 týdnů po počáteční infekci a je spojena s vysokými hladinami virémie. Imunitní odpověď specifická pro HIV-1 je detekovatelná do 4 až 6 týdnů od nástupu příznaků.⁵⁻⁹

Po sérokonverzi se většina pacientů dostane do asymptomatické fáze, která může trvat roky. Kvantitativní měření hladin RNA HIV-1 v periferní krvi významně přispělo k pochopení patogeneze infekce HIV-1 a ukázalo se, že je nezbytným parametrem v prognóze a léčbě osob infikovaných HIV-1.¹⁰⁻¹¹ Rozhodnutí týkající se zahájení nebo změn v antiretrovirové léčbě se řídí monitorováním plazmatických hladin RNA HIV-1 (virové zátěže), počtem CD4+ T buněk a klinickým stavem pacienta.¹²⁻¹⁷ Cílem antiretrovirové léčby je potlačení replikace HIV-1 pod detekovatelné úrovně v současné době dostupných testů virové zátěže. Hladiny virů v periferní krvi mohou být kvantifikovány měřením antigenu HIV p24 v séru, kvantitativní kultivací HIV z plazmy anebo přímým měřením virové RNA v plazmě pomocí technologie amplifikace nukleové kyseliny nebo amplifikace signálu.⁹⁻¹¹ Molekulární techniky, jako je polymerázová řetězová reakce zprostředkovaná reverzní transkripcí, byly široce používány pro amplifikaci nukleových kyselin.¹¹ Analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay využívá technologii RT-PCR s homogenní detekcí fluorescence v reálném čase. Analýza zahrnuje amplifikaci a detekci dvojitého cíle, zaměřující se na dvě nezávislé oblasti genomu HIV-1. Kromě toho degenerované provedení analýzy umožňuje detekci různých podtypů skupiny M (A, B, C, D, F, G, H, K), včetně cirkulujících rekombinantních forem a izolátů skupin N, O a P. Výsledky analýzy jsou uváděny v mezinárodních jednotkách na ml (IU/ml).

PRINCIPY POSTUPU

Analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay v sobě spojuje automatizovanou extrakci RNA a amplifikaci/detekci pomocí RT-PCR v reálném čase. K přípravě plazmy se odebírají vzorky plné krve ve zkumavkách s obsahem EDTA, ACD nebo PPT. Primární vzorek (frakcionované) krve nebo plazmatický alikvotní podíl v kompatibilní sekundární zkumavce se vzorkem je označen čárovým kódem a umístěn do soustavy NeuMoDx System. Soustava NeuMoDx System automaticky nasaje alikvotní podíl plazmy, smíchá jej s pufrém NeuMoDx Lysis Buffer 3 a reagentiemi obsaženými na destičce NeuMoDx Extraction Plate a zahájí zpracování. Soustava NeuMoDx System automatizuje a integruje extrakci a zkoncentrování RNA, přípravu reagentií a amplifikaci/detekci nukleové kyseliny cílových sekvencí pomocí RT-PCR v reálném čase. Zahrnutá kontrola zpracování vzorku (Sample Process Control, SPC2) pomáhá monitorovat přítomnost inhibičních látek, selhání soustavy, procesu nebo reagentií. Jakmile je vzorek vložen do soustavy NeuMoDx System, není nutný žádný zásah obsluhy.

Soustava NeuMoDx System k automatickému provedení lýzy, extrakce RNA a odstranění inhibitorů využívá kombinaci zahřívání, lytického enzymu a extrakčních reagensů. Uvolněné nukleové kyseliny jsou zachyceny paramagnetickými částicemi. Částice s navázanou nukleovou kyselinou jsou vloženy do kazety NeuMoDx Cartridge, kde jsou nenavázané prvky vymyty promývací reagensí NeuMoDx Wash Reagent. Navázaná RNA se potom eluuje za použití uvolňovací reagensie NeuMoDx Release Reagent. Soustava NeuMoDx System eluovanou RNA využije k rehydrataci proprietárních amplifikačních reagensů NeuDry™, které obsahují všechny prvky nezbytné k amplifikaci cílů HIV-1 a SPC2. Tímto je umožněna simultánní amplifikace a detekce jak cíle, tak kontrolních sekvencí RNA. Po rekonstituci suchých reagensů RT-PCR nadávkuje soustava NeuMoDx System připravenou RT-PCR-ready směs do jedné PCR komory (na každý vzorek) zásobníku NeuMoDx Cartridge. K reverzní transkripci, amplifikaci a detekci kontrolních a cílových (pokud jsou přítomné) sekvencí dochází v PCR komoře. Kazeta NeuMoDx Cartridge je navržena tak, aby obsahovala amplikon po RT-PCR, čímž se prakticky eliminuje riziko kontaminace po amplifikaci.

Amplifikované cíle jsou detekovány v reálném čase pomocí chemizmu hydrolyzační sondy (běžně označované jako chemizmus TaqMan®) za použití fluorogenních oligonukleotidových molekul sondy, specifických pro amplikony jejich příslušných cílů. Sondy TaqMan sestávají z fluoroforu, kovalentně připojeného k 5' konci oligonukleotidové sondy, a ze zhášedla na 3' konci. Zatímco sonda je intaktní, fluorofor a zhášedlo jsou v blízkosti, čímž molekula zhášedla potlačuje fluorescenci emitovanou fluoroforem přes Försterův rezonanční přenos energie (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Sondy TaqMan jsou určeny k reasociaci DNA v úseku amplifikovaném specifickou sadou primerů. Jak polymeráza Taq DNA prodlužuje primer a syntetizuje nové vlákno, 5' až 3' exonukleázová aktivita polymerázy Taq DNA degraduje sondu, která reasociovala na templát. Degradací sondy se uvolňuje fluorofor a narušuje její blízkost ke zhášedlu, takže účinek zhášení je v důsledku FRET překonán a detekce fluoroforu je možná. Výsledný fluorescenční signál detekovaný kvantitativní RT-PCR v termocyklu soustavy NeuMoDx System je přímo úměrný uvolněnému fluoroforu a může souviset s množstvím přítomného cíle.

Sonda TaqMan značená fluoroforem (excitace: 490 nm a emise: 521 nm) na 5' konci a tmavým zhášedlem na 3' konci se používá k detekci RNA HIV-1. Pro detekci SPC2 je TaqMan sonda označena alternativním fluorescenčním barvivem (excitace: 535 nm a emise: 556 nm) na 5' konci a tmavým zhášedlem na 3' konci. Software soustavy NeuMoDx System monitoruje fluorescenční signál vydávaný sondami TaqMan na konci každého amplifikačního cyklu. Když je amplifikace hotova, software soustavy NeuMoDx System údaje analyzuje a podá zprávu o výsledku (POSITIVE (POZITIVNÍ) / NEGATIVE (NEGATIVNÍ) / INDETERMINATE (NEURČITÝ) / UNRESOLVED (NEROZLIŠENO)). Pokud je výsledek pozitivní a vypočítaná koncentrace je v mezích stanovitelnosti, software soustavy NeuMoDx System také poskytuje kvantitativní hodnotu spojenou se vzorkem.

REAGENCIE / SPOTŘEBNÍ MATERIÁL

Dodaný materiál

| REF. | Obsah | Počet testů na jednotku | Počet testů v balení |
|--------|--|-------------------------|----------------------|
| 300500 | Testovací proužek NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip <i>Suché reagensie RT-PCR obsahující TaqMan sondu a primery specifické pro HIV-1 a SPC2</i> | 16 | 96 |

Další potřebné materiály (k dispozici samostatně)

| REF. | Obsah |
|--------|---|
| 100200 | Extrakční destička NeuMoDx Extraction Plate <i>Suché paramagnetické částice, lytický enzym a kontroly zpracování vzorků</i> |
| 800304 | Kalibrátory NeuMoDx HIV-1 Calibrator <i>Jednorázové sady kalibrátorů vysokých a nízkých hodnot HIV-1 pro stanovení validity standardní křivky</i> |
| 900301 | Externí kontroly NeuMoDx HIV-1 External Control <i>Jednorázové sady HIV-1 pozitivních a negativních kontrol</i> |
| 400600 | Pufr NeuMoDx Lysis Buffer 3 |
| 400100 | Promývací reagensie NeuMoDx Wash Reagent |
| 400200 | Uvolňovací reagensie NeuMoDx Release Reagent |
| 100100 | Zásobník NeuMoDx Cartridge |
| 235903 | Hroty Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 µl) s filtry |
| 235905 | Hroty Hamilton CO-RE / CO-RE II (1 000 µl) s filtry |

Potřebné přístrojové vybavení

Molekulární soustava **NeuMoDx 288 Molecular System** [REF 500100] nebo **NeuMoDx 96 Molecular System** [REF 500200]



VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Testovací proužek NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip je určen pouze pro diagnostiku *in vitro* se soustavami NeuMoDx Molecular System.
- Spotřební materiál ani reagentie po uvedené době expirace nepoužívejte.
- Nepoužívejte žádné reagentie, pokud je bezpečnostní těsnění rozbito nebo je při dodání poškozen obal.
- Spotřební materiál nebo reagentie nepoužívejte, pokud je ochranný váček při dodání otevřený nebo rozbitý.
- Než je možné výsledky testu generovat pro klinické vzorky, musí být k dispozici platná kalibrace testování (generovaná zpracováním kalibrátorů vysokých a nízkých hodnot z kalibrátorů NeuMoDx HIV-1 Calibrator [REF 800304]).
- Externí kontroly (z externích kontrol NeuMoDx HIV-1 External Control [REF 900301]) musejí být zpracovány každých 24 hodin během testování pomocí analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.
- Minimální objem vzorku sekundárních alikvotních podílů závisí na velikosti zkumavky / stojanu na zkumavky se vzorkem tak, jak je definováno níže. Objem menší, než je specifikované minimum, může vést k chybě „Quantity Not Sufficient“ (Nedostatečné množství).
- Použití vzorků skladovaných při nesprávných teplotách nebo po uplynutí specifikovaných dob skladování může vést k neplatným nebo chybným výsledkům.
- U všech reagentií a spotřebního materiálu zabraňte mikrobiální a ribonukleázové (RNázové) kontaminaci. Při používání sekundárních zkumavek se doporučuje používat sterilní jednorázové přenosové pipety bez RNázy. Na každý vzorek použijte novou pipetu.
- Abyste předešli kontaminaci, s kazetou NeuMoDx Cartridge po amplifikaci nemanipulujte ani ji nerozebírejte. Za žádných okolností nevyjímejte kazety NeuMoDx Cartridge z nádoby na biologicky nebezpečný odpad (NeuMoDx 288 Molecular System) nebo z koše na nebezpečný biologický odpad (NeuMoDx 96 Molecular System). Zásobník NeuMoDx Cartridge je zkonstruován tak, aby kontaminaci zabránil.
- V případě, že laboratoř provádí také testy PCR s otevřenými zkumavkami, musí být zajištěno, že testovací proužek NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, přídatný spotřební materiál a reagentie nezbytné k testování, ochranné osobní prostředky, jako například rukavice a laboratorní pláště, a soustava NeuMoDx System nejsou kontaminovány.
- Při manipulaci s reagentiemi a spotřebním materiálem NeuMoDx byste měli nosit čisté nitrilové rukavice bez obsahu pudru. Měli byste dávat pozor, abyste se nedotýkali vrchního povrchu zásobníku NeuMoDx Cartridge, fóliového těsnění testovacího proužku NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip a extrakční destičky NeuMoDx Extraction Plate nebo vrchního povrchu lýzového pufru NeuMoDx Lysis Buffer 3; při manipulaci se spotřebním materiálem a reagentiemi byste se měli dotýkat pouze bočních stran.
- Pro každou reagentii jsou, v příslušných případech, poskytnuty bezpečnostní listy (BL), které jsou k dispozici na internetové stránce www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Po provedení testu si důkladně umyjte ruce.
- Nepipetujte ústy. Nekuřte, nepijte ani nejezte v oblastech, kde se manipuluje se vzorky nebo reagentiemi.
- Se vzorky vždy zacházejte tak, jako by byly infekční. Postupujte v souladu s bezpečnými laboratorními postupy, například těmi popsány v publikaci *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁸ a v dokumentu M29-A4¹⁹ institutu CLSI.
- Nepoužité reagentie a odpad likvidujte podle státních, federálních, oblastních a místních předpisů.



UCHOVÁVÁNÍ, MANIPULACE A STABILITA PRODUKTU

- Testovací proužky NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip jsou stabilní v primárním obalu po dobu expirace, která je uvedena na štítku produktu, při uchování při teplotě mezi 15–23 °C.
- Testovací proužky NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip jsou dodávány v izolovaném obalu, který obsahuje balíčky gelové chladicí kapaliny.
- Po uplynutí uvedené doby expirace spotřební materiály ani reagentie nepoužívejte.
- Nepoužívejte žádný testovací produkt, pokud byl primární či sekundární obal viditelně narušen.
- Nevkládejte žádný produkt testu, který byl již dříve vložen do jiné soustavy NeuMoDx System.
- Testovací proužek NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip může po vložení zůstat v přístroji soustavy NeuMoDx System po dobu sedmi (7) dnů. Zbývající životnost vložených testovacích proužků je sledována pomocí softwaru a hlášena uživateli v reálném čase. Soustava vyzve k vyjmutí testovacího proužku, který byl používán po uplynutí povolené doby.
- I když kalibrátory a externí kontroly NeuMoDx nejsou infekční, po použití je likvidujte s laboratorním biologicky nebezpečným odpadem, aby se snížilo riziko kontaminace obsaženou cílovou nukleovou kyselinou.

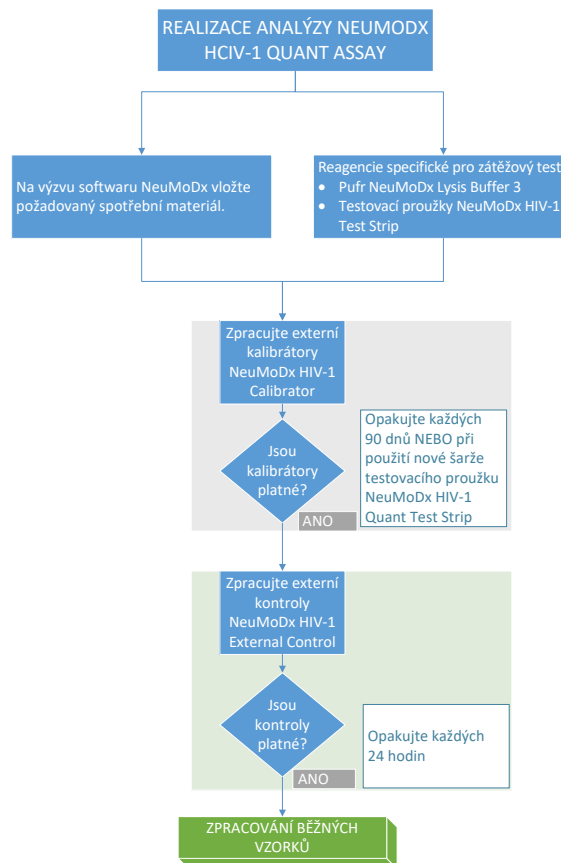
ODBĚR, PŘEPRAVA A UCHOVÁVÁNÍ VZORKŮ



1. Se všemi vzorky, kalibrátory a kontrolami zacházejte, jako kdyby byly schopné přenosu infekčních agens.
2. Plnou krev nebo jakékoli vzorky skladované v původních zkumavkách nezmrazujte.
3. Pro přípravu vzorků plazmy by měla být plná krev odebrána do sterilních zkumavek za použití EDTA nebo ACD jako antikoagulantů. Při přípravě a skladování postupujte podle pokynů výrobce zkumavky pro odběr vzorků.
4. Vzorky lze testovat v primárních odběrových zkumavkách nebo v sekundárních zkumavkách se vzorky. Doporučeno pro testování v primárních zkumavkách: Zkumavka BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD č. 368589) nebo BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD č. 362799).

5. Připravené vzorky plazmy mohou být před zpracováním uchovávány na soustavě NeuMoDx System po dobu až 8 hodin. Pokud je třeba delší doby skladování, doporučujeme vzorky buď zchladit, nebo zmrazit jako sekundární alikvotní podíly plazmy.
6. Připravené vzorky plazmy by při teplotě 2 až 8 °C neměly být před testováním skladovány déle než 7 dnů a maximálně 8 hodin při pokojové teplotě.
7. Připravené vzorky mohou být v případě plazmy před zpracováním skladovány při teplotě ≤ -20 °C po dobu až 8 týdnů.
 - a. Pokud jsou vzorky zmrazené, nechte je úplně rozmrazit při pokojové teplotě (15–30 °C); pro vytvoření rovnoměrně rozloženého vzorku složek vzorek zviřte.
 - b. Jakmile jsou zmrazené vzorky rozmrazeny, testování by mělo proběhnout do 8 hodin.
 - c. Vzorky plazmy by před použitím neměly být podrobeny více než 4 cyklům zmrazení/rozmrazení.
8. Pokud jsou vzorky přepravovány, měly by být zabaleny a označeny v souladu s platnými předpisy země a/nebo mezinárodními předpisy.
9. Zřetelně vzorky označte a uveďte, že se jedná o vzorky k testování HIV-1.
10. Přejděte k části *Příprava testu*.

Celý proces realizace analýzy NeuMoDx HIV-1 je shrnutý níže na *obrázku 1*.



Obrázek 1: Pracovní postup při realizaci analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

NÁVOD K POUŽITÍ

Příprava testu

1. Na zkumavku se vzorkem, kompatibilní se soustavou NeuMoDx System, nalepte štítek s čárovým kódem na vzorky. Primární odběrová zkumavka na krev může být označena a po odstředění umístěna přímo do 24- nebo 32místného stojanu na zkumavky se vzorky, viz pokyny výrobce. Alternativně může být alikvotní podíl plazmy přenesen do sekundární zkumavky pro zpracování v soustavě NeuMoDx System.
2. Pokud testujete vzorek v primární odběrové zkumavce, vložte zkumavku označenou čárovým kódem do stojanu na zkumavky se vzorkem a před vložením do soustavy NeuMoDx System se ujistěte, že je sejmuto víčko.

3. Pokud používáte sekundární zkumavku, přeneste alikvotní podíl plazmy do zkumavky se vzorkem s čárovým kódem, která je kompatibilní se soustavou NeuMoDx System podle objemů definovaných níže:
 - Stojan na zkumavky se vzorkem (32 zkumavek): průměr 11–14 mm a výška 60–120 mm; minimální plnicí objem je $\geq 750 \mu\text{l}$
 - Stojan na zkumavky se vzorkem (24 zkumavek): průměr 14,5–18 mm a výška 60–120 mm; minimální plnicí objem je $\geq 1200 \mu\text{l}$
 - Stojan na zkumavky se vzorkem o malém objemu (32 zkumavek): 1,5ml mikrocentrifugační zkumavka s kónickým dnem; minimální plnicí objem je $\geq 700 \mu\text{l}$

Provoz soustavy NeuMoDx System

Podrobné pokyny jsou uvedeny v návodech k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288 Molecular System a NeuMoDx 96 Molecular System (výr. č. 40600108 a 40600317).

1. Osadte jeden nebo více stojanů na testovací proužky NeuMoDx System Test Strip testovacím proužkem (testovacími proužky) NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip a k založení stojanu (stojanů) na testovací proužky do soustavy NeuMoDx System použijte dotykovou obrazovku.
2. Pokud vás software soustavy NeuMoDx System vyzve, přidejte potřebné spotřební materiály ke stojanům na spotřební materiál soustavy NeuMoDx System nezbytný spotřební materiál a pomocí dotykové obrazovky vložte stojany do soustavy NeuMoDx System.
3. Pokud vás software soustavy NeuMoDx System vyzve, vyměňte podle potřeby promývací reagenty NeuMoDx Wash Reagent, uvolňovací reagenty NeuMoDx Release Reagent, vyprázdněte odpadní reagenty z plnění, nádobu na biologicky nebezpečný odpad (pouze molekulární soustava NeuMoDx 288 Molecular System), odpadní koš na hroty (pouze molekulární soustava NeuMoDx 96 Molecular System) nebo koš na nebezpečný biologický odpad (pouze molekulární soustava NeuMoDx 96 Molecular System).
4. Pokud vás software soustavy NeuMoDx System vyzve, zpracujte kalibrátory NeuMoDx HIV-1 Calibrator [REF 800304] a/nebo externí kontroly NeuMoDx HIV-1 External Control [REF 900301]. Další informace týkající se kalibrátorů a kontrol lze najít v části *Zpracování výsledků*.
5. Zkumavku (zkumavky) se vzorky/kalibrátory/kontrolami vložte do běžného stojanu na zkumavky se vzorkem a ujistěte se, že jsou ze všech zkumavek odstraněna víčka.
6. Stojan (stojany) na zkumavky se vzorky umístěte na přihrádku automatického podavače a k vložení stojanu (stojanů) do soustavy NeuMoDx System použijte dotykovou obrazovku. Tím se zahájí zpracování vložených vzorků pro identifikované testy, pokud je v soustavě přítomna platná objednávka testů.

OMEZENÍ

1. Testovací proužek NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip lze použít pouze na soustavách NeuMoDx Molecular System.
2. Účinnost testovacího proužku NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip byla stanovena u vzorků plazmy připravených z plné krve odebrané s EDTA/ACD jako antikoagulantem. Použití testovacího proužku NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip nebylo u jiných zdrojů posuzováno a výkonové charakteristiky nejsou pro jiné typy vzorků známy.
3. Výkonnost testovacích proužků NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip byla stanovena pro testování v primární zkumavce za použití zkumavek BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tube a zkumavek pro přípravu plazmy BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube.
4. Analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay se nesmí používat se vzorky od osob užívajících heparin.
5. Vzhledem k tomu, že detekce HIV-1 závisí na množství virových částic přítomných ve vzorku, závisí spolehlivost výsledků na správném odběru vzorků, zacházení s nimi a jejich skladování.
6. Kalibrátory NeuMoDx HIV-1 Calibrator a externí kontroly NeuMoDx HIV-1 External Control musejí být zpracovány podle doporučení vložených do balení a na výzvu softwaru soustavy NeuMoDx System před zpracováním běžných klinických vzorků.
7. K chybným výsledkům testů může dojít kvůli nesprávnému odběru vzorků, zacházení s nimi, jejich nevhodnému skladování, technické chybě nebo nesprávné identifikaci zkumavek se vzorkem. Kromě toho by se mohly objevit falešně negativní výsledky kvůli tomu, že množství virových částic ve vzorku je pod mezí detekce analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.
8. Obsluha soustavy NeuMoDx System je omezena pouze na personál vyškolený v používání soustavy NeuMoDx System.
9. Pokud se ani cílový HIV-1, ani cílová SPC2 neamplifikují, bude oznámen neplatný výsledek (Indeterminate (Neurčitý) nebo Unresolved (Nerozlišeno)) a test by měl být zopakován.
10. Pokud je výsledek analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay Positive (Pozitivní), ale hodnota stanovitelnosti je mimo meze stanovitelnosti, soustava NeuMoDx System oznámí, zda byl detekovaný HIV-1 pod dolní mezí stanovitelnosti (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) nebo nad horní mezí stanovitelnosti (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
11. V případě, že byl detekovaný HIV-1 pod LLoQ, může být analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay zopakována (podle přání) s jiným alikvotním podílem vzorku.
12. V případě, že byl detekovaný HIV-1 nad ULoQ, může být analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay zopakována se zředěným alikvotním podílem původního vzorku. Doporučujeme ředění 1 : 100 nebo 1 : 1 000 v HIV-1 negativní plazmě nebo diluentu Basematrix 53 Diluent (Basematrix; SeraCare, Milford, MA). Koncentraci původního vzorku lze vypočítat takto:

$$\text{Původní koncentrace vzorku} = \log_{10}(\text{faktor ředění}) + \text{ohlášená koncentrace zředěného vzorku.}$$
13. Příležitostná přítomnost inhibitorů PCR v plazmě může vést k chybě stanovení soustavy. Pokud k tomu dojde, doporučujeme opakovat test se stejným vzorkem naředěným v diluentu Basematrix v poměru 1 : 10 nebo 1 : 100.

14. Pozitivní výsledek nemusí nutně znamenat přítomnost životaschopného HIV-1. Avšak pozitivní výsledek je pro přítomnost RNA HIV-1 presumptivní.
15. Delece nebo mutace v konzervovaných oblastech zacílených analýzou NeuMoDx HIV-1 Quant Assay může ovlivnit detekci a vést k chybnému výsledku.
16. Výsledky analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay by měly být použity jako doplněk klinických pozorování a dalších informací, které má lékař k dispozici.
17. Aby nedošlo ke kontaminaci, doporučujeme správnou laboratorní praxi, včetně výměny rukavic mezi manipulacemi s patientskými vzorky.

ZPRACOVÁNÍ VÝSLEDKŮ

Dostupné výsledky lze zobrazit na kartě „Results“ (Výsledky) v okně Results (Výsledky) na dotykové obrazovce soustavy NeuMoDx System, případně je lze odtud vytisknout.

Výsledky analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay automaticky generuje software soustavy NeuMoDx System používající algoritmus rozhodování a parametry zpracování výsledků popsané v souboru definic analýzy NeuMoDx HIV-1 (HIV-1 ADF). Výsledek analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay může být ohlášen jako Negative (Negativní), Positive (Pozitivní) s ohlášením koncentrace HIV-1, Positive (Pozitivní) nad ULoQ, Positive (Pozitivní) pod LLoQ, Indeterminate (Neurčitý) nebo Unresolved (Nerozlišeno) na základě stavu amplifikace cíle a kontroly zpracování vzorku. Výsledky jsou uváděny na základě rozhodovacího algoritmu ADF, shrnutého níže v *tabulce 1*.

Tabulka 1: Shrnutí rozhodovacího algoritmu pro analýzu HIV-1 Quant Assay

| VÝSLEDEK* | Cíl (cíle) HIV-1 | Kontrola zpracování vzorků (Sample Process Control, SPC2) |
|---|--|---|
| Positive (Pozitivní) s ohlášenou koncentrací | Amplified (Amplifikováno), $1,5 \leq [\text{HIV-1}] \leq 7,7 \log_{10} \text{ IU/ml}$ | Amplified (Amplifikováno) nebo Not Amplified (Není amplifikováno) |
| Positive (Pozitivní), nad ULoQ | Amplified (Amplifikováno), $[\text{HIV-1}] > 7,7 \log_{10} \text{ IU/ml}$ | Amplified (Amplifikováno) nebo Not Amplified (Není amplifikováno) |
| Positive (Pozitivní), pod LLoQ | Amplified (Amplifikováno), $[\text{HIV-1}] < 1,5 \log_{10} \text{ IU/ml}$ | Amplified (Amplifikováno) nebo Not Amplified (Není amplifikováno) |
| Negative (Negativní) | Not Amplified (Není amplifikováno) | Amplified (Amplifikováno) |
| Indeterminate (Neurčitý) | Not Amplified, System Error Detected (Není amplifikováno, byla zjištěna chyba systému) | |
| Unresolved (Nerozlišeno) | Not Amplified, No System Error Detected (Neamplifikováno, Nebyla zjištěna žádná chyba systému) | |

*Rozsah kvantifikace analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay je 1,5 až 7,7 \log_{10} IU/ml. Výsledek POSITIVE (Pozitivní) naznačuje, že je detekována RNA HIV-1, a pomáhá při diagnostice infekce HIV-1. Výsledek NEGATIVE (Negativní) naznačuje, že buď RNA HIV-1 není přítomna, nebo virová zátěž je pod mezí detekce. Falešně negativní nebo falešně nízká virová zátěž může být způsobena nesprávným odběrem nebo uložením vzorků. Výsledky je nutné interpretovat v kontextu relevantních klinických a laboratorních nálezů.

Výpočet testu

1. U vzorků v mezích stanovitelnosti analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay se koncentrace RNA HIV-1 ve vzorcích počítá za pomoci uložené standardní křivky ve spojení s koeficientem kalibrace.
 - a. Koeficient kalibrace se vypočítá na základě výsledků kalibrátorů NeuMoDx HIV-1 Calibrator zpracovaných tak, aby byla zajištěna validita standardní křivky pro konkrétní šarži testovacího proužku NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip na konkrétní soustavě NeuMoDx System.
 - b. Koeficient kalibrace je do konečného stanovení koncentrace RNA HIV-1 zahrnutý.
2. Výsledky analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay se udávají jako \log_{10} IU/ml. Konverzní faktor pro analýzu NeuMoDx HIV-1 Quant Assay je 0,75 kopie/IU.
3. Výsledná kvantifikace neznámých vzorků je sledovatelná kalibrovaným referenčním materiálem získaným od institutu National Institute for Biological Standards and Control.

Kalibrace testu

Platná kalibrace na základě standardní křivky je pro kvantitativní vyjádření RNA HIV-1 ve vzorcích nezbytná. Pro získání platných výsledků musí být kalibrace testu provedena za použití kalibrátorů dodaných společností NeuMoDx Molecular, Inc.

Kalibrátory

1. Kalibrátory NeuMoDx HIV-1 Calibrator [REF 800304] obsahují cílový neinfekční zapouzdřený virus HIV-1 připravený v diluentu Basematrix.
2. Sada HIV-1 kalibrátorů musí být zpracována s každou novou šarží testovacích proužků NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, anebo pokud je do soustavy NeuMoDx System nahrán nový soubor definic analýzy HIV-1, nebo pokud je aktuální sada kalibrátorů za dobou platnosti (v současnosti nastavenou na 90 dnů), nebo pokud je software soustavy NeuMoDx System upraven.
3. Software soustavy NeuMoDx System uživatele uvědomí, kdy je třeba kalibrátory zpracovat. Novou šarží testovacích proužků nelze použít, dokud nebyly úspěšně zpracovány kalibrátory.
4. Validita kalibrace je zajištěna následovně:
 - a) Pro zajištění validity je třeba zpracovat sadu se dvěma kalibrátory – jeden (1) pro vysokou hodnotu a jeden (1) pro nízkou hodnotu.
 - b) Výsledky nejméně dvou (2) ze tří (3) replikátů musejí být v mezích předem stanovených parametrů. Nominální cíl kalibrátoru pro nízkou hladinu je $3 \log_{10}$ IU/ml a nominální cíl kalibrátoru pro vysokou hladinu je $5 \log_{10}$ IU/ml.
 - c) Kalibrační koeficient se vypočítá tak, aby zohlednil očekávanou změnu mezi šaržemi testovacích proužků. Tento koeficient kalibrace se používá při stanovení konečné koncentrace HIV-1.
5. Pokud jeden nebo oba kalibrátory kontrolou validity neprojdou, zpracování neúspěšného kalibrátoru (kalibrátorů) zopakujte za použití nové ampulky. V případě, že validitou neprojde jeden kalibrátor, je možné zopakovat pouze neúspěšný kalibrátor, jelikož soustava nevyžaduje, aby uživatel znovu kontroloval oba kalibrátory.
6. Pokud kalibrátor (kalibrátory) neprojdou kontrolou validity následovně po sobě, kontaktujte společnost NeuMoDx Molecular, Inc.

Kontrola kvality

Místní předpisy obvykle stanoví, že laboratoř je odpovědná za kontrolní postupy, které monitorují přesnost a preciznost celého analytického procesu, a musí stanovit počet, typ a četnost testů kontrolních materiálů pomocí ověřených specifikací výkonu pro nemodifikovaný a schválený testovací systém.

Externí kontroly

1. Externí kontroly NeuMoDx HIV-1 External Control [REF 900301] obsahují pozitivní kontroly cílového neinfekčního zapouzdřeného HIV-1 připraveného v diluentu Basematrix a negativní kontroly pouze diluentu Basematrix.
2. Pozitivní a negativní externí kontroly musejí být zpracovány každých 24 hodin během testování pomocí analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay. Pokud sada validních výsledků externích kontrol neexistuje, software soustavy NeuMoDx System vyzve uživatele k provedení těchto kontrol dřív, než budou moci být ohlášeny výsledky vzorků.
3. Validita externích kontrol bude vyhodnocena soustavou NeuMoDx System na základě očekávaného výsledku. Pozitivní kontrola by měla přinést výsledek HIV-1 Positive (Pozitivní) a negativní kontrola by měla přinést výsledek HIV-1 Negative (Negativní).
4. S neshodným výsledkem externích kontrol by mělo být zacházeno následovně:
 - a) Pozitivní výsledek testu ohlášený u negativní kontroly vzorku ukazuje na problém s kontaminací vzorku.
 - b) Výsledek Negative (Negativní) testu u pozitivního kontrolního vzorku může naznačovat problém související s reagentii nebo přístrojem.
 - c) V každém výše uvedeném případě anebo v případě neurčitěho výsledku (IND) externí kontroly NeuMoDx HIV-1 External Control zopakujte s čerstvými ampulkami kontrol, které testem validity neprošly.
 - d) Pokud pozitivní externí kontrola NeuMoDx HIV-1 External Control nepřestává hlásit výsledek Negative (Negativní), kontaktujte technický servis společnosti NeuMoDx.
 - e) Pokud negativní externí kontrola NeuMoDx HIV-1 External Control nepřestává hlásit výsledek Positive (Pozitivní), pokuste se eliminovat všechny zdroje možné kontaminace, včetně výměny všech reagentií, dřív než kontaktujete technický servis společnosti NeuMoDx.

Kontroly (interní) zpracování vzorků

Exogenní kontrola zpracování vzorků (Sample Process Control, SPC2) je zabudována do extrakční destičky NeuMoDx Extraction Plate a u každého vzorku prochází celým procesem extrakce nukleové kyseliny a amplifikace s real-time RT-PCR. Každý testovací proužek NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip obsahuje primery a sondu specifické pro SPC2, které umožňují detekci přítomnosti SPC2 spolu s cílovou RNA HIV-1 (pokud je přítomna) prostřednictvím multiplex RT-PCR v reálném čase. Detekce amplifikace SPC2 umožňuje soustavě NeuMoDx System sledovat účinnost extrakce RNA a procesy amplifikace pomocí RT-PCR.

Neplatné výsledky

Pokud se analýze NeuMoDx HIV-1 Quant Assay prováděné na soustavě NeuMoDx System nepodaří vyprodukovat platný výsledek, bude oznámen buď jako Indeterminate (IND) (Neurčitý), nebo Unresolved (UNR) (Nerozlišeno) na základě typu chyby, ke které došlo.

Výsledek IND bude ohlášen tehdy, pokud je během zpracování vzorků detekována chyba soustavy NeuMoDx System. V případě ohlášení výsledku IND doporučujeme test zopakovat.

Pokud nebude detekována žádná validní amplifikace RNA HIV-1 nebo SPC2, bude oznámen výsledek UNR (nevyřešený), který ukazuje na možné selhání reagentie nebo na přítomnost inhibitorů. V případě oznámení výsledku UNR se jako první krok doporučuje opakování testu. Pokud test není úspěšný, lze použít zředěný vzorek pro snížení účinků jakékoli inhibice vzorku.

VÝKONOVÁ CHARAKTERISTIKA

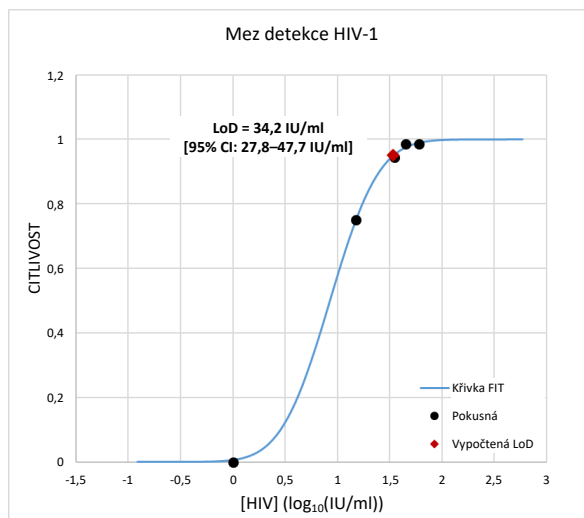
Analytická citlivost – mez detekce

Analytická citlivost analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay byla charakterizována testováním řady ředění s návazností na 3. mezinárodní standard HIV-1 WHO ve vyšetřené EDTA plazmě negativní na RNA HIV-1 za účelem stanovení meze detekce (Limit of Detection, LoD) na soustavách NeuMoDx System. LoD je definována jako nejnižší detekovaná cílová hladina při poměru $\geq 95\%$ tak, jak byla stanovena analýzou Probit. Studie byla prováděna po dobu tří (3) dnů za použití několika soustav, pracovníků obsluhy, cyklů a šarží reagentů pro analýzu NeuMoDx HIV-1 Quant Assay. Každá souprava zpracovala 12 replikátů denně u každé úrovně zředění. Míry detekce jsou uvedeny v *tabulce 2*.

Tabulka 2: Pozitivní míry detekce ke stanovení LoD analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

| Cílová koncentrace (IU/ml) | Cílová koncentrace (\log_{10} IU/ml) | Počet platných testů | Počet pozitivních vzorků | Míra detekce (%) |
|----------------------------|---|----------------------|--------------------------|------------------|
| 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% |

Prostřednictvím probitové analýzy bylo stanoveno, že LoD analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay v plazmě napříč všemi genotypy je **34,2 IU/ml (1,5 \log_{10} IU/ml)** s 95% intervalem spolehlivosti (Confidence Interval, CI) 27,8 až 47,7 IU/ml (1,4–1,7 \log_{10} IU/ml) dle testu na soustavě NeuMoDx 288 Molecular System [obrázek 2].



Obrázek 2: Probit analýza meze detekce analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Analytická citlivost – dolní mez stanovitelnosti

Nejnižší cílová hladina, při které je dosaženo detekce $> 95\%$ a celkové analytické chyby ≤ 1 , je definována jako dolní mez stanovitelnosti (Lower Limit of Quantitation, LLoQ). Za účelem stanovení LLoQ byla pro každou z cílových hladin HIV-1 jako součást výpočtu LoD spočítána celková analytická chyba (Total Analytical Error, TAE). TAE je stanovena následovně:

$$\text{TAE} = \text{odchylka} + 2 \times \text{SD} \quad (\text{Westgardova pravidla})$$

kde

Odchylka je absolutní hodnota mezi průměrem vypočítané koncentrace a očekávanou koncentrací.

SD je směrodatná odchylka kvantitativně vyjádřené hodnoty vzorku.

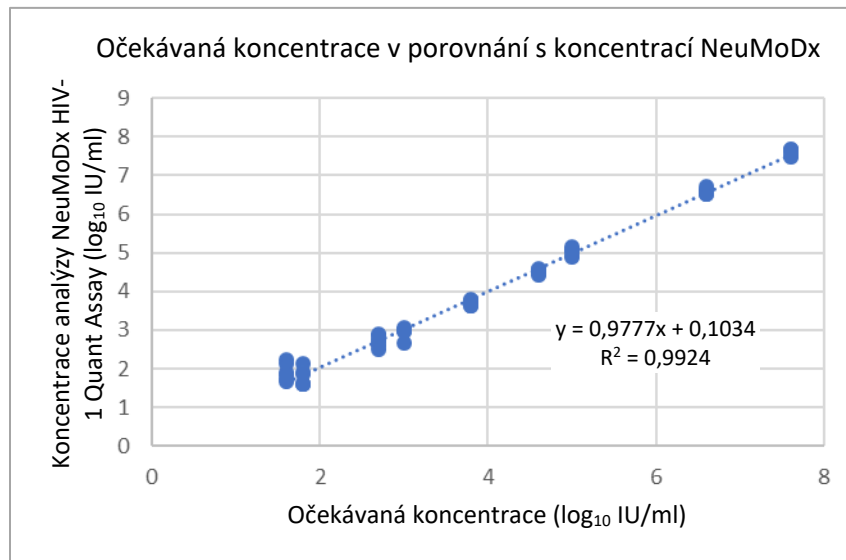
Zpracované výsledky pro čtyři (4) hladiny vzorků plazmy s HIV-1 použité při měření LLoQ za použití podtypu B jsou uvedeny v *Tabulce 3*. Protože vypočtená TAE byla ≤ 1 při hladinách HIV-1 pod LoD, analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay prokázala dolní mez stanovitelnosti ekvivalentní mezi detekce: **34,2 IU/ml (95% CI 27,8–47,7 IU/ml)** nebo **1,5 \log_{10} IU/ml (95% CI 1,4–1,7 \log_{10} IU/ml)**.

Tabulka 3: LLoQ analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, s odchylkou a TAE

| Cílová konc. (IU/ml) | Cílová konc. (log ₁₀ IU/ml) | Průměrná konc. (log ₁₀ IU/ml) | Detekce (%) | SD | Odc hylk a | 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 |

Analytická citlivost – linearita a stanovení horní meze stanovitelnosti

Linearita a horní mez stanovitelnosti (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay byly stanoveny přípravou řady ředění HIV-1 pocházející z laboratoře External Quality Assurance Program Oversight Laboratory (Duke University, NC, USA), AccuPlex™ Recombinant HIV/HCV Control (Seracare, MA, USA) a pracovními reagensii HIV-1 RNA Working Reagent 2 pro analýzy NAT (NIBSC). Ve smíšené HIV-1 RNA negativní EDTA plazmě byl připraven devítiprvkový panel, který pokrýval rozsah koncentrací 7,70–1,70 log₁₀ IU/ml. Analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay prokázala schopnost kvantifikovat HIV-1 v lineárním rozsahu 6 log₁₀ s přesností ±0,33 log₁₀ IU/ml na základě standardní chyby tak, jak byla vypočítána s 95% intervalem spolehlivosti. Použití regresní metody 2. či 3. řádu nepřineslo žádnou výraznou výhodu. Za použití údajů z tohoto měření byla ULoQ stanovena na **7,7 log₁₀ IU/ml**. Koncentrace analýzy HIV-1 ohlášené soustavou NeuMoDx System ve srovnání s očekávanými hodnotami jsou uvedeny na *Obrázku 3*.

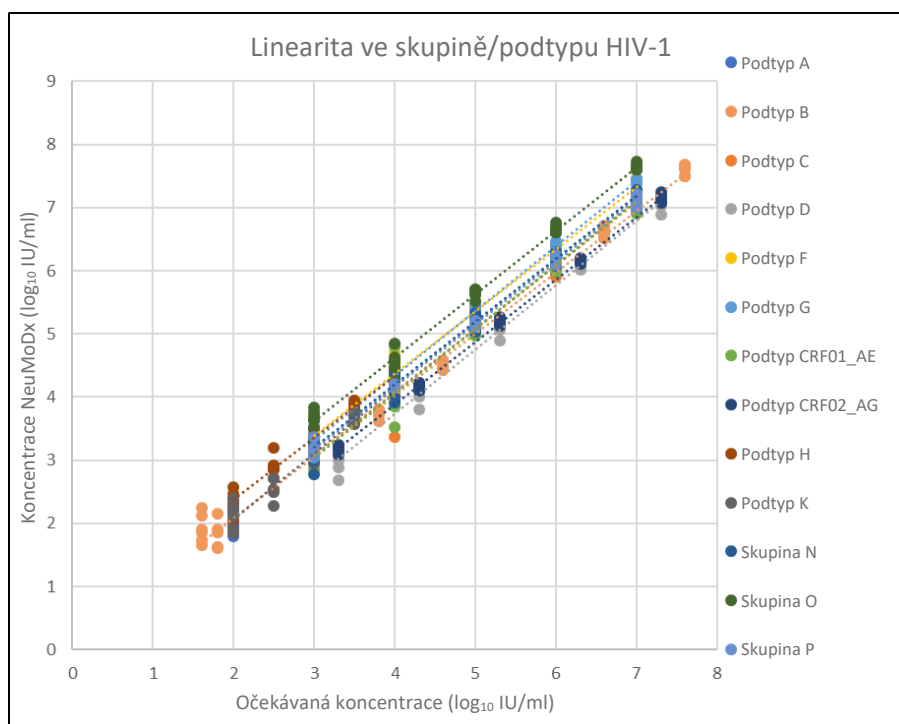

Obrázek 3: Lineární rozsah analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Analytická citlivost – linearita napříč genotypy

Linearita analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay napříč skupinami HIV-1 M (podtypy A, B, C, D, F, G, H, K, CRF01_AE, CRF02_AG), N, O a P byla charakterizována testováním nejméně pěti (5) různých koncentrací každé skupiny/podtypu HIV-1 připravených ve smíšené HIV-1 RNA negativní EDTA plazmě. Hladiny cílového HIV-1 testované v této studii závisely na koncentraci zdrojového vzorku, a tudíž se mezi skupinami/podtypy lišily. Měření proběhlo u každé skupiny/podtypu za použití šesti (6) replikátů u každé hladiny. Linearita byla v testovaných rozsazích prokázána a je uvedena v *Tabulce 4* a na *Obrázku 4*.

Tabulka 4: Linearita analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay napříč skupinami M, N, O a P

| Skupina | Podtyp | Rovnice linearity $y = \text{stanovitelnost analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay}$ (\log_{10} IU/ml) $x = \text{předpokládaná stanovitelnost}$ (\log_{10} IU/ml) | R ² |
|---------|----------|--|----------------|
| 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 |


Obrázek 4: Linearita analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay napříč podtypy

Analytická specifčnost – potenciálně interferující mikrobiální kontaminující látky

Analytická specifčnost analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay byla vyhodnocena testováním panelu mikroorganismů (*tabulka 5*) připraveného v EDTA plazmě negativní na RNA HIV-1 ve vysokých koncentracích na zkříženou reaktivitu. Potenciální interference byla posouzena za použití stejného panelu mikroorganismů připraveného v EDTA plazmě a obohaceného o HIV-1 při koncentraci 2,02 \log_{10} IU/ml. Nebyla pozorována žádná zkřížená reaktivita, přičemž všechny HIV-1 negativní mikrobiální vzorky vykázaly negativní výsledky. Všechny HIV-1 pozitivní mikrobiální vzorky vykázaly pozitivní výsledky a v těchto vzorcích nebyla pozorována žádná významná interference, což dokládá minimální odchylka hlášené kvantifikace HIV-1 od kontrolních vzorků neobsahujících žádné potenciálně interferující mikroorganismy. Další potenciální zkřížená reaktivita byla posouzena porovnáním nukleotidových sekvencí u cílových sekvencí analýzy NeuMoDx HIV Quant Assay s úplnými genomy 26 dalších patogenů (*Tabulka 6*) pomocí nástroje pro základní vyhledávání lokálního zarovnání (Basic Local Alignment Search Tool, BLASTn) poskytnutého střediskem National Center for Biotechnology Information (NCBI). Analýza srovnání sekvencí neprokázala žádnou analogii mezi zacílenými sekvencemi a zkoumanými genomy.

Tabulka 5: Patogeny testované na analytickou specifičnost

| Potenciálně interferující mikroorganismus |
|--|
| Virus hepatitidy A |
| Virus hepatitidy B |
| Virus hepatitidy C |
| Virus T-buněčné lidské leukémie typu 1 (HTLV-1) |
| Virus T-buněčné lidské leukémie typu 2 (HTLV-2) |
| Virus lidské imunodeficiency typu 2 (HIV-2) |
| Virus opičí imunodeficiency (Simian Immunodeficiency Virus, SIV) |
| Virus Epstein-Barr |

Tabulka 6: Mikroorganismy zahrnuté do analýzy sekvenčního alignmentu BLASTn

| Mikroorganismus | Přístupové číslo (číslo) | Mikroorganismus | Přístupové číslo (číslo) |
|------------------------------|---|-------------------------------------|---|
| Adenovirus typu 12 | X73487.1 | Lidský herpesvirus 5 | GQ221974.1 KR534211.1 GQ221975.1 NC_006273.2 |
| Polyomavirus BK | AB369101.1 NC_001538.1 AB369092.1 | Lidský herpesvirus 7 | AF037218.1 NC_001716.2 |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | CP018052.1 CP017731.1 | Lidský herpesvirus 8 | NC_009333.1 |
| <i>Cutibacterium acnes</i> | NZ_CP006032.1 | Lidský papilomavirus typu 18 | NC_001357.1 MF288723.1 |
| Virus dengue | KR919821.1 KR052012.1 | Lidský papilomavirus typu 16 | KY549222.1 KY549321.1 |
| Herpes simplex virus typu 2 | Z86099.2 | Lidský parvovirus B19 | KX752821.1 MH201456.1 |
| Lidský adenovirus 2 | J01917.1 AC_000007.1 | Influenza A (všechny segmenty) | MN253846.1 MH797924.1 MH842686.1 MN037420.1 |
| Lidský adenovirus 5 | KX868466.2 AC_000008.1 AY601635.1 | JC virus | J02226.1 AB081030.1 |
| Lidský adenovirus C | AY339865.1 | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | CP034022.1 CP041586.1 |
| Lidský beta herpesvirus 6A | NC_001664.4 X83413.2 | <i>Propionibacterium acnes C1</i> | CP003877.1 |
| Lidský herpesvirus 1 | X14112.1 JQ780693.1 | <i>Staphylococcus aureus</i> | AP017922.1 |
| Lidský herpesvirus 2 | LT797626.1 JN561323.2 | <i>Staphylococcus saprophyticus</i> | AP008934.1 |
| Lidský herpesvirus 3 | DQ479962.1 KC847290.1 | Virus západonilské horečky | M12294.2 MF797870.1 |

Analytická specifčnost – potenciálně interferující endogenní a exogenní látky

Analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay byla hodnocena z hlediska náchylnosti k interferenci s léčivými běžně předepisovanými jedinci infikovanými HIV-1, zvýšenými hladinami endogenních látek a přítomností autoimunitních onemocnění. Vyšetřovaná HIV-1 RNA negativní EDTA plazma byla obohacena HIV-1 o koncentraci $3 \log_{10}$ IU/ml a albuminem (120 mg/ml), bilirubinem (0,03 mg/ml), hemoglobinem (3,5 mg/ml), triglyceridy (5,3 mg/ml) a sloučeninami léčiv (Tabulka 7) při trojnásobku C_{max} . Plazma stavu onemocnění pro systémový lupus erythematosus (Systemic Lupus Erythematosus, SLE), antinukleární protilátku (Antinuclear Antibody, ANA) a revmatoidní artritidu (Rheumatoid Arthritis, RA) byla rovněž testována negativně a byla pro testování obohacena HIV-1 o koncentraci $3 \log_{10}$ IU/ml HIV-1. Nebyla pozorována žádná významná interference. Výsledky studie jsou shrnuty v Tabulce 8.

Tabulka 7: Sloučeniny léčiv testované z hlediska interference

| Klasifikace léčiv | Název léku |
|--|--|
| Modulátor imunity | Interferon alfa-2a, Interferon alfa-2b, Ribavirin |
| Antagonista CCR5 | Maraviroc |
| Přípravek optimalizující farmakokinetiku | Cobicistat |
| Nukleosidový inhibitor reverzní transkriptázy (Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor, NNRTI) | Doravirine, Efavirenz, Nevirapine, Rilpivirine |
| Inhibitor proteázy (Protease Inhibitor, PI) | Darunavir, Amprenavir, Ritonavir, Saquinavir, Simeprevir |
| Nukleosidový inhibitor reverzní transkriptázy (Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor, NRTI) nebo inhibitor DNA polymerázy | Cidofovir, Lamivudine, Ganciclovir, Tenofovir disoproxil, Zidovudine, Valganciclovir, Abacavir sulfát, Emtricitabine, Entecavir, Foscarnet, Sofosbuvir |
| Inhibitor integrázy | Raltegravir, Dolutegravir |
| Inhibitor fúze | Enfuvirtid |
| Léčba oportunní infekce | Azithromycin, Clarithromycin, Fluconazole, Sulfamethoxazole, Trimethoprim |

Tabulka 8: Souhrn testování interference – exogenní a endogenní přípravky

| Endogenní | Průměr [HIV-1] (\log_{10} IU/ml) | Odchylka (\log_{10} IU/ml) |
|---|-------------------------------------|-------------------------------|
| Albumin | 3,03 | -0,11 |
| Bilirubin | 3,04 | -0,09 |
| Hemoglobin | 3,04 | -0,09 |
| Triglyceridy | 3,14 | 0,01 |
| Exogenní (přípravky) | Průměr [HIV-1] (\log_{10} IU/ml) | Odchylka (\log_{10} IU/ml) |
| Směs 1: Interferon alfa-2a, Interferon alfa-2b, Ribavirin, Maraviroc, Cobicistat | 3,06 | -0,07 |
| Směs 2: Raltegravir, Dolutegravir, Efavirenz, Nevirapine, Rilpivirine | 3,04 | -0,09 |
| Směs 3: Doravirine, Darunavir, Amprenavir, Ritonavir, Saquinavir | 3,11 | -0,02 |
| Směs 4: Simeprevir, Enfuvirtide, Abacavir sulfát, Emtricitabine, Entecavir, Foscarnet | 3,12 | -0,01 |
| Směs 5: Cidofovir, Lamivudine, Ganciclovir, Tenofovir disoproxil, Zidovudine, Valganciclovir | 3,14 | 0,01 |
| Směs 6: Sofosbuvir, Azithromycin, Clarithromycin, Fluconazole, Sulfamethoxazole, Trimethoprim | 3,13 | 0 |
| Stav onemocnění | Průměr [HIV-1] (\log_{10} IU/ml) | Odchylka (\log_{10} IU/ml) |
| Systémový lupus erythematosus (Systemic Lupus Erythematosus, SLE) | 3,00 | -0,13 |
| Antinukleární protilátka (Antinuclear Antibody, ANA) | 3,10 | -0,03 |
| Revmatoidní artritida (Rheumatoid Arthritis, RA) | 3,25 | 0,12 |

Přesnost

Přesnost testu analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay byla stanovena testováním čtyřčlenného panelu vzorků HIV-1 připravených v HIV-1 negativní plazmě (zahrnující jak podtyp B HIV-1, tak skupinu O od EQAPOL, Duke University) na třech (3) soustavách NeuMoDx System v průběhu šesti (6) dnů. V každé soustavě bylo provedeno celkem 12 cyklů pro každou úroveň vzorku, což vedlo k 216 replikátům pro každou úroveň po dobu testování. Přesnost byla charakterizována v rámci jednoho cyklu, jednoho dne a jedné soustavy a celková směrodatná odchylka byla stanovena jako $\leq 0,15 \log_{10}$ IU/ml. Žádný významný rozdíl v účinnosti nebyl zjištěn napříč soustavami, dny nebo cykly, jak ukazuje tabulka 9. Přesnost mezi pracovníky obsluhy charakterizována nebyla, jelikož obsluha při zpracování vzorků za použití soustavy NeuMoDx System nehraje žádnou významnou roli.

Tabulka 9: Interní laboratorní preciznost – analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay na soustavách NeuMoDx System

| | Cílová konc. (log ₁₀ IU/ml) | Prům. konc. (log ₁₀ IU/ml) | SD v rámci soustavy | SD v rámci dne | SD v rámci cyklu | SD v rámci laboratoře (celkem) |
|-----------|--|---------------------------------------|---------------------|----------------|------------------|--------------------------------|
| Podtyp 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 |
| Skupina 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 |

Variace mezi šaržemi

Reprodukovatelnost mezi šaržemi analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay byla ověřena zpětnou analýzou kvalitativních dat z testů pro tři (3) různé šarže kritických reagentů. Tato data byla získána pomocí funkčního testování reagentů na tříčlenném panelu cílového HIV (AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) v HIV-1 RNA negativní plazmě spolu s negativními vzorky plazmy. Pro jednu šarži testovacího proužku NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip bylo zpracováno celkem 18 pozitivních a 14 negativních replikátů. Byla analyzována variace v rámci jedné šarže a mezi šaržemi a výsledky jsou prezentovány v *Tabulce 10*. Celková absolutní odchylka nepřesáhla 0,14 log₁₀ IU/ml a celková směrodatná odchylka klesla pod 0,25 log₁₀ IU/ml. Mezi šaržemi nebyl zjištěn žádný významný rozdíl v účinnosti, jelikož stanovitelnost všech prvků panelu byla v mezích specifikované tolerance.

Tabulka 10: Reprodukovatelnost mezi šaržemi – analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

| Cílová konc. (log ₁₀ IU/ml) | Střední konc. Celkem (log ₁₀ IU/ml) | Počet platných testů | Odchylka (log ₁₀ IU/ml) | SD mezi šaržemi | SD v rámci jedné šarže | Celková 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 |

Účinnost kontroly

Analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay obsahuje kontrolu zpracování vzorků (Sample Process Control, SPC2), která má ohlásit selhání procesu a/nebo amplifikace. Účinnost této interní kontroly byla testována analogickou analýzou NeuMoDx HCV Quant Assay za podmínek reprezentativních pro kritická selhání kroků procesu, ke kterým by během zpracování vzorku mohlo potenciálně dojít a která by nemusela být odhalena čidly, které monitorují výkon soustavy NeuMoDx System. Byly zpracovány mírně pozitivní a negativní vzorky, aby se vyzkoušela výkonnost interní kontroly v přítomnosti inhibitorů reakce, bez dodávání promývací reagentie NeuMoDx Wash Reagent a bez vyplachování. Podmínky, které měly nepříznivý vliv na detekci cíle, se rovněž projeví v detekci SPC2 a jsou shrnuté níže v *Tabulce 11*. Všechny testované scénáře prokázaly schopnost kontroly zpracování vzorku adekvátně monitorovat selhání anebo prokázaly, že nezjištěná selhání neměla významný vliv na detekci a stanovitelnost cíle.

Tabulka 11: Souhrn studie účinnosti kontroly zpracování vzorku

| Simulovaný stav selhání | Stav amplifikace SPC2 | Stav amplifikace cíle | Výsledek analýzy |
|---|------------------------------------|------------------------------------|---|
| Presence of Inhibitor (Přítomnost inhibitoru) | Not Amplified (Není amplifikováno) | Not Amplified (Není amplifikováno) | Unresolved (Nerozlišeno) |
| No Wash Reagent Delivered (Bez přívodu promývací reagentie) | Not Amplified (Není amplifikováno) | Not Amplified (Není amplifikováno) | Unresolved (Nerozlišeno) |
| No Wash Blowout (Bez pročištění) | Amplified (Amplifikováno) | Amplified (Amplifikováno) | Positive, ± 0.3 log ₁₀ IU/mL of Control (Pozitivní, ±0,3 log ₁₀ IU/ml kontroly) |

Křížová kontaminace

Míra křížové kontaminace pro analýzu NeuMoDx HIV-1 Quant Assay byla stanovena testováním šesti (6) cyklů střídání vysoce pozitivních a negativních vzorků HIV-1. V konfiguraci šachovnice bylo zpracováno celkem 36 negativních replikátů a 36 replikátů HIV-1 s vysokým titrem při 6,0 log₁₀ IU/ml. Všechny replikáty negativních vzorků byly hlášeny jako negativní, což je důkazem, že během zpracování vzorku plazmy na soustavě NeuMoDx System k žádné křížové kontaminaci nedošlo.

Ekvivalence matrice vzorků

Bylo provedeno testování k prokázání ekvivalence matrice vzorků mezi plnou krví odebranou v odběrových zkumavkách s EDTA a ACD pro přípravu plazmy. Kromě toho bylo ke stanovení ekvivalence provedeno další testování mezi čerstvými a zmrazenými vzorky plazmy (odebraných ve dvou typech zkumavek). Čerstvé vzorky byly uchovávány při teplotě 2–4 °C, než byly obohaceny čtyřmi hladinami HIV-1 (včetně negativní úrovně) překračujícími kvantitativní rozsah analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay a poté testovány na ekvivalenci. Poté byly vzorky zmrazeny po dobu minimálně 24 hodin při teplotě ≤ -20 °C. Po tomto období uchovávání ve zmrazeném stavu byly vzorky rozmrazeny a znovu testovány. Regresní analýzou byla u výsledků mezi EDTA a ACD a čerstvými a zmrazenými vzorky porovnávána ekvivalence. Výsledky analýzy dat lineární regrese neprokázaly významný rozdíl v hlášených hodnotách mezi EDTA a ACD nebo mezi podmínkami uchovávání čerstvých a zmrazených vzorků plazmy testovaných pomocí analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.

Bylo provedeno další testování, aby se prokázala ekvivalence analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay u primárních vzorků proti sekundárním vzorkům. Panely dárcovských vzorků negativních na HIV-1, obohacených o cílový HIV-1 (AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) a dárcovských vzorků pozitivních na HIV-1 byly nejprve zpracovány z primárních zkumavek se vzorky. Po zpracování primárních zkumavek byla zbývající plazma z každého vzorku rozdělena do sekundární zkumavky se vzorkem a znovu zpracována. Nebyl nalezen žádný významný rozdíl v uváděných výsledcích mezi zpracováním v primární a sekundární zkumavce plazmou.

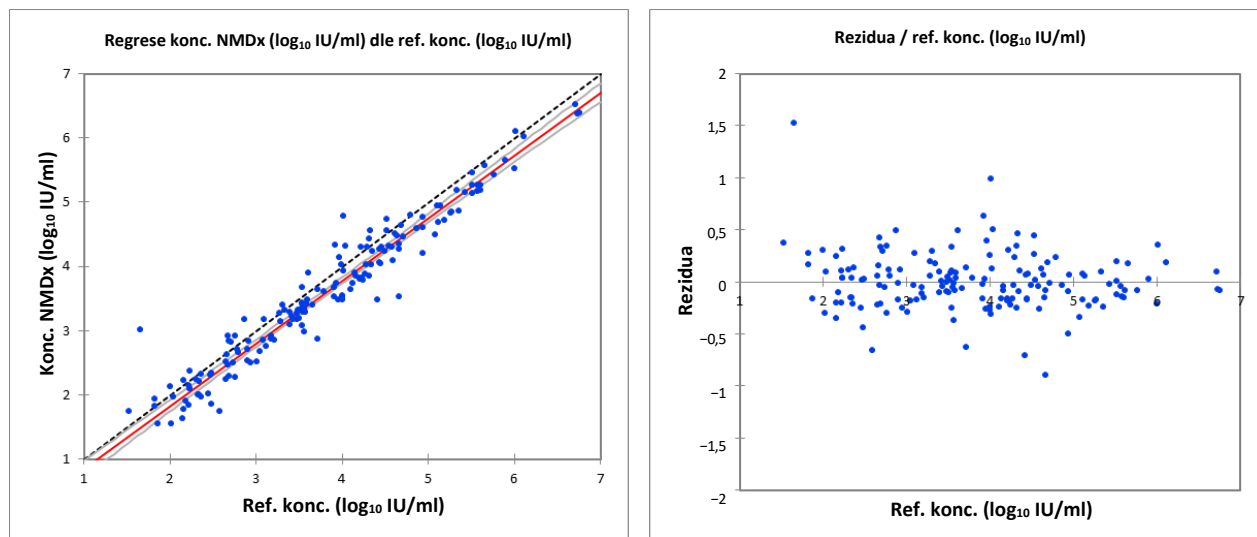
Srovnání klinickou metodou

Kvalitativní a kvantitativní výkonnost analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay byla srovnávána s výkonností srovnávací analýzy schválené FDA/CE-IVD. Interní testování bylo provedeno prostřednictvím jednoslepé studie deidentifikovaných zbytkových vzorků plazmy získaných od poskytovatele registrovaného FDA. Pomocí analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay bylo na několika soustavách NeuMoDx System zpracováno celkem 723 vzorků plazmy. Všechny vzorky, které zpočátku vykazovaly neplatný výsledek, byly znovu úspěšně zpracovány, přičemž byly získány platné výsledky pro všechny vzorky v rámci této studie.

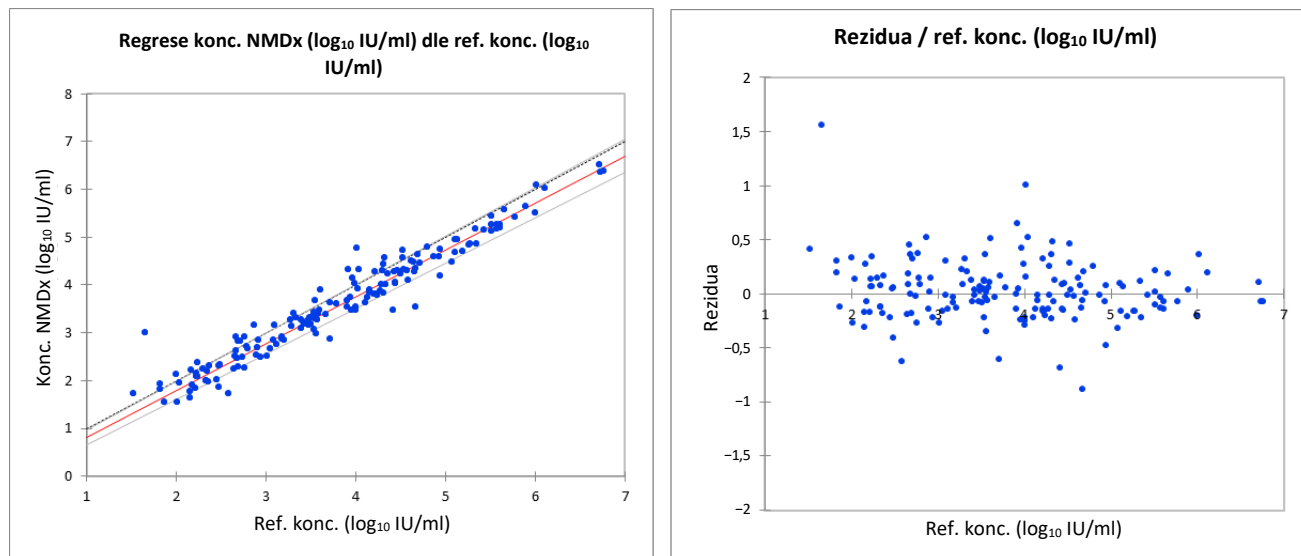
Chyby zpracování a systémové chyby, k nimž během testování docházelo, byly minimální a spadaly do rámce kritérií přijatelnosti. Celkem dvanáct (12) neurčitých (IND) výsledků a sedm (7) nerozlišených (UNR) výsledků poskytuje míru neurčitých výsledků 1,48 % (95% CI: 0,85–2,57 %) a míru nevyřešených výsledků 0,86 % (95% CI: 0,42–1,77%). Celková míra platných výsledků byla 97,7 % (95% CI: 96,4–98,5%).

Ze 723 získaných platných výsledků bylo 165 vzorků analýzou NeuMoDx HIV-1 Quant Assay ohlášeno jako pozitivních s odpovídajícími hodnotami koncentrace přidělenými referenčním testováním. Regresní analýzy metodami Demming a Passing-Bablok byly vytvořeny ke korelaci ohlášených hodnot koncentrace u analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay s hlášenými hodnotami referenčních testů.

Pro znázornění korelace mezi koncentracemi analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay a hodnotami koncentrace referenčních testů u všech testovaných vzorků byly vytvořeny grafy regrese a reziduí. Grafy vytvořené pomocí analýzy metodou Deming a metodou Passing-Bablok jsou znázorněny na *Obrázcích 5*, respektive 6. Kvalita regresního proložení u metody Deming je ilustrována koeficientem směrnice 0,975 (95% CI: 0,939, 1,011) a průnik (odchylka) $-0,121$ (95% CI: $-0,276$, $0,033$), což prokazuje, že výsledky koncentrace získané z analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay a referenčních testů jsou ve vysoké korelaci s přijatelnou odchylkou. Kvalita regresního proložení u metody Passing-Bablok je ilustrována koeficientem směrnice 0,981 (95% CI: 0,950, 1,012) a průnik (odchylka) $-0,167$ (95% CI: $-0,288$, $-0,036$), což podobně prokazuje, že výsledky koncentrace získané z analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay a referenčních testů jsou ve vysoké korelaci s přijatelnou odchylkou. Výsledky analýz metod Deming a Passing-Bablok jsou shrnuty níže v *Tabulce 12*.



Obrázek 5: Grafy ekvivalence (vlevo) a reziduí (vpravo) – kumulativní analýza pro analýzu NeuMoDx HIV-1 Quant Assay versus referenční testy – Analýza Demingovou metodou



Obrázek 6: Grafy ekvivalence (vlevo) a reziduí (vpravo) – kumulativní analýza pro analýzu NeuMoDx HIV-1 Quant Assay versus referenční testy – analýza podle Passinga-Babloka

Tabulka 12: Shrnutí lineární regresní analýzy podle Deminga a Passinga-Babloka

| Analýza Demingovou metodou | | Analýza metodou Passing-Bablok | |
|-----------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
| Průsečík | Koeficient směrnice | Průsečík | Koeficient směrnice |
| -0,121 CI 95 % (-0,276, 0,033) | 0,975 CI 95 % (0,939, 1,011) | -0,167 CI 95 % (-0,288, -0,036) | 0,981 CI 95 % (0,950, 1,012) |

Ze 723 platných výsledků získaných za použití analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay 171 výsledků bylo referenčními testy oznámeno jako pozitivních a 552 oznámeno jako negativních. Citlivost a specifičnost analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay byly vypočteny proti referenčním testům a jsou shrnuty níže v *Tabulce 13*. 165 vzorků ze 171 testovaných pozitivních vzorků bylo analýzou NeuMoDx HIV-1 Quant Assay oznámeno jako pozitivní, což dokazuje citlivost 96,5 % (95% CI: 92,6-98,4%). 551 vzorků z 552 testovaných negativně bylo ohlášeno jako negativní také analýzou NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, což dokazuje citlivost 99,8% (95% CI: 99,0-100%).

Tabulka 13: Výsledky kvalitativního porovnávání metod pro analýzu NeuMoDx HIV-1 Quant Assay versus referenční testy

| | | Referenční test | | | |
|---------|----------------------|--|----------------------|----------------------|--------|
| | | HIV-1 | Positive (Pozitivní) | Negative (Negativní) | Celkem |
| NeuMoDx | Positive (Pozitivní) | | 165 | 1 | 166 |
| | Negative (Negativní) | | 6 | 551 | 557 |
| | Celkem | | 171 | 552 | 723 |
| | | Citlivost = 96,5 % (95% CI 92,6–98,4 %) | | | |
| | | Specifičnost = 99,8 % (95% CI 99,0–100 %) | | | |

Kromě toho bylo pomocí analýzy NeuMoDx HIV-1 Quant Assay zpracováno celkem 12 komerčních sérokonverzních panelů, včetně 75 jednotlivých vzorků plazmy, aby se prokázala detekce RNA HIV-1 před detekcí protilátek/antigenů pomocí komerčně dostupných testů. Do analýzy byly zahrnuty panely předběžná sérokonverze, časné sérokonverze a sérokonverze. Byla provedena analýza za účelem porovnání prvního krvácení, při kterém je RNA HIV-1 detekována analýzou NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, ve srovnání s prvním krvácením pozitivním na protilátku/antigen HIV-1 (Ab/Ag), jak bylo ohlášeno komerčně dostupnými krevními testy schválenými FDA/CE-IVD. U všech testovaných panelů analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay detekovala RNA HIV-1 alespoň o jedno krvácení dříve než krevní testy na detekci protilátek/antigenů. Výsledky jsou shrnuty v *Tabulce 14*.

Tabulka 14: Srovnání sérokonverzních panelů – analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay versus krevní test na Ab/Ag HIV-1

| ID panelu | Den krvácení s prvním pozitivním výsledkem | |
|--------------------|--|----------------------------|
| | Analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay | Krevní test na Ab/Ag HIV-1 |
| PRB969 | 4 | 7 |
| PRB968 | 5 | 7 |
| 0600-0230 | 2 | 4 |
| 0600-0270 | 2 | 3 |
| 0600-0258 | 2 | 3 |
| 0600-0244 (PRB962) | 3 | 5 |
| 0600-0272 | 3 | 4 |
| PRB967 | 2 | 4 |
| PRB964 | 3 | 6 |
| PRB963 | 4 | 6 |
| 0600-0263 | 5 | 7 |
| PRB956 | 2 | 4 |

Byly provedeny další analýzy za účelem porovnání prvního krvácení, při kterém je RNA HIV-1 detekována analýzou NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, s prvním krvácením pozitivním na RNA HIV-1 odhaleným komerčně dostupnými testy NAT schválenými FDA/CE-IVD. U všech testovaných panelů analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay detekovala RNA HIV-1 při stejném krvácení jako ostatní testy NAT pro detekci RNA HIV-1. Ve dvou panelech analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay prokázala detekci RNA HIV-1 o jedno krvácení dříve než ostatní NAT testy. Výsledky jsou shrnuty v *Tabulce 15*.

Tabulka 15: Srovnání sérokonverzních panelů – analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay versus NAT pro RNA HIV-1

| ID panelu | Den krvácení s prvním pozitivním výsledkem | |
|--------------------|--|----------------|
| | Analýza NeuMoDx HIV-1 Quant Assay | Referenční 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 |

REFERENCE

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.

OCHRANNÉ ZNÁMKY

NeuMoDx™ a NeuDry™ jsou ochranné známky společnosti NeuMoDx Molecular, Inc.

AccuPlex™ je ochranná známka společnosti SeraCare Life Sciences, Inc.



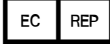











BD Vacutainer® je registrovaná ochranná známka společnosti Becton, Dickinson and Company.

BD a PPT™ jsou ochranné známky společnosti Becton, Dickinson and Company.

TaqMan® je registrovaná ochranná známka společnosti Roche Molecular Systems, Inc.

Všechny ostatní názvy produktů, ochranné známky a registrované ochranné známky, které se mohou objevit v tomto dokumentu, jsou majetkem příslušných vlastníků.

SYMBOLY

| SYMBOL | VÝZNAM |
|---|---|
| R only | Pouze na lékařský předpis |
|  | Výrobce |
|  | Zdravotnický prostředek pro diagnostiku <i>in vitro</i> |
|  | Autorizovaný zástupce v Evropském společenství |
|  | Katalogové číslo |
|  | Číslo šarže |
|  | Datum spotřeby |
|  | Omezení teploty |
|  | Omezení vlhkosti |
|  | Nepoužívejte opakovaně |
|  | Obsahuje dostatečné množství pro <n> testů |
|  | Prostudujte si návod k použití |
|  | Upozornění |
|  | Biologická rizika |
|  | Značka CE |



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

Zadavatel (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



Technická podpora / vigilanční hlášení: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents