


**200700 NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip**
**POZOR: Samo za izvoz v ZDA**

 Za diagnostično uporabo *in vitro* s sistemi NeuMoDx™ 288 in NeuMoDx™ 96 Molecular System

*Pred uporabo izdelka pozorno preberite ta navodila. Navodila ustrezno upoštevajte.*
*V primeru kakršnih koli odstopanj od teh navodil ni mogoče zagotoviti, da bodo rezultati testa verodostojni.*
*Za podrobna navodila glejte Priročnik za uporabo NeuMoDx™ 288 Molecular System; št. dela 40600108*
*Za podrobna navodila glejte Priročnik za uporabo NeuMoDx™ 96 Molecular System; št. dela 40600317*


### NAMEN UPORABE

Test NeuMoDx™ HAdV Quant Assay je avtomatski test amplifikacije nukleinske kisline *in vitro*, ki se uporablja za identifikacijo in kvantifikacijo DNK človeškega adenovirusa (Adenovirus, AdV) v vzorcih, ekstrahiranih iz človeške plazme/seruma in urina. Test NeuMoDx™ HAdV Quant Assay, implementiran v sisteme NeuMoDx™ 288 Molecular System in NeuMoDx™ 96 Molecular System (sistem(-i) NeuMoDx™ System), vključuje avtomatsko ekstrakcijo DNK za izolacijo ciljne nukleinske kisline iz primerka ter verižno reakcijo polimeraze v realnem času (Polymerase Chain Reaction, PCR) za ciljanje sekvenc v genomu AdV.

Test NeuMoDx™ HAdV Quant Assay je namenjen za pomoč pri diagnosticiranju in spremljanju okužbe z AdV v kombinaciji z drugimi kliničnimi in laboratorijskimi ugotovitvami.

### POVZETEK IN RAZLAGA

Za pripravo plazme se lahko uporabi človeška polna kri, odvzeta v sterilne epruvete za zbiranje krvi, ki vsebujejo antikoagulant EDTA, ali v epruvete za pripravo plazme (Plasma Preparation Tubes, PPT), medtem ko je treba serum zbrati v epruvete za zbiranje seruma ali epruvete za ločevanje seruma (Serum Separation Tube, SST). Za testiranje primerka urina se vzorec zbere v standardno posodico za zbiranje urina, ki ne vsebuje konzervansov ali aditivov. Med pripravo na testiranje se za začetek avtomatske obdelave plazma/serum ali urin v primarni ali sekundarni epruveti s primerkom, združljivi s sistemom NeuMoDx™ System, naloži v sistem NeuMoDx™ System z uporabo namenskega prenosnika za epruvete s primerki.

Za primerke plazme/seruma se 550 µl alikvota vzorca zmeša s pufrom NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 iz instrumenta oziroma 100 µl alikvota vzorca plazme/vzorca seruma s pufrom NeuMoDx™ Lysis Buffer 5. Za vzorce urina se 550 µl alikvota vzorca zmeša s pufrom NeuMoDx™ Lysis Buffer 2 iz instrumenta.

Sistem NeuMoDx™ System samodejno izvede vse korake, ki so potrebni za ekstrakcijo ciljne nukleinske kisline, pripravi izolirano DNK za amplifikacijo PCR v realnem času in amplificira ter zazna produkte amplifikacije, če so prisotni. Test NeuMoDx™ HAdV Quant Assay vključuje kontrolo obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC1) z DNK, ki pomaga nadzorovati prisotnost potencialno inhibitornih snovi ter napak sistema NeuMoDx™ System ali reagenta, ki se lahko pojavijo med postopkom ekstrakcije in amplifikacije.

Adenovirusi (Adenovirus, AdV) so dvoverižni virusi DNK brez ovojnice, ki pripadajo rodu Mastadenovirus iz družine *Adenoviridae*, povezani s široko paleto kliničnih sindromov pri ljudeh. Tipi in genotipi človeškega adenovirusa (Human adenovirus, HAdV) so znani in razvrščeni v sedem vrst (A-G).<sup>1</sup> Zaradi genetske heterogenosti je tropizem vrst HAdV precej raznolik, kar povzroči okužbe različnih organov in tkiv. AdV lahko povzročijo epidemije vročinske bolezni dihal, faringokonjunktivno mrzlico, keratokonjunktivitis ali gastroenteritis in drisko.<sup>1</sup> Okužba je lahko posledica izpostavljenosti okuženim posameznikom (vdihavanje aerosoliziranih kapljic, inokulacija konjunktive, fekalno ustno širjenje), pridobivanja iz eksogenih virov (npr. vzglavniki, posteljina, omarice, pištole) ali reaktivacije. Inkubacijsko obdobje traja od 2 do 14 dni. Latentni AdV lahko prebiva v limfoidnem tkivu, ledvičnem parenhimu ali drugih tkivih več let; pri hudo oslabljenih imunskih bolnikih se lahko pojavi reaktivacija.<sup>1</sup>

Pomen ustreznega diagnostičnega spremljanja HAdV je poudarjen z dejstvom, da sta lahko obolenost in smrtnost pri imunsko oslabljenih bolnikih z invazivno okužbo zelo visoka, tako pri pediatričnih kot pri odraslih bolnikih.<sup>2</sup> Kvantitativne meritve virusne obremenitve lahko prispevajo k diagnozi okužbe in delujejo kot nadomestki, ki so povezani s kliničnim odzivom na terapijo. PCR je lahko učinkovit način za odkrivanje asimptomatskih bolnikov, pri katerih obstaja tveganje za progresivno bolezen, povezano z adenovirusom.<sup>2</sup>

### NAČELA POSTOPKA

Test NeuMoDx™ HAdV Quant Assay na sistemu NeuMoDx™ System za izvedbo analize uporablja NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit, NeuMoDx™ HAdV External Control Kit, NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, NeuMoDx™ Lysis Buffer 2, NeuMoDx™ Lysis Buffer 5 in reagente NeuMoDx™ za splošno uporabo. Reagente je treba shranjevati pri temperaturi od +15 do +30 °C.

Test NeuMoDx™ HAdV Quant Assay združuje avtomatsko ekstrakcijo, amplifikacijo in zaznavanje DNK s PCR v realnem času. Primerki plazme/seruma ali urina v primarnih ali sekundarnih epruvetah s primerkom, združljivih s sistemom NeuMoDx™ System, se postavijo na prenosnik za epruvete s primerki, ki se nato naloži v sistem NeuMoDx™ System za obdelavo. Dodatno posredovanje upravljavca ni potrebno.

Sistemi NeuMoDx™ System za samodejno izvajanje lize celic, ekstrakcijo DNK in odstranjevanje inhibitorjev uporabljajo kombinacijo toplote, litičnih encimov in ekstrakcijskih reagentov. Sproščene nukleinske kisline ujamejo paramagnetni delci. Delci z vezanimi nukleinskimi kislinami se naložijo v kartušo NeuMoDx™ Cartridge, kjer se nevezane komponente brez DNK dodatno sperejo z reagentom NeuMoDx™ Wash Reagent, vezana DNK pa se izluži z reagentom NeuMoDx™ Release Reagent. Sistemi NeuMoDx™ System nato uporabijo izluženo DNK za rehidracijo

lastniških liofiliziranih amplifikacijskih reagentov Sentinel CH (tehnologija STAT-NAT®), ki vsebujejo vse potrebne elemente za PCR-amplifikacijo ciljev, specifičnih za AdV in SPC1. Pri rekonstituciji liofiliziranih reagentov PCR sistem NeuMoDx™ System izvrže za PCR pripravljeno mešanico v kartušo NeuMoDx™ Cartridge. Amplifikacija in zaznavanje kontrole in ciljnih sekvenc DNK (če so prisotne) se izvedeta v območju komore PCR kartuše NeuMoDx™ Cartridge. Kartuša NeuMoDx™ Cartridge je zasnovana tako, da po PCR v realnem času vsebuje amplikon, tako da praktično ni tveganja za kontaminacijo po amplifikaciji.

Amplificirane tarče so zaznane v realnem času z uporabo kemije hidrolizne šobe (ki jo imenujemo tudi kemija TaqMan®) z uporabo fluorogenih oligonukleotidnih molekul šobe, specifičnih za amplikone za njihove določene cilje. Šobe TaqMan so sestavljene iz fluorofora, ki je kovalentno vezan na 5'-koncu oligonukleotidne šobe in dušilca na 3'-koncu. Medtem ko je šoba nedotaknjena, sta fluorofor in dušilec blizu, zato molekula dušilca zaduši fluorescenco, ki jo fluorofor oddaja prek Försterjevega resonančnega prenosa energije (Förster Resonance Energy Transfer, FRET). Šobe TaqMan so zasnovane tako, da se združijo znotraj regije DNK, ki jo amplificira specifični komplet primerjev. Ko polimeraza DNK Taq razširi primer in sintetizira nov trak, aktivnost eksonukleaze 5' do 3' polimeraze DNK Taq degradira šobo, ki se je prilegla v vzorec. Degradacija šobe sprosti fluorofor in zlomi bližino dušilca ter tako premaga učinek dušenja zaradi FRET ter omogoči zaznavanje fluorescence fluorofora. Posledični fluorescenčni signal, zaznan v kvantitativnem PCR-termopomnoževalniku sistema NeuMoDx™ System je neposredno proporcionalen s sproščenim fluoroforom in možno je vzpostaviti korelacijo s količino prisotne ciljne DNK.<sup>3</sup>

Šobe TaqMan®, označene s fluorofori na 5'-koncu in dušilci na 3'-koncu, se uporabijo za zaznavanje DNK AdV in DNK SPC1. Programska oprema sistema NeuMoDx™ System nadzoruje fluorescentni signal, ki ga oddajajo šobe TaqMan na koncu vsakega amplifikacijskega cikla. Ko je amplifikacija končana, programska oprema NeuMoDx™ System analizira podatke in sporoči končni rezultat (POSITIVE (POZITIVNO)/NEGATIVE (NEGATIVNO)/INDETERMINATE (NEDOLOČEN)/UNRESOLVED (NEREŠENO)/NO RESULT (NI REZULTATA)). Če je rezultat pozitiven in izračunana koncentracija v mejah kvantifikacije, programska oprema sistema NeuMoDx™ System prikaže tudi kvantitativno vrednost, povezano z vzorcem.

### REAGENTI/POTROŠNI MATERIAL

#### Potrebni material

REF.	Vsebina	Testi na enoto	Testi na paket
200700	<b>NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip</b> <i>Liofilizirani reagenti PCR, ki vsebujejo AdV-specifične šobe in primerje TaqMan®, poleg SPC1-specifičnih sond in primerjev TaqMan®.</i>	16	96

#### Potrebni reagenti in potrošni material, ki niso priloženi (na voljo ločeno pri družbi NeuMoDx)

REF.	Vsebina
100200	<b>NeuMoDx™ Extraction Plate</b> <i>Posušene paramagnetne delce, posušen litični encim in kontrole obdelave posušenega vzorca</i>
800801	<b>NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit</b> <i>Kompleti visokih in nizkih sušenih kalibratorjev HAdV za enkratno uporabo za določanje veljavnosti standardne krivulje</i>
900801	<b>NeuMoDx™ HAdV External Control Kit</b> <i>Kompleti pozitivnih posušenih kontrol in negativnih kontrol za HAdV za enkratno uporabo za določanje dnevne veljavnosti testa NeuMoDx HAdV Quant Assay</i>
400400	<b>NeuMoDx™ Lysis Buffer 1</b>
400500	<b>NeuMoDx™ Lysis Buffer 2</b>
400900	<b>NeuMoDx™ Lysis Buffer 5</b>
400100	<b>NeuMoDx™ Wash Reagent</b>
400200	<b>NeuMoDx™ Release Reagent</b>
100100	<b>NeuMoDx™ Cartridge</b>
235903	<b>Konice Hamilton CO-RE (300 µl) s filtri</b>
235905	<b>Konice Hamilton CO-RE (1000 µl) s filtri</b>

#### Potrebni instrumenti

NeuMoDx™ 288 Molecular System [REF. 500100] ali NeuMoDx™ 96 Molecular System [REF. 500200]

### OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

- Testni trak NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip je namenjen samo diagnostični uporabi in vitro s sistemi NeuMoDx™ System.
- Preden izvedete test, preberite vsa navodila, ki so priložena kompletu.
- Reagentov oziroma potrošnega materiala ne uporabljajte po navedenem roku uporabe.
- Ne uporabljajte reagentov, če je varnostno tesnilo odprto oziroma če je embalaža ob prejemu poškodovana.
- Ne uporabljajte potrošnega materiala ali reagentov, če je zaščitna vrečka ob prejemu odprta ali poškodovana.
- Ne mešajte reagentov za amplifikacijo iz drugih kompletov, ki so na trgu.
- Vse testne trakove NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip shranjujte v njihovi aluminijasti ovojnini, da jih zaščitite pred svetlobo in vlago.
- Veljavna kalibracija testa (ki se ustvari s obdelavo visokih in nizkih kalibratorjev NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit REF. 800801) mora biti na voljo, preden se lahko ustvarijo rezultati testa za klinične vzorce.
- Komplet zunanje kontrole NeuMoDx™ HAdV External Control Kit (REF. 900801) je med testiranjem s testom NeuMoDx™ HAdV Quant Assay treba obdelati vsakih 24 ur.
- Minimalni volumen primerka je odvisen od velikosti epruvete, prenosnika za primerke in poteka dela za volumen primerka v ml, kot je določeno spodaj. Če je volumen pod navedenim minimumom, se lahko pojavi napaka »Quantity Not Sufficient« (Količina ni zadostna).
- Izvedba testa za AdV na primerkih, shranjenih pri neprimerni temperaturi oziroma po preteku obdobja za shranjevanje, lahko pri uporabi testnih trakov NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip privede do neveljavnih ali napačnih rezultatov.
- Preprečite kontaminacijo katerega koli reagenta in potrošnega materiala z mikrobi ali dezoksiribonukleazo (DNaza). Pri uporabi sekundarnih epruvet za primerke je priporočena uporaba sterilnih pipet za prenos brez DNaze. Za vsak primerek uporabite novo pipeto.
- Da se izognete kontaminaciji, kartuše NeuMoDx™ Cartridge po amplifikaciji ne prijemajte ali razstavljajte. Kartuš NeuMoDx™ Cartridge v nobenem primeru ne odstranjujte iz zabojnikov za biološke odpadke (NeuMoDx™ 288 Molecular System) ali koša za biološke odpadke (NeuMoDx™ 96 Molecular System). Kartuša NeuMoDx™ Cartridge je zasnovana tako, da preprečuje kontaminacijo.
- V primerih, ko laboratorij izvaja tudi teste PCR z odprtimi epruvetami, je treba zagotoviti, da testni trakovi NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, dodatni potrošni material in reagenti, potrebni za testiranje, osebna zaščitna oprema, kot so rokavice in laboratorijski plašči, ter sistem NeuMoDx™ System niso kontaminirani.
- Pri ravnanju z reagenti in potrošnim materialom NeuMoDx™ uporabljajte čiste nitrilne rokavice brez praška. Bodite previdni, da se ne dotaknete zgornje površine kartuše NeuMoDx™ Cartridge, površine tesnilne folije testnega traku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip ali ekstrakcijske plošče NeuMoDx™ Extraction Plate oziroma zgornje površine vsebnikov s pufrji NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, 2 in 5; s potrošnim materialom in reagenti rokujte tako, da se dotikate samo stranskih površin.
- Varnostni listi (Safety Data Sheets, SDS) so za vsak reagent (kot je primerno) na voljo na spletni strani [www.neumodx.com/client-resources](http://www.neumodx.com/client-resources).
- Po izvedbi testa si temeljito umijte roke.
- Pipete ne uporabljajte z usti. Ne kadite, pijte ali jejte v območjih, kjer ravnate s primerki ali reagenti.
- S primerki vedno ravnajte, kot da so kužni, in v skladu z varnimi postopki v laboratorijih, kot so tisti, ki so opisani v dokumentu OSHA Standard on Bloodborne Pathogens<sup>4</sup>, Biosafety Level 2-5 (Standard OSHA za patogene, ki se prenašajo s krvjo, raven biološke varnosti), ali uporabite druge ustrezne prakse za biološko varnost<sup>6,7</sup> za materiale, ki vsebujejo ali bi lahko vsebovali kužne snovi.
- Neuporabljene reagente in odpadke odstranite v skladu z državnimi, zveznimi, okrajnimi in lokalnimi predpisi.
- Rezultate testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay je treba interpretirati v kombinaciji z drugimi kliničnimi in laboratorijskimi ugotovitvami.
- Tako kot pri drugih testih negativni rezultati ne pomenijo, da je okužba z AdV izključena.
- V navpični vrstici ob robu besedila so navedene spremembe v primerjavi s prejšnjo različico navodil za uporabo.
- Ne uporabljajte ponovno.

### SHRANJEVANJE, RAVNANJE IN STABILNOST IZDELKA

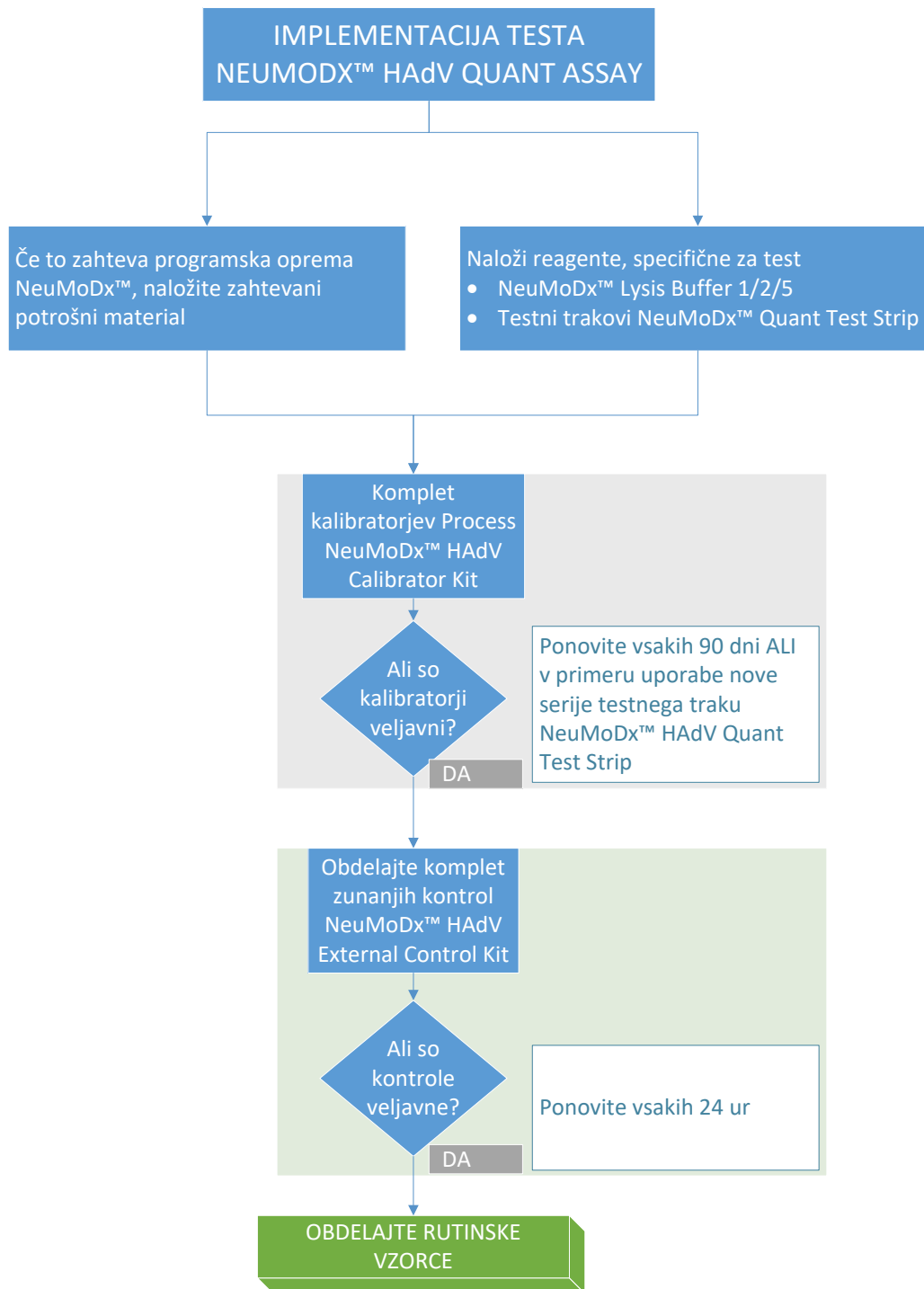
- Testni trakovi NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip so stabilni v prvotni embalaži pri temperaturi od 15 do 30 °C do roka uporabnosti, ki je naveden na oznaki izdelka.
- Testni trak NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, naložen v sistem NeuMoDx™ System, je stabilen 28 dni; programska oprema sistema NeuMoDx™ System bo zahtevala odstranitev testnih trakov, ki so bili v sistemu NeuMoDx™ System v uporabi več kot 28 dni, in treba bo odpreti (vzeti iz vrečke) nove testne trakove NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip ter jih naložiti v sistem NeuMoDx System. Med nalaganjem v sistem NeuMoDx System s traku ne smete odstraniti aluminijaste folije.
- NeuMoDx™ calibrators in controls niso kužni, vendar jih je po uporabi treba v laboratoriju zavreči med biološke odpadke, saj po obdelavi v sistemu vsebujejo ciljni material, kar lahko v primeru neustreznega ravnanja povzroči kontaminacijo.

### ZBIRANJE, TRANSPORT IN SHRANJEVANJE PRIMERKOV

1. Z vsemi primerki ravnajte, kot da lahko prenašajo povzročitelje okužb.
2. V primarnih epruvetah ne zamrzujte polne krvi ali primerkov plazme/seruma.
3. Za pripravo primerkov plazme je treba zbrati polno kri v sterilne epruvete z antikoagulantom EDTA. Primerke seruma je potrebno pripraviti v epruvetah za ločevanje seruma. Vzorce urina je treba zbrati v sterilne epruvete ali posodice. Upoštevajte navodila proizvajalca epruvet za zbiranje primerkov.

4. Polna kri, zbrana v zgoraj navedenih napravah, se lahko shrani in/ali prevaža do 24 ur pri temperaturi 2 °C do 8 °C pred pripravo plazme/seruma. Pripravo vzorcev je treba izvesti v skladu z navodili proizvajalca.
5. Shranjevanje svežega neobdelanega urina na sobni temperaturi je treba omejiti na čim krajši čas, saj nizek pH in visoka vsebnost sečnine hitro denaturirata DNK, zlasti pri temperaturi 25 °C in več.
6. Pripravljene primerke plazme/seruma lahko shranite v sistemu NeuMoDx<sup>™</sup> System največ 24 ur pred obdelavo; pripravljene primerke urina lahko shranite v sistemu NeuMoDx<sup>™</sup> System do 16 ur pred obdelavo. Če je potreben dodaten čas shranjevanja, priporočamo, da se primerki shranijo v hladilniku ali zamrznejo kot sekundarni alikvoti.
7. Pripravljene primerke plazme/seruma in urina naj bodo shranjeni pri temperaturi 2 do 8 °C in ne dlje kot 8 dni pred testiranjem ter največ 24 ur (plazma/serum) ali 16 ur (urin) pri sobni temperaturi.
8. Pripravljene primerke je pred obdelavo možno shraniti pri < -20 °C do 8 tednov, če gre za plazmo, in 2 tedna, če gre za serum; tako vzorci plazme kot seruma pred uporabo ne smejo biti podvrženi več kot 2 ciklom zamrzovanja/odtajanja:
  - a. Če so vzorci zamrznjeni, se morajo najprej popolnoma odtaliti pri sobni temperaturi (15–30 °C); zmešajte jih z vibracijskim mešalnikom, da ustvarite enakomerno porazdeljen vzorec.
  - b. Ko so zamrznjeni vzorci odtajani, je testiranje potrebno izvesti v roku 24 ur.
  - c. Zamrzovanje plazme/seruma v primarnih epruveh za zbiranje ni priporočljivo.
9. Po obdelavi lahko vzorce urina shranjujete pri temperaturi od 2 do 8 °C.
10. Če bodo primerki poslani, jih je treba zapakirati in označiti v skladu z veljavnimi državnimi in/ali mednarodnimi predpisi.
11. Primerke jasno označite in navedite, da so namenjeni za testiranje za AdV.
12. Nadaljujte na razdelek *Priprava testa*.

Celoten postopek za izvajanje testa NeuMoDx<sup>™</sup> HAdV Quant Assay je povzet na *sliki 1*.



**Slika 1:** Potek dela pri implementaciji testa NeuMoDx HAdV Quant Assay

### NAVODILA ZA UPORABO

#### Priprava testa

Za vzorce plazme/seruma se test NeuMoDx™ HAdV Quant Assay lahko izvaja neposredno iz primarnih epruvet za zbiranje krvi ali iz alikvotov primerkov iz sekundarnih epruvet. Obdelavo je mogoče izvesti z uporabo enega od dveh potekov dela za obdelavo volumna primerka – poteka dela za primerek z volumnom 550 µl ali poteka dela za obdelavo primerka z volumnom 100 µl. Vzorci urina se lahko obdelajo le s potekom dela za volumen primerka 550 µl.

1. Primerek z oznako s črtno kodo dodajte na epruveto s primerkom, ki je združljiv s sistemom NeuMoDx™ System. Primarno epruveto za zbiranje krvi je mogoče po centrifugiranju označiti in jo postaviti neposredno v prenosnik za 32 epruvet s primerki v skladu z navodili proizvajalca.
2. Če se testiranje primerka plazme/seruma izvaja v primarni epruveti za zbiranje, postavite epruveto, označeno s črtno kodo, v prenosnik za epruvete s primerki in poskrbite, da bo pred nalaganjem v NeuMoDx System odstranjen pokrov. Najmanjši volumni nad slojem gela/mehkim slojem so opredeljeni spodaj in bodo doseženi, če bodo primerki zbrani in obdelani v skladu z navodili proizvajalca epruvete. Učinkovitost ni zagotovljena za primerke, ki so bili nepravilno zbrani.

Zbiranje krvi Vrsta cevi	Minimalni zahtevani volumen primerka	
	Potek dela za 550 µl	Potek dela za 100 µl
SST – 3,5 ml	1550 µl	1150 µl
PPT/SST – 5,0 ml	1800 µl	1400 µl
PPT/SST – 8,5 ml	2500 µl	2150 µl
K <sub>2</sub> EDTA/serum – 4,0 ml	1050 µl	650 µl
K <sub>2</sub> EDTA/serum – 6,0 ml	1250 µl	850 µl
K <sub>2</sub> EDTA/serum – 10,0 ml	1600 µl	1200 µl

3. Če imate vzorce urina ali plazme/seruma v sekundarni epruveti, alikvot primerka prenesite v epruveto s primerkom s črtno kodo, ki je združljiva s sistemom NeuMoDx System, v skladu s spodaj določenimi volumni:

Prenosnik za epruvete s primerki	Velikost epruvete	Minimalni zahtevani volumen primerka	
		Potek dela za 550 µl	Potek dela za 100 µl (samo Plazma (Plazma)/Serum (Serum))
<b>32-Tube Specimen Tube Carrier (Prenosnik za epruvete s primerki s 32 epruvetami)</b>	Premer 11–14 mm in višina 60–120 mm	700 µl	350 µl
<b>24-Tube Specimen Tube Carrier (Prenosnik za epruvete s primerki s 24 epruvetami)</b>	Premer 14,5–18 mm in višina 60–120 mm	1100 µl	750 µl
<b>Low Volume Specimen Tube Carrier (Prenosnik za epruvete s primerki za nizki volumen)</b>	1,5-ml epruveta s stožčastim dnom za mikrocentrifugo	650 µl	250 µl

#### Delovanje sistema NeuMoDx System

Za podrobna navodila glejte Priročnike za uporabo NeuMoDx™ 288 in 96 Molecular System (št. dela 40600108 in 40600317)

1. Naložite naročilo testa v sistem NeuMoDx System v skladu z želenim tipom primerka in epruvete:
  - Primerek z volumnom 550 µl se testira z opredelitvijo tipa primerka kot »Plazma« (Plazma), »Serum« ali »Urine« (Urin)
  - Primerek z volumnom 100 µl se testira z opredelitvijo tipa primerka kot »Plazma2« (Plazma2) ali »Serum2« (Serum2)
  - Če to v naročilu testa ni opredeljeno, bo privzeto uporabljen tip primerka Plazma (Plazma) v epruveti Secondary Tube (Sekundarna epruveta).
2. Odrežite aluminijaste vrečke s testnimi trakovi NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip na mestu, kjer sta stranski zarezi.
3. Trakove vzemite iz vrečk tik pred uporabo.

4. Preden uporabite vrečke, se vedno prepričajte, da so dobro zaprte in da je v njih še vedno vrečica s sušilom. Uporabite jih le, če so nepoškodovane.
5. Če se barva vrečice s sušilom spremeni iz oranžne v zeleno, aluminijaste vrečke in njihovo vsebino zavržite.
6. Enega ali več prenosnikov testnega traku NeuMoDx™ System Test Strip Carrier napolnite s testnimi trakovi NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip in uporabite zaslon na dotik, da naložite Test Strip Carrier v sistem NeuMoDx™ System.
7. Če to zahteva programska oprema sistema NeuMoDx™ System, dodajte potrebno količino potrošnega materiala v vsebnike potrošnega materiala sistema NeuMoDx™ System in uporabite zaslon na dotik, da prenosnik(e) naložite v sistem NeuMoDx™ System.
8. Če to zahteva programska oprema sistema NeuMoDx™ System, zamenjajte NeuMoDx™ Wash Reagent, NeuMoDx™ Release Reagent, spraznite zabojnik za odpadke pri polnjenju, zabojnik za biološke odpadke (samo pri sistemu NeuMoDx 288 Molecular System), zabojnik za odpadke konic (samo pri sistemu NeuMoDx 96 Molecular System), ali koš za biološke odpadke (samo za sistem NeuMoDx 96 Molecular System), kot je to potrebno.
9. Če to zahteva programska oprema sistema NeuMoDx™ System, obdelajte Calibrators (REF. 800801) in/ali External Controls (REF. 900801), kot je potrebno. Dodatne informacije glede kalibratorjev in kontrol so na voljo v razdelku Obdelava rezultatov.
10. Epruveto(-e) s primerkom/kalibratorjem/kontrolo naložite v standardne prenosnike za 32 epruвет in poskrbite, da so pokrovi odstranjeni z vseh epruвет.
11. Prenosnik za epruvete s primerki postavite na katerikoli odprt položaj na polici samodejnega nalagalnika in uporabite zaslon na dotik, da prenosnik naložite v sistem NeuMoDx™ System. To bo sprožilo obdelavo naloženih primerkov za opredeljen(-e) test(-e), če je v sistemu veljavno naročilo testa.

### OMEJITVE

- Testni trak NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip se lahko uporablja samo na sistemih NeuMoDx™ System.
- Delovanje testnega traku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip je bilo opredeljeno za primerke plazme in seruma, pripravljene iz odvzete polne krvi z antikoagulantom EDTA, in za primerke urina; uporaba testnih trakov NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip z drugimi tipi kliničnih primerkov ni bila ocenjena, zato karakteristike delovanja tega testa za druge tipe primerkov niso znane.
- Pri uporabi poteka dela primerka z volumnom 100 µl so opazili majhno povečanje meje zaznavanja in spodnjo mejo kvantifikacije testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay.
- Test NeuMoDx™ HAdV Quant Assay se ne sme uporabljati z vzorci hepariniziranih ljudi.
- Ker je zaznavanje AdV odvisno od števila prisotnih organizmov v vzorcu, so zanesljivi rezultati odvisni od ustreznega zbiranja, ravnanja in shranjevanja primerkov.
- Kalibratorji in zunanje kontrole morajo biti obdelani po priporočilih v vstavkih v paketih in pred obdelavo rutinskih kliničnih vzorcev, če to zahteva programska oprema sistema NeuMoDx™ System.
- Napačni rezultati se lahko pojavijo zaradi nepravilnega zbiranja, ravnanja, shranjevanja primerkov, tehnične napake ali zamenjave epruвет s primerkom. Poleg tega se lahko pojavijo lažni negativni vzorci, če je število virusnih delcev v vzorcu pod mejo zaznave testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay.
- Upravljanje sistema NeuMoDx™ System je omejeno na osebe, usposobljene za uporabo sistema NeuMoDx™ System.
- Če se tako cilj AdV kot cilj SPC1 ne amplificirata, bodo sporočeni neveljavni rezultati (Indeterminate (Nedoločen), No Result (Ni rezultata) ali Unresolved (Nerešeno)), zato bo test treba ponoviti.
- Če je rezultat testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay Positive (Pozitiven), kvantifikacijska vrednost pa je pod mejo kvantifikacije, bo sistem NeuMoDx™ System javil, če je bil zaznan AdV pod spodnjo mejo kvantifikacije (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ali nad zgornjo mejo kvantifikacije (Upper Limit of Quantification, ULoQ).
- Če je bil zaznan AdV pod spodnjo mejo kvantifikacije (Lower Limit of Quantification, LLoQ), je možno test NeuMoDx™ HAdV Quant Assay ponoviti (po želji) z drugim alikvotom primerka.
- V primeru, da je zaznan AdV nad zgornjo mejo kvantifikacije (Upper Limit of Quantification, ULoQ), je možno test NeuMoDx™ HAdV Quant Assay ponoviti z razredčenim alikvotom prvotnega primerka. Priporočena je razredčitev v razmerju 1:1000 v AdV-negativni plazmi ali redčilu Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Koncentracijo prvotnega primerka je možno izračunati po naslednjem postopku:  
$$\text{Koncentracija prvotnega primerka} = \log_{10}(\text{faktor redčenja}) + \text{dobljena koncentracija razredčenega vzorca}.$$
- Občasna prisotnost inhibitorjev PCR v plazmi/serumu ali urinu lahko privede do napake kvantifikacije sistema; v tem primeru je priporočljiva ponovitev testa z enakim primerkom, razredčenim v Basematrix v razmerju 1:10 ali 1:100.
- Pozitivni rezultat ne pomeni nujno prisotnosti živih organizmov. Vseeno pa pozitiven rezultat predvideva prisotnost DNK AdV.
- Izbris ali mutacije v ohranjenih regijah, ki so cilji testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay, lahko vplivajo na zaznavo ali privedejo do napačnih rezultatov pri uporabi testnih trakov NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip.
- Rezultati testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay se naj uporabljajo kot dodatek kliničnim opazovanjem in drugim podatkom, ki so na voljo zdravniku; test ni namenjen diagnozi okužbe.
- Priporočene so dobre laboratorijske prakse, vključno z menjavo rokavic med ravnanjem s primerki pacientov, da preprečite kontaminacijo.

### OBDELAVA REZULTATOV

Razpoložljive rezultate si je možno ogledati oziroma natisniti na zavihku »Results« (Rezultati) okna Results (Rezultati) na zaslonu na dotik sistema NeuMoDx™ System.

Rezultate testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay samodejno ustvari programska oprema sistema NeuMoDx™ System z uporabo algoritma za odločanje in parametrov za obdelavo rezultatov, navedenih v definicijski datoteki testa NeuMoDx™ HAdV Assay Definition File (HAdV ADF). Rezultat testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay je lahko Negative (Negativen), Positive (Pozitiven) s sporočeno koncentracijo AdV, Positive (Pozitiven) nad ULoQ, Positive (Pozitiven) pod LLoQ, Indeterminate (Nedoločen) (IND), Unresolved (Nerešeno) (UNR) ali No Result (Ni rezultata) (NR) na podlagi statusa amplifikacije cilja in kontrole obdelave vzorca. Rezultati so sporočeni na podlagi algoritma odločanja in povzeti spodaj v preglednici 1.

**Preglednica 1: Povzetek algoritma za odločanje pri testu NeuMoDx™ HAdV Quant Assay**

Rezultat	AdV	Kontrola obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC1)	Interpretacija rezultatov
<b>Positive (Pozitiven) s prijavljeno koncentracijo</b>	Amplified (Amplificirano) $2 \leq [ADV] \leq 8,0 \log_{10}$ kopij/ml (potek dela za 550 $\mu$ l)* $2,88 \leq [ADV] \leq 8,0 \log_{10}$ kopij/ml (potek dela za 100 $\mu$ l)*	Amplified (Amplificirano) ali Not Amplified (Ni amplificirano)	DNK HAdV zaznana v kvantitativnem območju
<b>Positive (Pozitivno), nad zgornjo mejo kvantifikacije [Upper Limit of Quantitation, ULoQ]</b>	Amplified (Amplificirano) [ADV] > 8,0 $\log_{10}$ kopij/ml	Amplified (Amplificirano) ali Not Amplified (Ni amplificirano)	DNK HAdV zaznana nad kvantitativnim območjem
<b>Positive (Pozitivno), pod spodnjo mejo kvantifikacije [Lower Limit of Quantitation, LLoQ]</b>	Amplified (Amplificirano) [ADV] < 2 $\log_{10}$ kopij/ml (potek dela za 550 $\mu$ l)* [ADV] < 2,88 $\log_{10}$ kopij/ml (potek dela za 100 $\mu$ l)*	Amplified (Amplificirano) ali Not Amplified (Ni amplificirano)	DNK HAdV zaznana pod kvantitativnim območjem
<b>Negative (Negativno)</b>	Not Amplified (Ni amplificirano)	Amplified (Amplificirano)	DNK HAdV ni bila zaznana
<b>Indeterminate (Nedoločeno)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Ni amplificirano, zaznana napaka sistema, obdelava vzorca končana)		Vsi ciljni rezultati so bili neveljavni; ponovno preskusite vzorec†
<b>No Result (Ni rezultata)</b>	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Ni amplificirano, zaznana napaka sistema, obdelava vzorca prekinjena)		Obdelava vzorca je bila prekinjena; ponovno preskusite vzorec†
<b>Unresolved (Nerešeno)</b>	Not Amplified, No System Error Detected (Ni amplificirano, Ni zaznane napake sistema)		Vsi ciljni rezultati so bili neveljavni; ponovno preskusite vzorec†

\*Potek dela za 550  $\mu$ l se uporablja s primerki plazme/seruma in urina. Potek dela za 100  $\mu$ l se uporablja le s primerki plazme/seruma.

†Sistem NeuMoDx System je opremljen s samodejno funkcijo Rerun (Ponovni zagon)/Repeat (Ponoviti), ki jo lahko končni uporabnik izbere za zagotovitev, da se rezultat IND (Nedoločen)/NR (Ni rezultata)/UNR (Nerešeno) samodejno ponovno obdela, da se zmanjšajo zamude pri poročanju o rezultatih.

### Testna kalkulacija

- Za vzorce znotraj obsega kvantifikacije testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay je koncentracija DNK AdV v vzorcih izračunana z uporabo shranjene standardne krivulje, skupaj s koeficientom kalibracije in volumnom primerka.
  - Koeficient kalibracije je izračunan na podlagi rezultatov kompleta kalibratorjev NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit, ki so bili obdelani za določitev veljavnosti standardne krivulje, za posebno serijo testnega traku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, na specifičnem sistemu NeuMoDx™ System.
  - Koeficient kalibracije se vključi v končno določitev koncentracije DNK AdV.
  - Programska oprema NeuMoDx™ upošteva vhodni volumen primerka pri določanju koncentracije DNK AdV na ml primerka.
- Rezultati testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay so izraženi v  $\log_{10}$  kopij/ml.
- Dobljeno kvantifikacijo neznanih vzorcev je mogoče izslediti na komercialno količinsko opredeljeni plošči za preverjanje adenovirusa, izraženo kot kopije/ml s PCR z digitalnimi kapljicami (ddPCR).



### Testna kalibracija

Za kvantifikacijo DNK AdV v primerkih je potrebna veljavna kalibracija, ki temelji na standardni krivulji. Za ustvarjanje veljavnih rezultatov je potrebno dokončati testno kalibracijo z uporabo kalibratorjev, ki jih zagotavlja družba NeuMoDx™ Molecular, Inc.

### Kalibratorji

1. Kalibratorji NeuMoDx™ HAdV Calibrator so na voljo v kompletu (REF. 800801) in so sestavljeni iz posušene usedline sintetične DNK AdV.
2. Komplet kalibratorjev AdV je potrebno obdelati z vsako novo serijo testnih trakov NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strips, če je v sistem NeuMoDx™ System naložena nova definicijska datoteka testa AdV, če je trenutnemu kompletu kalibratorjev potekel rok veljavnosti (trenutno nastavljen na 90 dni) ali če je bila programska oprema sistema NeuMoDx™ System spremenjena.
3. Programska oprema NeuMoDx™ System bo uporabnika obvestila, ko bo kalibratorje treba potrebno obdelati; nova serija testnih trakov ne more biti uporabljena za testiranje, dokler niso bili kalibratorji uspešno obdelani.
4. Če je treba obdelati nov komplet kalibratorjev AdV, preberite vsa navodila, priložena kompletu kalibratorjev NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit, preden izvedete test.
5. Veljavnost kalibracije je določena po spodnjem postopku:
  - a) Za določanje veljavnosti mora biti obdelan komplet dveh kalibratorjev – visokega in nizkega.
  - b) Za ustvarjanje veljavnih rezultatov morata vsaj 2 od 3 ponovljenih vzorcev prikazati rezultate znotraj vnaprej določenih parametrov. Nazivni cilj nizkega kalibratorja je  $3 \log_{10}$  kopij/ml in nazivni cilj visokega kalibratorja je  $5 \log_{10}$  kopij/ml.
  - c) Koeficient kalibracije se izračuna za upoštevanje pričakovane variacije med serijami testnih trakov; ta koeficient kalibracije se uporabi pri določanju končne koncentracije AdV.
6. Če sta en ali oba kalibratorja neuspešna pri preverjanju veljavnosti, ponovite obdelavo neuspešnega kalibratorja/neuspešnih kalibratorjev z novo vialo. Če en kalibrator ne prestane preverjanja veljavnosti, je možno ponovno obdelati samo neuspešen kalibrator, saj sistem od uporabnika ne zahteva ponovne obdelave obeh kalibratorjev.

### Kontrola kakovosti

Lokalni predpisi običajno določajo, da je laboratorij odgovoren za nadzorne postopke, ki spremljajo natančnost in preciznost celotnega analitičnega postopka, in mora določiti število, vrsto in pogostost preskušanja kontrolnih materialov z uporabo preverjenih specifikacij učinkovitosti za nespremenjen, odoben testni sistem.

### Zunanje kontrole

1. Zunanje kontrole HAdV zagotavlja družba NeuMoDx Molecular, Inc. v kompletu HAdV External Control Kit (REF. 900801). Pozitivne kontrole vsebujejo posušeno usedlino sintetične DNK AdV.
2. Pozitivne in negativne zunanje kontrole je potrebno obdelati enkrat na 24 ur. Če komplet veljavnih zunanjih kontrol ne obstaja, bo programska oprema sistema NeuMoDx™ System od uporabnika zahtevala, da te kontrole obdelate, preden bo lahko pripravil rezultate vzorca.
3. Če so potrebne zunanje kontrole, pred izvedbo testa pripravite pozitivne in negativne kontrole v skladu z navodili, ki so priložena kompletu NeuMoDx™ HAdV External Control Kit.
4. Ko je prenosnik za epruvete s primerki postavljen na polico samodejnega nalagalnika, z uporabo zaslona na dotik naložite vialo s pozitivnimi in negativnimi kontrolami v sistem NeuMoDx™ System. NeuMoDx™ System bo prepoznal črtno kodo in začel z obdelavo epruvet s primerki, razen če reagenti ali potrošni materiali, potrebni za testiranje, niso na voljo.
5. Veljavnost zunanjih kontrol sistem NeuMoDx™ System oceni na podlagi pričakovanega rezultata. Pozitivna kontrola bi morala prikazati rezultat Positive (Pozitivno) za AdV in negativna kontrola bi morala prikazati rezultat Negative (Negativno) za AdV.
6. Ravnanje z odstopajočimi rezultati glede zunanjih kontrol je sledeče:
  - a) Positive (Pozitiven) rezultat testa pri negativnem kontrolnem vzorcu nakazuje težavo s kontaminacijo primerka.
  - b) Negative (Negativen) rezultat testa za pozitivni kontrolni vzorec lahko prikazuje težavo z reagentom ali instrumentom.
  - c) V katerem koli od zgornjih primerov ali v primeru rezultata Indeterminate (Nedoločen) (IND) ali No Result (Ni rezultata) (NR) ponovno obdelajte neuspešno zunanjo kontrolo NeuMoDx™ HAdV External Control z novo vialo kontrol(-e), ki niso prestale testa veljavnosti.
  - d) Če pozitivna zunanja kontrola NeuMoDx™ HAdV External Control še naprej javlja rezultat Negative (Negativno), se obrnite na službo za podporo strankam podjetja NeuMoDx™.
  - e) Če negativna zunanja kontrola NeuMoDx™ HAdV External Control še naprej javlja rezultat Positive (Pozitivno), poskušajte izločiti vse vire morebitne kontaminacije, vključno z menjavo VSEH reagentov, preden se obrnete na službo za podporo strankam podjetja NeuMoDx™.

### (Interne) kontrole obdelave vzorca

Eksogena kontrola obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC1) je vključena v NeuMoDx™ Extraction Plate ter je z vsakim vzorcem vključena v celotni postopek ekstrakcije nukleinske kisline ter amplifikacije PCR v realnem času. Primerji in šobe, specifični za SPC1, so tudi vključeni v vsak testni trak NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, s čimer je omogočena zaznava prisotnosti SPC1 skupaj s ciljno DNK HAdV (če je prisotna) preko multipleksa PCR v realnem času. Zaznava amplifikacije SPC1 programska oprema NeuMoDx™ System omogoča nadzor učinkovitosti ekstrakcije DNK in postopka amplifikacije PCR.

### Neveljavni rezultati

Če test NeuMoDx™ HAdV Quant Assay, izveden na sistemu NeuMoDx™ System, ne ustvari veljavnega rezultata, bo na podlagi tipa napake, ki se je pojavila, sporočen rezultat Indeterminate (Nedoločen) (IND), No Result (Ni rezultata) (NR) ali Unresolved (Nerešeno) (UNR).

Rezultat IND (Nedoločen) bo javljen, če je med obdelavo vzorca zaznana napaka sistema NeuMoDx™ System. V primeru, da je sporočen rezultat IND (Nedoločen), je priporočen ponovni test.

Rezultat UNR (Nerešen) bo javljen, če ni zaznana nobena veljavna amplifikacija DNK AdV ali SPC1, kar nakazuje morebitno napako reagenta ali prisotnost inhibitorjev. V primeru, da je javljen rezultat UNR (Nerešeno), se kot prvi korak lahko izvede ponoven test. Če ponovni test ni uspešen, lahko uporabite razredčen primerek, da ublažite učinke inhibicije kateregakoli vzorca.

Če test NeuMoDx™ HAdV Quant Assay, ki se izvaja na sistemu NeuMoDx System, ne ustvari veljavnega rezultata in se obdelava vzorca prekine pred zaključkom, bo sporočen rezultat No Result (Ni rezultata) (NR). V primeru, da je sporočen NR (Ni rezultata), je priporočen ponovni test.

### KARAKTERISTIKE DELOVANJA

#### Analitična občutljivost – meja zaznavanja<sup>12</sup>

Analitična občutljivost testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay je bila opredeljena s testiranjem serije razredčitev plošče EDX AdV Verification Panel (Exact Diagnostics), v vzorcih plazme/seruma in urina, negativnih na AdV, za določitev meje zaznavanja (Limit of Detection, LoD) na sistemih NeuMoDx System. Za plazmo/serum (550 µl) in urin je bila LoD opredeljena kot najbližja ciljna raven, določena eksperimentalno, nad koncentracijo, določeno z analizo tipa Probit s 95-odstotnim intervalom zaupanja (IZ). Za plazmo/serum (100 µl) so raziskali eno koncentracijo vzorca, in sicer 750 kopij/ml, z analizo stopnje zadetkov in jo potrdili za LoD, če je bila stopnja zaznavanja nad 95 %. Študija je bila izvedena v obdobju 3 dni z več serijami reagentov NeuMoDx™. Na vsaki stopnji redčenja je bilo obdelanih 42 ponovitev (pozitivni vzorci) in 8 ponovitev za negativne vzorce na dan. Stopnje zaznavanja so prikazane v preglednici 2 in 3.

**Preglednica 2:** Pozitivne stopnje zaznavanja za določanje LoD testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay (plazma/serum 550 µl in urin).

Ciljna koncentracija [kopij/ml]	Ciljna koncentracija [log <sub>10</sub> kopij/ml]	PLAZMA/SERUM, potek dela za 550 µl			URIN		
		Število veljavnih testov	Število pozitivnih	Stopnja zaznavanja	Število veljavnih testov	Število pozitivnih	Stopnja zaznavanja
200	2,30	42	42	100 %	42	42	100 %
100	2,00	42	41	97,62 %	42	41	97,62 %
70	1,85	42	39	92,86 %	42	29	69,05 %
50	1,48	42	20	47,62 %	42	14	33,33 %
NEG	0,00	24	0	0 %	24	0	0 %

**Preglednica 3:** Pozitivne stopnje zaznavanja za določanje LoD testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay (plazma/serum 100 µl).

Ciljna koncentracija [kopij/ml]	Ciljna koncentracija [log <sub>10</sub> kopij/ml]	PLAZMA/SERUM, potek dela za 100 µl		
		Število veljavnih testov	Število pozitivnih	Stopnja zaznavanja
750	2,88	89	87	97,75 %

LoD testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay za plazmo/serum (potek dela za 550 µl) je bila določena pri 100 kopij/ml (2 log<sub>10</sub> kopij/ml) s 95-odstotnim intervalom zaupanja (IZ) pri 82,85 kopij/ml; za urin je bila LoD določena pri 100 kopij/ml (2 log<sub>10</sub> kopij/ml) s 95-odstotnim intervalom zaupanja (IZ) pri 98,27 kopij/ml; za plazmo/serum (potek dela za 100 µl) je bila LoD določena pri 750 kopij/ml (2,88 log<sub>10</sub> kopij/ml).

#### Analitična občutljivost – spodnja meja kvantifikacije (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) in zgornja meja kvantifikacije (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)<sup>11</sup>

Spodnja meja kvantifikacije (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) in zgornja meja kvantifikacije (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) sta opredeljeni kot najnižja ciljna raven in zgornja ciljna raven, pri katerih je dosežena zaznava > 95 % IN kjer je TAE ≤ 1,0. Za določanje LLoQ in ULoQ je bila izračunana skupna analitična napaka (Total Analytical Error, TAE) za vsako od ciljnih ravni AdV, ki so poročale zaznavo > 95 %. TAE je določen kot:

$$TAE = |\text{Bias}| + 2s \text{ (Westgard)}$$

Odstopanje je kvadratni koren vsote med standardnim odklonom in vsoto odstopanja, oboje na kvadrat.

Združeni rezultati za 5 ravni primerkov plazme/seruma ali urina z HAdV, uporabljenih v študiji LLoQ/ULoQ, so prikazani v preglednici 4 in 5. Na podlagi tega nabora podatkov in predhodno določene LoD sta bili LLoQ in ULoQ določeni pri 100 kopij/ml (2 log<sub>10</sub> kopij/ml) in 8 kopij/ml za plazmo/serum 550 µl in urin ter pri 750 kopij/ml (2,88 log<sub>10</sub> kopij/ml) za plazmo/serum 100 µl.

**Preglednica 4:** ULoQ in LLoQ testnih trakov NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, s pristranskostjo in TAE (plazma/serum 550 µl in urin)

Ciljna konc. [kopij/ml]	Ciljna konc. [log <sub>10</sub> kopij/ml]	Plazma/serum 550 µl					Urin				
		Povprečna konc. [log <sub>10</sub> kopij/ml]	Zaznava (%)	SD	Pristranskost	TAE	Povprečna konc. [log <sub>10</sub> kopij/ml]	Zaznava (%)	SD	Pristranskost	TAE
3,23x10 <sup>8</sup>	8,5	9,11	100	0,16	0,61	0,93	8,98	100	0,20	0,48	0,89
200	2,30	2,46	100	0,15	0,16	0,46	2,47	100	0,22	0,17	0,61
100	2,00	2,23	97,62	0,26	0,23	0,75	2,34	97,62	0,21	0,34	0,75
70	1,85	2,13	92,86	0,31	0,28	0,91	2,32	69,05	0,33	0,47	1,14
30	1,48	2,08	47,62	0,22	0,61	1,04	2,05	33,33	0,26	0,58	1,10

**Preglednica 5:** ULoQ in LLoQ testnih trakov NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, z odstopanjem in TAE (plazma/serum 100 µl)

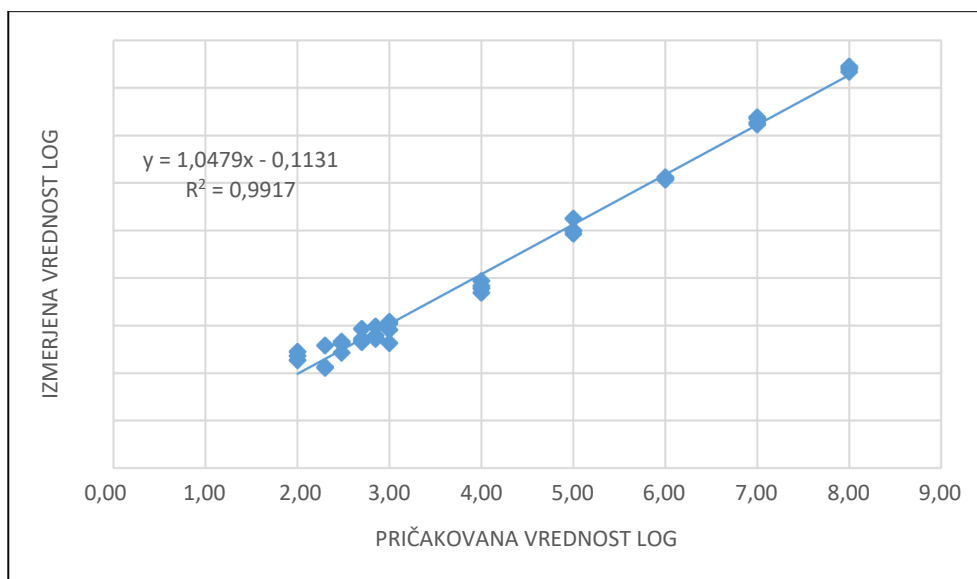
Ciljna konc. [kopij/ml]	Ciljna konc. [log <sub>10</sub> kopij/ml]	Plazma/serum 100 µl				
		Povprečna konc. [log <sub>10</sub> kopij/ml]	Zaznava (%)	SD	Pristranskost	TAE
3,23x10 <sup>8</sup>	8,5	8,81	100	0,20	0,62	0,72
750	2,88	2,96	97,75	0,30	0,08	0,69

Na podlagi rezultatov teh študij sta bili LoD in LLoQ testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay določeni pri 100 kopij/ml (2 log<sub>10</sub> kopij/ml) za plazmo/serum in urin pri poteku dela za 550 µl in pri 750 kopij/ml (2,88 log<sub>10</sub> kopij/ml) za plazmo/serum pri uporabi poteka dela za 100 µl. ULoQ za vse tipe primerkov je 3,23x10<sup>8</sup> kopij/ml (tukaj omejeno pri 8 log<sub>10</sub> kopij/ml).

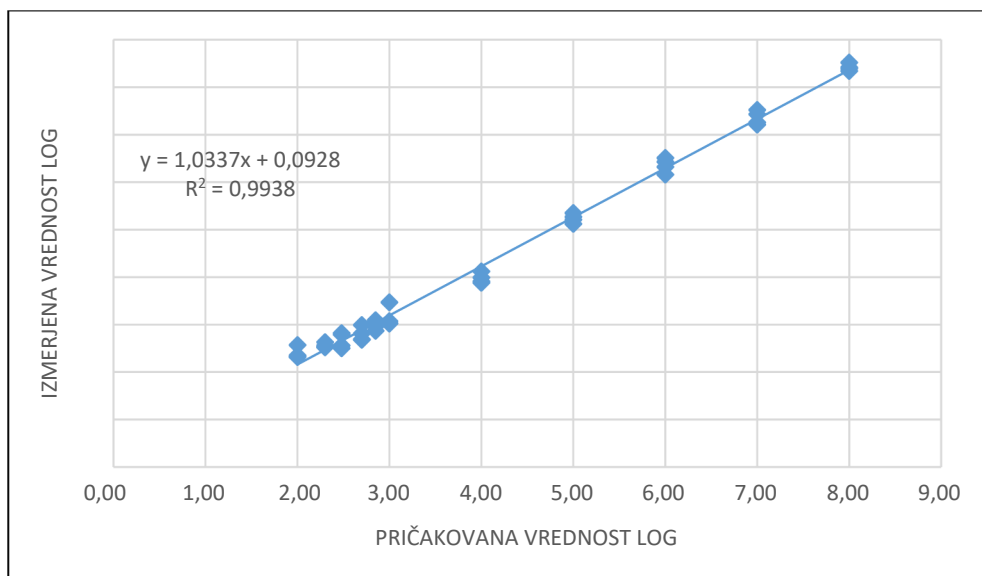
### Linearnost<sup>12</sup>

Linearnost testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay je bila ugotovljena v plazmi/serumu in urinu s pripravo serije razredčitev z uporabo 11 zaporednih razredčitev sintetičnega plazmida AdV (integrirane tehnologije DNK), pripravljenega v HAdV-negativni Basematrix 53 ali združenem HAdV-negativnem človeškem urinu v razponu koncentracij 8–2 log<sub>10</sub> kopij/ml za plazmo/serum 550 µl in urin. Pripravljenih je bilo šest zaporednih razredčitev sintetičnega plazmida HAdV v razponu koncentracij 8–3 log<sub>10</sub> kopij/ml za plazmo/serum 100 µl.

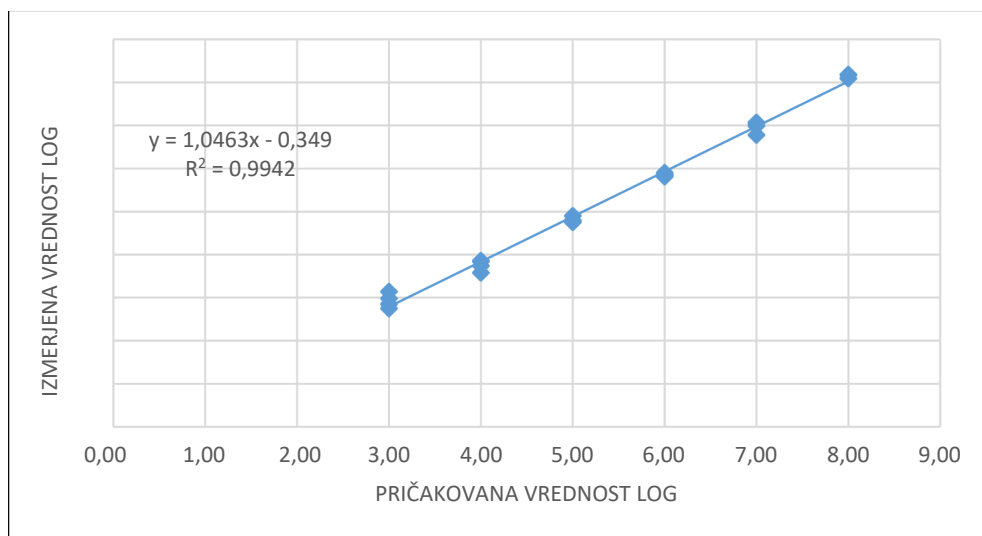
Koncentracije testa za HAdV, ki jih poroča sistem NeuMoDx™ System, v primerjavi s pričakovanimi vrednostmi, so predstavljene na *slikah* 2, 3 in 4.



**Slika 2:** Linearnost testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay za plazmo/serum (potek dela za 550 µl).



Slika 3: Linearnost testnega traku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip za primerke urina.



Slika 4: Linearnost testnega traku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip za plazmo/serum (potek dela za 100 µl)

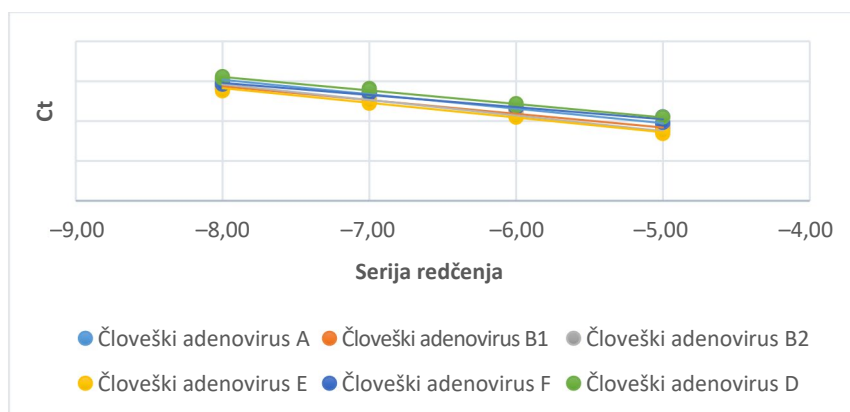
### Linearnost med genotipi<sup>12</sup>

Za linearnost testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay v sedmih genotipih HAdV (človeški adenovirus A, človeški adenovirus B1, človeški adenovirus B2, človeški adenovirus C, človeški adenovirus D, človeški adenovirus E in človeški adenovirus F) je bilo značilno testiranje petih različnih koncentracij vsakega genotip AdV, pripravljen v AdV-negativni Basematrix 53. Genotip človeškega adenovirusa C ne predstavlja polimorfizmov v genski ciljni regiji, ki jo zajema testni trak NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip

Študija je bila izvedena s testiranjem 2 ponovljenih vzorcev vsakega od 6 genotipov pri 5 koncentracijah (serija 10-kratnih razredčitev). Linearnost pri šestih genotipih AdV je predstavljena v preglednici 6 in sliki 5.

**Preglednica 6:** Linearnost testnega traku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip med genotipi

Genotip	Enačba linearnosti $y = Ct \text{ testa NeuMoDx HAdV Assay}$ $x = \text{serija razredčitev}$	R <sup>2</sup>
Referenčno zaporedje	$y = -3,529x - 0,7881$	0,99
HAdV A	$y = -3,626x + 1,348$	0,99
HAdV B1	$y = -3,449x + 1,1285$	0,97
HAdV B2	$y = -3,911x - 2,079$	0,99
HAdV D	$y = -3,384x + 3,9873$	0,99
HAdV E	$y = -3,687x - 1,2335$	0,99
HAdV F	$y = -3,036x + 5,28965$	0,98



**Slika 5:** Linearnost testnega traku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip med genotipi

### Analitska specifičnost – navzkrižna reaktivnost<sup>9,10</sup>

Analitična specifičnost je bila dokazana s presejanjem 23 organizmov, ki jih pogosto najdemo v primerkih plazme/seruma ali urina, ter vrst, ki so filogenetsko podobne AdV, da bi odkrili morebitno navzkrižno reaktivnost. Organizmi so bili pripravljene v skupinah po 5/6 organizmov ter testirani pri visoki koncentraciji. Testirani organizmi so prikazani v preglednici 7. Pri *in silico* pristopu smo analizirali dva organizma (E. coli in HCV). Navzkrižna reaktivnost pri testiranih organizmih ni bila opažena, kar potrjuje 100-odstotno analitično specifičnost testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay.

**Preglednica 7:** Patogeni, uporabljeni za dokaz analitične specifičnosti

Neciljni organizmi					
HTLV-1/2	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Virus hepatitisa B	BK virus	Virus Epstein-Barr	Virus varicella-zoster
<i>Cytomegalovirus</i>	Virus hepatitisa C	Virus herpesa simpleksa tipa 1	Virus herpesa simpleksa tipa 2	Človeški herpes virus tipa 6	Človeški herpes virus tipa 7
Človeški herpes virus tipa 8	Virus humane imunske pomanjkljivosti 1	Virus humane imunske pomanjkljivosti 2	Virus JC	SV40	

### Analitična specifičnost – moteče snovi, komenzalni organizmi<sup>9,10</sup>

Test NeuMoDx™ HAdV Quant Assay je bil ocenjen glede interference v prisotnosti neciljnih organizmov z uporabo istih skupin organizmov, pripravljenih za testiranje navzkrižne reaktivnosti in navedenih zgoraj v preglednici 7. Negativna plazma HAdV je bila obogatena z organizmi, združenimi v skupinah po 5/6, ter obogatena tudi s ciljem HAdV pri koncentraciji 2,5 log<sub>10</sub> kopij/ml. Pomembna motnja v prisotnosti teh komenzalnih organizmov ni bila opažena, kot je pokazal minimalni odklon kvantifikacije od kontrolnih primerkov, ki niso vsebovali motečega agenta.

**Analitična specifičnost – moteče snovi, endogene in eksogene snovi<sup>9,10</sup>**

Test NeuMoDx™ HAdV Quant Assay je bil ocenjen v prisotnosti tipičnih eksogenih in endogenih motečih snovi, s katerimi se srečujemo pri kliničnih primerkih plazme/seruma ali urina z HAdV. Vsebovale so nenavadno visoke stopnje krvnih komponent ali komponent urina, kot tudi splošna protivirusna zdravila, ki so razvrščena v *preglednici 8*. Vsaka snov je bila dodana presejani HAdV-negativni Basematrix 53 ali človeškemu urinu, obogatenu s 2,5 log<sub>10</sub> kopij/ml HAdV, vzorci pa so bili nato analizirani glede motenj.

Povprečna koncentracija in odstopanje vseh testiranih snovi, primerjana s kontrolnimi vzorci, obogatene s isto stopnjo HAdV, sta navedena v *preglednici 9*. Nobena od eksogenih in endogenih snovi ni vplivala na specifičnost testa NeuMoDx™ HAdV Quant Assay.

**Preglednica 8: Testiranje interference – eksogeni agenti (klasifikacije zdravil)**

Skupina	Ime zdravila	Klasifikacija
Skupina 1	Valganciklovir	PROTIVIRUSNO ZDRAVILO
	Prednizon	ZDRAVILO ZA ZAVIRANJE IMUNSKE ODZIVNOSTI
	Cidofovir	PROTIVIRUSNO ZDRAVILO
	Cefotaksim	ANTIBIOTIK
	Mikofenolat mofetil	ZDRAVILO ZA ZAVIRANJE IMUNSKE ODZIVNOSTI
Skupina 2	Vankomicin	ANTIBIOTIK
	Takrolimus	ZDRAVILO ZA ZAVIRANJE IMUNSKE ODZIVNOSTI
	Famotidin	ANTAGONIST HISTAMINA
	Valaciklovir	PROTIVIRUSNO ZDRAVILO
	Leflunomid	ZDRAVILO ZA ZAVIRANJE IMUNSKE ODZIVNOSTI

**Preglednica 9:** Testiranje interference – eksogeni in endogeni agenti

Endogeni (plazma/serum)	Povprečna konc.	Odstopanje (absolutno)
	log <sub>10</sub> kopij/ml	log <sub>10</sub> kopij/ml
Trigliceridi 500 mg/dl	2,03	0,46
Konjugirani bilirubin (0,25 g/l)	2,21	0,28
Nekonjugirani bilirubin (0,25 g/l)	2,71	0,22
Albumin (58,7 g/l)	2,74	0,25
Hemoglobin (2,9 g/l)	2,67	0,18
Endogeni (urin)	Povprečna konc.	Odstopanje (absolutno)
	log <sub>10</sub> kopij/ml	log <sub>10</sub> kopij/ml
Urobilirubin (> 2 mg/dl)	2,65	0,30
Glukoza (1000 mg/dl)	3,17	0,28
Urine s pH 4	2,67	0,22
Urine s pH 10	2,78	0,11
Levkociti (1E6 celic/ml)	2,72	0,22
Kri, 5 %	2,62	0,29
Protein (albumin > 100 mg/dl)	3,07	0,18
Smukec	2,89	0,00
Eksogena (zdravila)	Povprečna konc.	Odstopanje (absolutno)
	log <sub>10</sub> kopij/ml	log <sub>10</sub> kopij/ml
Skupina 1: Valganciklovir, prednizon, cidofovir, cefotaksim, mikofenolat mofetil	2,83	0,08
Skupina 2: Vankomicin, takrolimus, famotidin, valaciclovir, leflunomid	2,52	0,23

### Ponovljivost in natančnost znotraj laboratorija<sup>13</sup>

Natančnost testnega traku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip je bila določena s testiranjem 2 ponovljenih vzorcev 5-komponentnega panela primerkov AdV, pripravljenih s plazmidom HAdV, dvakrat na dan z uporabo enega sistema NeuMoDx™ 96 System v obdobju 20 dni. Določena je bila natančnost znotraj postopka, med postopki, znotraj dneva, med dnevi, (splošni) standardni odklon znotraj laboratorija pa je bilo  $\leq 0,30 \log_{10}$  kopij/ml. Med dnevi ali izvedbami je bila prikazana odlična natančnost, kot je prikazano v *preglednici 10*. Natančnost med upravljavci ni bila določena, saj upravljavec ne igra pomembne vloge pri obdelavi vzorcev z uporabo sistema NeuMoDx™ System.

**Preglednica 10:** Natančnost znotraj laboratorija – NeuMoDx™ HAdV Quant Assay na sistemih NeuMoDx™ System

Vzorec	SO znotraj dneva (log <sub>10</sub> kopij/ml)	SO med dnevi (log <sub>10</sub> kopij/ml)	SO znotraj postopka (log <sub>10</sub> kopij/ml)	SO med postopki (log <sub>10</sub> kopij/ml)	Splošno SO (znotraj laboratorija) (log <sub>10</sub> kopij/ml)
<b>Primerki plazme/seruma (550 µl)</b>					
5,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,15	0,13	0,15	0,01	0,19
4,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,17	0,10	0,17	0,05	0,20
3,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,18	0,00	0,12	0,14	0,19
2,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,16	0,07	0,15	0,03	0,17
0 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Primerki urina (550 µl)</b>					
5,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,19	0,14	0,16	0,1	0,23
4,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,17	0,09	0,11	0,13	0,18
3,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,16	0,11	0,16	0,00	0,20
2,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,17	0,09	0,14	0,10	0,19
0 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

### Ponovljivost med serijami<sup>13</sup>

Ponovljivost rezultatov testnih trakov NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip je bila določena z uporabo treh različnih serij testnih trakov NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip. Za oceno delovanja je bil uporabljen 5-komponentni panel vzorcev HAdV, pripravljenih s plazmidom HAdV, na enem sistemu NeuMoDx™ 96 Molecular System pri 3 ločenih postopkih. Analizirane so bile razlike znotraj serije in med serijami, rezultati pa izraženi kot absolutna pristranskost kvantifikacije med serijami, kar je predstavljeno v *preglednici 11*. Maksimalna skupna pristranskost je bila 0,39 log<sub>10</sub> kopij/ml. Ekvivalentno delovanje je bilo dokazano pri vseh serijah, saj je bila kvantifikacija vseh komponent panela znotraj določene tolerance.

**Preglednica 11: Ponovljivost med serijami – test NeuMoDx™ HAdV Quant Assay**

Vzorec	Absolutna pristranskost med serijo 1 in serijo 2 (log <sub>10</sub> kopij/ml)	Absolutna pristranskost med serijo 1 in serijo 3 (log <sub>10</sub> kopij/ml)	Absolutna pristranskost med serijo 2 in serijo 3 (log <sub>10</sub> kopij/ml)
<b>Primerek plazme/seruma (550 µl)</b>			
5,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,26	0,28	0,02
4,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,00	0,17	0,17
3,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,27	0,17	0,10
2,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,39	0,08	0,31
0 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,00	0,00	0,00
<b>Primerek urina (550 µl)</b>			
5,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,27	0,12	0,39
4,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,23	0,17	0,06
3,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,22	0,06	0,16
2,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,22	0,09	0,13
0 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,00	0,00	0,00

### Ponovljivost med instrumenti<sup>13</sup>

Ponovljivost rezultatov testa s testnimi trakovi NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip med instrumenti je bila določena z uporabo treh različnih sistemov (dveh sistemov NeuMoDx™ 288 Molecular System in enega sistema NeuMoDx™ 96 Molecular System). Za oceno delovanja je bil uporabljen 5-komponentni panel vzorcev HAdV, pripravljenih s plazmidom HAdV. Testiranje je bilo izvajano na vseh sistemih hkrati v obdobju 5 dni. Opredeljene so bile razlike znotraj dneva in med sistemi, skupni standardni odklon pa je bil določen pri ≤ 0,30 log<sub>10</sub> kopij/ml. Ekvivalentno delovanje je bilo dokazano pri vseh sistemih, saj je bilo standardno odstopanje (Standard Deviation, SD) pri kvantifikaciji vseh komponent panela znotraj določene tolerance (*preglednica 12*).

**Preglednica 12: Ponovljivost med instrumenti – testni trak NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip**

Vzorec	SO znotraj dneva (log <sub>10</sub> kopij/ml)	SO med dnevi (log <sub>10</sub> kopij/ml)	SO znotraj sistema (log <sub>10</sub> kopij/ml)	Med sistemi (log <sub>10</sub> kopij/ml)	SO ponovljivosti (log <sub>10</sub> kopij/ml)
<b>Primerek plazme/seruma (550 µl)</b>					
5,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,13	0,04	0,14	0,05	0,14
4,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,12	0,00	0,14	0,04	0,15
3,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,14	0,00	0,14	0,10	0,17
2,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,18	0,00	0,18	0,08	0,19
0 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Primerek urina (550 µl)</b>					
5,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,12	0,03	0,12	0,07	0,14
4,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,10	0,06	0,12	0,04	0,12
3,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,14	0,04	0,15	0,03	0,15
2,51 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,18	0,00	0,18	0,06	0,19
0 log <sub>10</sub> kopij/ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00



### REFERENCE

- 1) Joseph P. Lynch, III, and Adriana E. Kajon. 2016. Adenovirus: Epidemiology, Global Spread of Novel Serotypes, and Advances in Treatment and Prevention. *Semin Respir Crit Care Med.* 37(4): 586–602.
- 2) Michael G Ison, Randall T Hayden. 2016. Adenovirus. *Microbiol Spectr*; 4(4).
- 3) Navarro E, Serrano-Heras G *et al.* 2015. Real-time PCR Detection Chemistry. *Clin Chim Acta.*15;439:231-50.
- 4) US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens, <https://www.osha.gov/lawsregs/regulations/standardnumber/1910/1910.1030>
- 5) US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington,DC: US Government Printing Office, January 2009.
- 6) World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed. Geneva: World Health Organization, 2004.
- 7) CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
- 8) CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline—First Edition CLSI Document MM13-A. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005
- 9) CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases. Approved Guideline – Third Edition. CLSI document MM03. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.
- 10) CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document MM06-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2010.
- 11) CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2012.
- 12) CLSI. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline – First Edition. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2003.
- 13) CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2014.
- 14) CLSI. Metrological Traceability and Its Implementation; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Report EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2006.

### BLAGOVNE ZNAMKE

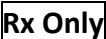













NeuMoDx™ je blagovna znamka družbe NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® je registrirana znamka podjetja Roche Molecular Systems, Inc.

STAT-NAT® je registrirana blagovna znamka podjetja SENTINEL CH. S.p.A.

Vsa druga imena izdelkov, blagovnih znamk in registriranih blagovnih znamk, ki se lahko pojavljajo v tem dokumentu, so last njihovih zadevnih lastnikov.

### SIMBOLI

SIMBOL	POMEN
	Samo na recept
	Proizvajalec
	Distributer
	Diagnostični medicinski pripomoček <i>in vitro</i>
	Kataloška številka
	Koda serije
	Glejte navodila za uporabo
	Pozor: preberite spremne dokumente
	Omejitev temperature
	Hranite na suhem mestu
	Ne uporabljajte ponovno
	Ne izpostavljajte svetlobi
	Vsebuje zadostno količino za <n> testov
	Uporabno do



SENTINEL CH. S.p.A.  
Via Robert Koch, 2  
20152 Milano, Italy

[www.sentinel diagnostics.com](http://www.sentinel diagnostics.com)



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

+1 888 301 NMDX (6639)  
[techsupport@neumodx.com](mailto:techsupport@neumodx.com)

Poročanje v okviru vigilance: [www.neumodx.com/contact-us](http://www.neumodx.com/contact-us)

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