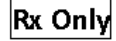



202400 NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip

UPOZORNĚNÍ: Pouze pro export do USA

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

Před použitím produktu si určitě pečlivě prostudujte tuto příbalovou informaci. Je nutné odpovídajícím způsobem dodržovat pokyny uvedené v příbalové informaci.
Spolehlivost výsledků analýzy nelze zaručit, pokud dojde k odchýlení od pokynů uvedených v této příbalové informaci.
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™ HSV 1/2 Quant Assay představuje automatizovaný *in vitro* test amplifikace nukleových kyselin pro kvantifikaci a diferenciaci DNA viru herpes simplex typu 1 (HSV-1, lidský alfa herpesvirus 1) a/nebo DNA viru herpes simplex typu 2 (HSV-2, lidský alfa herpesvirus 2) v EDTA plazmě od imunokompromitovaných pacientů po transplantaci^{1,2}.

Analýza NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay prováděná na molekulárních soustavách NeuMoDx™ 288 Molecular System a NeuMoDx™ 96 Molecular System zahrnuje automatizovanou extrakci DNA k izolování cílových nukleových kyselin ze vzorku a zacílení PCR v reálném čase na dvě vysoce konzervované oblasti v genomu viru HSV-1 a HSV-2.

Analýza je určena k použití jako pomůcka při monitorování hladin DNA viru HSV-1 a/nebo HSV-2 v EDTA plazmě. Tato analýza je určena k použití ve spojení s klinickou přítomností a jinými laboratorními markery postupu onemocnění pro klinickou léčbu a monitoring infekce virem HSV-1 a/nebo HSV-2.

Analýza NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay není určena k použití jako screeningový test na přítomnost DNA viru HSV-1/HSV-2 v krvi nebo přípravcích z krve.

Analýza NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay je určena k použití vyškoleným personálem klinické laboratoře, který je speciálně poučen a vyškolen v technikách PCR v reálném čase a diagnostických postupech *in vitro* a/nebo v použití molekulárních soustav NeuMoDx™ Molecular System. Analýza NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay není určena k samotestování ani k použití v místě péče.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

K přípravě plazmy lze použít plnou lidskou krev odebranou do sterilních zkumavek pro odběr krve, které obsahují EDTA jako antikoagulant, případně do zkumavek pro přípravu plazmy (Plasma Preparation Tubes, PPT). Aby mohlo být spuštěno testování, plazma v primární nebo sekundární zkumavce se vzorkem, kompatibilní se soustavou NeuMoDx™ System, se vloží pomocí k tomu určeného stojanu na zkumavky se vzorkem do soustavy NeuMoDx™ System, kde začne automatizované zpracování.

Alikvotní část 550 µl vzorku plazmy se smíchá s lýzovým pufrem NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 a soustava NeuMoDx™ System automaticky provede všechny kroky nezbytné k získání cílové nukleové kyseliny, přípravě izolované DNA pro amplifikaci pomocí PCR v reálném čase a, pokud jsou přítomny, k amplifikaci a detekci produktů amplifikace. Analýza NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay obsahuje kontrolu zpracování vzorků DNA (Sample Process Control, SPC1), která pomáhá sledovat přítomnost možných inhibičních látek a také selhání soustavy NeuMoDx™ System nebo reagensů, ke kterému může dojít během extrakce a amplifikace.

HSV-1 a HSV-2 jsou celosvětově rozšířené infekce. Ve Spojených státech amerických je séroprevalence HSV-1 58 % a HSV-2 17 %. K přenosu těchto virů dochází přímým kontaktem s infikovanou kůží nebo infikovanými sekrety. K přenosu může dojít během období subklinického vylučování viru, kdy nejsou přítomny příznaky^{3,4}.

U imunokompetentních dospělých způsobuje vir HSV-1 i HSV-2 řadu primárních infekcí, které postihují slizniční povrchy. Syndromy se překrývají, ale HSV-1 obvykle způsobuje orolabiální herpes, zatímco HSV-2 způsobuje anogenitální onemocnění. Oba syndromy jsou charakterizovány bolestivými, vředovitými puchýřky na kůži a sliznicích postižené oblasti. Po primární infekci dochází u virů HSV-1 a HSV-2 k latentní infekci senzorických neuronů ganglií. Reaktivace latentního viru vede k opakovanému onemocnění sliznic. Závažné onemocnění způsobené virem HSV-1 nebo HSV-2 je u imunokompetentních dospělých vzácné. Mohou se však vyskytnout závažné neurologické syndromy, včetně Bellovy obrny, meningitidy a encefalitidy, které jsou spojeny s významnou morbiditou a mortalitou, pokud nejsou včas léčeny. U imunokompromitovaných pacientů s onemocněním vyvolaným virem HSV se nejčastěji vyvine jeden z výše popsaných mukokutánních syndromů, které jsou důsledkem reaktivace latentní infekce^{3,4,5}.

Imunokompromitovaní jedinci jsou rovněž ohroženi jak lokálním rozšířením onemocnění (např. HSV ezofagitida), tak diseminovanou infekcí. Diseminovaná HSV infekce s postižením nesousedících viscerálních orgánů je spojena s velmi vysokou úmrtností, zejména u hepatitidy vyvolané virem HSV^{3,4,5}.

PRINCIPY POSTUPU

K provedení analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay na soustavě NeuMoDx™ System je využíván testovací proužek NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, kalibrátory NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrator, externí kontroly NeuMoDx™ HSV 1/2 External Control, lýzový pufr NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 a obecně použitelné reagensie NeuMoDx™. Analýza NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay v sobě spojuje automatizovanou extrakci DNA, amplifikaci a detekci pomocí PCR v reálném čase. Vzorky plazmy v primárních nebo sekundárních zkumavkách se vzorkem, kompatibilních se soustavou NeuMoDx™ System, jsou umístěny do stojanu na zkumavky se vzorkem, který je poté vložen do soustavy NeuMoDx™ System ke zpracování. Žádný další zásah obsluhy není nutný.

Soustavy NeuMoDx™ System k automatickému provedení buněčné lýzy, extrakce DNA a odstranění inhibitorů využívají kombinace zahřívání, lytických enzymů a extrakčních reagensů. Uvolněné nukleové kyseliny jsou zachyceny magnetickými afinními mikrokuličkami. Mikrokuličky se s navázanými nukleovými kyselinami vloží do zásobníku NeuMoDx™ Cartridge, kde se nenačkané složky, jiné než DNA, dále vymyjí promývací reagensí NeuMoDx™ Wash Reagent, a navázaná DNA se eluuje pomocí uvolňovací reagensí NeuMoDx™ Release Reagent. Soustavy NeuMoDx™ System pak používají eluovanou DNA k rehydrataci reagensí SENTINEL CH. Patentované lyofilizované amplifikační reagensí S.p.A. obsahující všechny prvky nezbytné pro amplifikaci s PCR specifických cílů HSV-1/HSV-2 a cíle SPC1. Po rekonstituci lyofilizovaných reagensí PCR soustava NeuMoDx™ System nadávákuje připravenou PCR-ready směs do zásobníku NeuMoDx™ Cartridge. K amplifikaci a detekci kontrolní a cílové (pokud je přítomna) sekvence DNA dochází v PCR komoře zásobníku NeuMoDx™ Cartridge. Zásobník NeuMoDx™ Cartridge je navržen tak, aby obsahoval amplicon po PCR v reálném čase, čímž se prakticky eliminuje riziko kontaminace po amplifikaci.

Genomovými cíli pro testovací proužek NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip jsou geny US6 a UL45 pro virus HSV-1 a geny US6 a UL30 pro virus HSV-2. Tyto amplifikované cíle jsou detekovány v reálném čase pomocí chemizmu hydrolyzační sondy (běžně označovaný jako chemizmus TaqMan®) za použití fluorogenních oligonukleotidových molekul sondy, specifických pro amplicony pro jejich příslušné cíle. TaqMan® sondy sestávají z fluoroforu kovalentně připojeného k 5' konci oligonukleotidové sondy a ze zhášedla na 3' konci. Když je sonda neporušená, fluorofor a zhášedlo jsou v blízkosti, což má za následek, že molekula zhášedla zháší fluorescenci emitovanou fluoroforem prostřednictvím Försterova rezonančního přenosu energie (Förster Resonance Energy Transfer, FRET). TaqMan® sondy 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 rozbíjí blízkost ke zhášedlu, takže účinek zhášení je díky FRET překonán a je možná detekce fluoroforu fluorescencí. Výsledný fluorescenční signál detekovaný kvantitativní PCR v termocykléru soustavy NeuMoDx™ System je přímo úměrný uvolněnému fluoroforu a může souviset s množstvím přítomné cílové DNA⁶.

K detekci DNA viru HSV-1, DNA viru HSV-2 a DNA kontroly SPC1 se používají TaqMan® sondy značené fluorofory na 5' konci a zhášedla na 3' konci. Software soustavy NeuMoDx™ System monitoruje fluorescenční signál vydávaný TaqMan® sondami na konci každého amplifikačního cyklu. Když je amplifikace hotova, software soustavy NeuMoDx™ System údaje analyzuje a podá zprávu o konečném výsledku (POSITIVE (POZITIVNÍ) / NEGATIVE (NEGATIVNÍ) / INDETERMINATE (NEURČITÝ) / UNRESOLVED (NEROZLIŠENO) / NO RESULT (BEZ VÝSLEDKU)). Pokud je výsledek pozitivní a vypočítaná koncentrace je v mezích stanovitelnosti, software soustavy NeuMoDx™ System dodá také kvantitativní hodnotu přidruženou ke vzorku, případně oznámí, zda je vypočítaná koncentrace mimo lineární rozsah.

REAGENCE / SPOTŘEBNÍ MATERIÁL

Dodaný materiál

REF.	Obsah	Počet testů na jednotku	Počet testů v balení
202400	Testovací proužek NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip <i>Lyofilizované reagensie PCR obsahující TaqMan® sondy a primery specifické pro HSV-1, TaqMan® sondy a primery specifické pro HSV-2 spolu s TaqMan® sondou a primery specifickými pro SPC1.</i>	16	96

Požadované, ale nedodávané reagensie a spotřební materiál (k dispozici samostatně od společnosti NeuMoDx)

REF.	Obsah
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Suché paramagnetické částice, lytický enzym a kontroly zpracování vzorků.</i>
800900	Kalibrátory NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrator <i>Jednorázové sady suchých kalibrátorů HSV-1 a HSV-2 pro nízkou a vysokou hladinu pro stanovení standardní křivky</i>
900901	Externí kontroly NeuMoDx™ HSV 1/2 External Control <i>Jednorázové sady suchých kontrol pozitivních na HSV-1 a HSV-2 a negativních kontrol pro stanovení každodenní validity analýzy NeuMoDx™ HSV-1/2 Quant Assay</i>
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Hroty Hamilton CO-RE (300 µl) s filtry
235905	Hroty Hamilton CO-RE (1 000 µl) s filtry

Podrobnosti o reagensích a spotřebním materiálu naleznete v příslušném příbalovém letáku.

Potřebné přístrojové vybavení

Molekulární soustava **NeuMoDx™ 288 Molecular System** (REF 500100) nebo **NeuMoDx™ 96 Molecular System** (REF 500200).
Software **NeuMoDx System**, verze 1.9.2.6 nebo vyšší.

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Testovací proužek NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip je určen pouze pro diagnostiku in vitro se soustavami NeuMoDx™ System.
- Před provedením testu si prostudujte všechny pokyny obsažené v příbalové informaci v soupravě.
- 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.
- Nemíchejte reagentie pro amplifikaci z jiných komerčních souprav.
- Nepoužívejte opakovaně. Všechny testovací proužky NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip chraňte před světlem a vlhkostí a uchovávejte je v hliníkových pouzdrech.
- K dispozici musí být platná kalibrace testování, generovaná zpracováním kalibrátorů vysokých a nízkých hodnot z kalibrátorů NeuMoDx™ HSV-1/2 Calibrator (REF 800900) předtím, než lze výsledky testu generovat pro klinické vzorky.
- Externí kontroly NeuMoDx™ HSV 1/2 External Control (REF 900901) musejí být během testování pomocí testovacího proužku NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip zpracovány každých 24 hodin.
- Minimální objem vzorku závisí na velikosti zkumavky, stojanu se vzorky a objemu vzorku, 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 deoxyribonukleázové (DNázové) kontaminaci. Při použití sekundárních zkumavek se vzorkem se doporučuje používat sterilní jednorázové přenosové pipety bez DNázy. Pro každý vzorek použijte novou pipetu.
- Abyste předešli kontaminaci, se zásobníkem NeuMoDx™ Cartridge po amplifikaci nemanipulujte ani jej nerozebírejte. Za žádných okolností nevyjímejte zásobníky 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 otevřenou zkumavkou, musí být zajištěno, že testovací proužek NeuMoDx™ HSV 1/2 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™ HSV 1/2 Quant Test Strip nebo extrakční destičky NeuMoDx™ Extraction Plate ani horního povrchu nádoby s lýžovým pufrům NeuMoDx™ Lysis Buffer 1; 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.neumodx.com/client-resources.
- Svislá čára na okraji textu označuje změny ve srovnání s předchozí verzí příbalového letáku.
- Po provedení testu si důkladně umyjte ruce.
- Nepipetujte ústy. V oblastech, kde se manipuluje se vzorky nebo reagentiemi, nekuřte, nepijte ani nejezte.
- Se vzorky vždy zacházejte tak, jako by byly infekční, a v souladu s bezpečnými laboratorními postupy, například s postupy popsány v normě OSHA pro krevní patogeny⁷. Pro materiály, které obsahují nebo u nichž panuje podezření, že obsahují infekční agens, by se měla používat úroveň biologické bezpečnosti 2⁸ anebo jiné vhodné postupy biologické bezpečnosti^{9,10}.
- Nepoužité reagentie a odpad likvidujte podle státních, federálních, oblastních a místních předpisů. Dodržujte doporučení uvedená v bezpečnostním listu (BL).

UCHOVÁVÁNÍ, MANIPULACE A STABILITA PRODUKTU

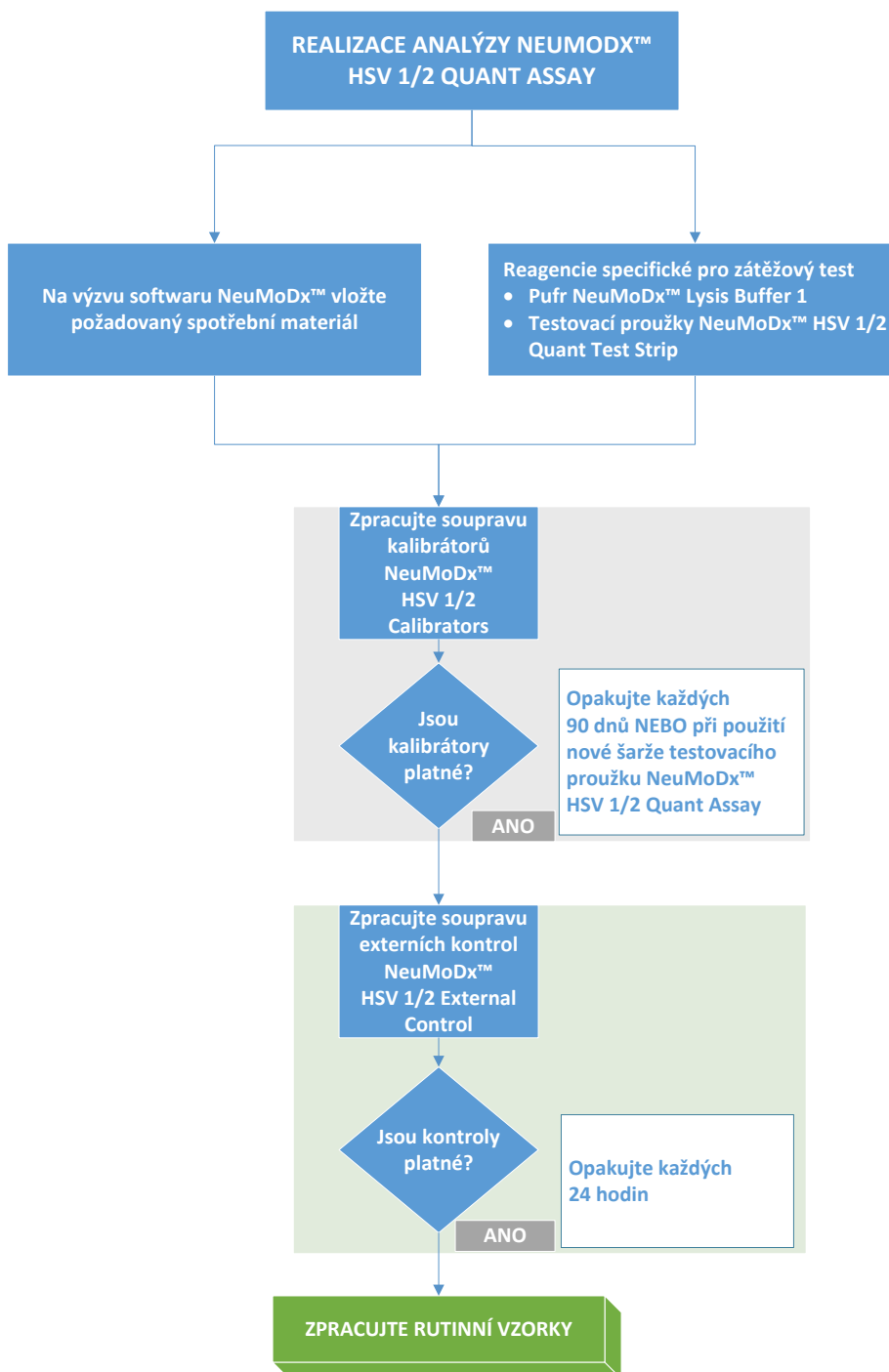
- Testovací proužky NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip jsou stabilní v primárním obalu po dobu expirace uvedenou na štítku produktu při skladování při teplotě mezi 15 a 30 °C.
- Testovací proužek NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip vložený do soustavy NeuMoDx™ System je stabilní po dobu 32 dní; software soustavy NeuMoDx™ System vyzve k vyjmutí testovacích proužků, které byly v soustavě NeuMoDx™ System používány déle než 32 dnů a bude třeba otevřít (vyjmout proužky ze sáčku) a do soustavy NeuMoDx™ System vložit nové testovací proužky NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip. Během vkládání na stojan na testovací proužky neodstraňujte z proužku hliníkovou fólii.
- Kalibrátory a kontroly NeuMoDx™ HSV1/2 jsou neinfekční, ale po použití by měly být zlikvidovány spolu s laboratorním biologicky nebezpečným odpadem, jelikož po zpracování na soustavě budou obsahovat cílový materiál, což by při nesprávné manipulaci mohlo způsobit kontaminaci.

ODBĚR, PŘEPRAVA A UCHOVÁVÁNÍ VZORKŮ

1. Se všemi vzorky manipulujte, jako kdyby byly schopné přenosu infekčních agens.
2. Plnou krev ani vzorky plazmy skladované v primárních zkumavkách nezmrazujte.
3. Pro přípravu vzorků plazmy by měla být plná krev odebrána do sterilních zkumavek za použití EDTA jako antikoagulantu. Postupujte podle pokynů výrobce zkumavek pro odběr vzorků.
4. Plná krev odebraná v zařízeních vyjmenovaných výše může být před přípravou plazmy skladována a/nebo přepravována až po dobu 24 hodin při 2°C až 8°C. Příprava vzorků by měla být prováděna podle pokynů výrobce.
5. Připravená plazma může být před zpracováním uchovávána na soustavě NeuMoDx™ System po dobu až 24 hodin. Pokud je třeba delší doby skladování, doporučujeme vzorky buď zchladit, nebo zmrazit jako sekundární alikvotní podíly.
6. Připravené vzorky plazmy by při 2 až 8 °C neměly být před testováním skladovány déle než 8 dnů a maximálně 24 hodin při pokojové teplotě.
7. Připravené vzorky mohou být před zpracováním skladovány při teplotě < -20 °C po dobu až 8 týdnů; vzorky by před použitím neměly být vystaveny více než 2 cyklům zmrazení/rozmrázení.

- a. Pokud jsou vzorky zmrazené, nechte je před testováním úplně rozmrazit při teplotě místnosti (15–30 °C); pro vytvoření rovnoměrně rozloženého vzorku vzorek zviřte.
 - b. Jakmile jsou zmrazené vzorky rozmrazeny, testování by mělo proběhnout do 24 hodin.
8. Pokud jsou vzorky přepravovány, měly by být zabaleny a označeny v souladu s platnými předpisy země a/nebo mezinárodními předpisy.
 9. Vzorky zřetelně označte a uveďte, že se jedná o vzorky k testování HSV-1 a/nebo HSV-2.
 10. Přejděte k části *Příprava testu*.

Celý proces realizace analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay je shrnut níže na *obrázku 1*.



Obrázek 1: Pracovní postup realizace analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

NÁVOD K POUŽITÍ

Příprava testu

V případě vzorků plazmy může analýza NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay proběhnout přímo v primárních zkumavkách pro odběr krve, případně z alikvotních podílů vzorků v sekundárních zkumavkách.

1. Na zkumavku se vzorkem, kompatibilní se soustavou NeuMoDx™ System, nalepte štítek s čárovým kódem. Primární odběrová zkumavka na krev může být označena a po odstředění umístěna přímo do vhodného stojanu na zkumavky se vzorkem; viz pokyny výrobce.
2. Pokud testujete vzorek plazmy 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. Minimální objemy **nad** gelovou vrstvou / buffy coat jsou definovány níže a budou splněny, pokud budou vzorky odebrány a zpracovány podle pokynů výrobce zkumavek. U vzorků, které jsou odebrány nesprávně, není provedení testu zaručeno.
3. V případě vzorků plazmy v sekundární zkumavce přeneste alikvotní podíl vzorku do zkumavky se vzorkem s čárovým kódem, která je kompatibilní se soustavou NeuMoDx™ System, a to podle objemů definovaných níže:

Stojan na zkumavky se vzorkem	Velikost zkumavky	Minimální požadovaný objem vzorku
32místný stojan na zkumavky se vzorkem	Průměr 11–14 mm a výška 60–120 mm	750 µl
24místný stojan na zkumavky se vzorkem	Průměr 14,5-18 mm a výška 60–120 mm	1 100 µl
Stojan na zkumavky se vzorkem o malém objemu	1,5ml mikrocentrifugační zkumavka s kónickým dnem	650 µl

Obsluha soustavy NeuMoDx™ System

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

1. Podle požadovaného typu zkumavky se vzorkem načtěte do soustavy NeuMoDx™ System objednávku testu.
2. Rozstříhnete hliníková pouzdra testovacích proužků NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip v místě označeném bočními zářezy.
3. Proužky z pouzdra vyjměte až těsně před použitím.
4. Před použitím pouzder se vždy ujistěte, že jsou dobře uzavřeny a že je stále uvnitř sáček s vysoušedlem. Používejte pouze tehdy, jsou-li pouzdra nepoškozena.
5. Pokud se barva sáčků s vysoušedlem změní z oranžové na zelenou, hliníková pouzdra a jejich obsah zlikvidujte.
6. Osadte jeden nebo více stojanů na testovací proužky NeuMoDx™ System Test Strip testovacím proužkem (proužky) NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip a k vložení stojanu (stojanů) na testovací proužky do soustavy NeuMoDx™ System použijte dotykovou obrazovku.
7. Pokud vás software soustavy NeuMoDx™ System vyzve, přidejte do stojanů na spotřební materiál soustavy NeuMoDx™ System nezbytný požadovaný spotřební materiál a k vložení stojanu (stojanů) do soustavy NeuMoDx™ System použijte dotykovou obrazovku.
8. Pokud vás software soustavy NeuMoDx™ System vyzve, vyměňte podle potřeby promývací reagenty NeuMoDx™ Wash Reagent, uvolňovací reagenty NeuMoDx™ Release Reagent, vyprázdňte 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).
9. Pokud vás software soustavy NeuMoDx™ System vyzve, zpracujte dle nutnosti kalibrátory (REF 800900) a/nebo externí kontroly (REF 900901). Další informace, týkající se kalibrátorů a kontrol, lze najít v části Zpracování výsledků.
10. Zkumavku (zkumavky) s kalibrátory/kontrolami vložte do běžného 32místného stojanu na zkumavky a ujistěte se, že jsou ze všech zkumavek odstraněna víčka.
11. Stojan (stojany) na zkumavky se vzorkem umístěte na přihrádku automatického podavače a k vložení stojanu (stojanů) do soustavy NeuMoDx™ System použijte dotykovou obrazovku. Tím se zahájí zpracování vložených vzorků pro identifikovaný test (identifikované testy), pokud je v soustavě přítomna platná objednávka testů.

OMEZENÍ

- Testovací proužek NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip lze použít pouze na soustavách NeuMoDx™ System.
- Účinnost testovacího proužku NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip byla stanovena u vzorků plazmy připravených z plné krve odebrané s EDTA jako antikoagulantem. Použití testovacího proužku NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip nebylo u jiných typů vzorků vyhodnoceno a výkonové charakteristiky tohoto testu nejsou u jiných typů vzorků známy.
- Analýza NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay se nesmí používat se vzorky od osob užívajících heparin.
- Protože detekce DNA viru HSV-1 a/nebo HSV-2 závisí na množství organismů přítomných ve vzorku, závisí spolehlivost výsledků na správném odběru vzorků, zacházení s nimi a jejich skladování.
- K chybným výsledkům testů může dojít kvůli nesprávnému odběru vzorků, zacházení s nimi, jejich nevhodnému skladování, technické chybě nebo kvůli 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™ HSV 1/2 Quant Assay.
- Obsluha soustavy NeuMoDx™ System je omezena pouze na personál vyškolený v používání soustavy NeuMoDx™ System.
- Pokud cíle HSV-1, HSV-2 a SPC1 neamplifikují, bude ohlášen neplatný výsledek (Indeterminate (Neurčitý) nebo Unresolved (Nerozlišeno)) a test by měl být zopakován.
- Pokud před dokončením zpracování vzorku dojde k chybě systému, bude nahlášeno „No Result“ (Bez výsledku) a test by měl být zopakován.
- Pokud je výsledek analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay Positive (Pozitivní), ale hodnota stanovitelnosti je mimo meze stanovitelnosti, soustava NeuMoDx™ System oznámí, zda byla detekována DNA HSV-1 a/nebo HSV-2 viru pod dolní mezí stanovitelnosti (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) nebo nad horní mezí stanovitelnosti (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- V případě, že detekovaná DNA viru HSV-1 a/nebo HSV-2 byla nad hodnotou ULoQ, může být analýza NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay zopakována se zředěným alikvotním podílem původního vzorku. Doporučujeme ředění 1 : 100 nebo 1 : 1 000 v plazmě negativní na DNA HSV-1 a HSV-2 nebo v diluentu Basematrix 53 Diluent (Basematrix; SeraCare, Milford, MA). Soustava automaticky spočítá koncentraci původního vzorku takto: Původní koncentrace vzorku = \log_{10} (faktor ředění) + oznámená koncentrace zředěného vzorku, pokud je před opakováním v softwaru řádně zvolen faktor ředění.
- Důsledkem občasné přítomnosti PCR inhibitorů v plazmě může být chyba stanovitelnosti v systému; pokud k tomu dojde, doporučujeme test zopakovat se stejným vzorkem zředěným v diluentu Basematrix v poměru 1 : 10 nebo 1 : 100.
- Pozitivní výsledek nemusí nutně znamenat přítomnost životaschopných organismů. Pozitivní výsledek však znamená přítomnost DNA viru HSV-1 a/nebo HSV-2.
- Delece nebo mutace v konzervovaných úsecích zacílených analýzou NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay mohou za použití testovacího proužku NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip ovlivnit detekci nebo vést k chybnému výsledku.
- Výsledky z analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay by měly být použity jako doplněk klinických vyšetření a dalších informací, které má lékař k dispozici; test není určen k diagnostice infekce.
- Pro zabránění kontaminace doporučujeme správnou laboratorní praxi, včetně výměny rukavic mezi manipulacemi se vzorky pacientů.

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™ HSV 1/2 Quant Assay automaticky generuje software soustavy NeuMoDx™ System používající algoritmus rozhodování a parametry zpracování výsledků popsané v souboru definic analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Assay (HSV1/2 ADF verze 4.0.0). Výsledek analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay může být ohlášen jako Negative (Negativní), Positive (Pozitivní) s ohlášením koncentrace HSV-1 a/nebo HSV-2, Positive (Pozitivní) nad ULoQ, Positive (Pozitivní) pod LLoQ, Indeterminate (IND; Neurčitý), Unresolved (UNR; Nerozlišeno) nebo No Result (NR; Bez výsledku) na základě stavu amplifikace cíle a kontroly zpracování vzorku. Výsledky jsou uváděny na základě rozhodovacího algoritmu o zpracování výsledků dle ADF, shrnutého v *tabulce 1*.

Výsledky získané pomocí testovacího proužku NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip by měly být interpretovány ve spojení s ostatními klinickými a laboratorními nálezy.

Tabulka 1: Shrnutí interpretace výsledků analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

Výsledek	HSV-1/HSV-2	Kontrola zpracování vzorků (Sample Process Control, SPC1)	Interpretace výsledků
Positive (Pozitivní) s ohlášenou koncentrací	Amplified (Amplifikováno) 2,05 ≤ [HSV-1] ≤ 6,0 log ₁₀ kopií/ml	Amplified (Amplifikováno) nebo Not Amplified (Není amplifikováno)	DNA viru HSV-1 detekována v kvantitativním rozmezí
	Amplified (Amplifikováno) 1,78 ≤ [HSV-2] ≤ 6,0 log ₁₀ kopií/ml	Amplified (Amplifikováno) nebo Not Amplified (Není amplifikováno)	DNA viru HSV-2 detekována v kvantitativním rozmezí
Positive (Pozitivní), nad horní mezí stanovitelnosti [Upper Limit of Quantitation, ULOQ]	Amplified (Amplifikováno) [HSV-1] > 6,0 log ₁₀ kopií/ml	Amplified (Amplifikováno) nebo Not Amplified (Není amplifikováno)	DNA viru HSV-1 detekována nad kvantitativním rozmezím
	Amplified (Amplifikováno) [HSV-2] > 6,0 log ₁₀ kopií/ml	Amplified (Amplifikováno) nebo Not Amplified (Není amplifikováno)	DNA viru HSV-2 detekována nad kvantitativním rozmezím
Positive (Pozitivní), pod dolní mezí stanovitelnosti [Lower Limit of Quantitation, LLOQ]	Amplified (Amplifikováno) [HSV-1] < 2,05 log ₁₀ kopií/ml	Amplified (Amplifikováno) nebo Not Amplified (Není amplifikováno)	DNA viru HSV-1 detekována pod kvantitativním rozmezím
	Amplified (Amplifikováno) [HSV-2] < 1,78 log ₁₀ kopií/ml	Amplified (Amplifikováno) nebo Not Amplified (Není amplifikováno)	DNA viru HSV-2 detekována pod kvantitativním rozmezím
Negative* (Negativní*)	Not Amplified (Není amplifikováno)	Amplified (Amplifikováno)	DNA viru HSV-1/HSV-2 DNA nebyla detekována
Indeterminate (Neurčitý)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Není amplifikováno, Byla zjištěna chyba soustavy, Zpracování vzorků dokončeno)		Všechny výsledky cíle byly neplatné; otestujte vzorek znovu†
No Result (Bez výsledku)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Není amplifikováno, Byla zjištěna chyba soustavy, Zpracování vzorků zrušeno)		Zpracování vzorku bylo přerušeno; otestujte vzorek znovu†
Unresolved (Nerozlišeno)	Not Amplified, No System Error Detected (Není amplifikováno, Nebyla zjištěna žádná chyba systému)		Všechny výsledky cíle byly neplatné; otestujte vzorek znovu†

*Stejně jako u jiných testů negativní výsledky neznamenají vyloučení infekce virem HSV-1 a/nebo HSV-2.

†Soustava NeuMoDx™ System je opatřena automatickou funkcí Rerun (Nová analýza) / Repeat (Opakovat), kterou si může koncový uživatel zvolit k zajištění, že výsledek IND/NR/UNR bude automaticky znovu zpracován, aby se tak minimalizovaly prodlevy v hlášení výsledků.

Výpočet testu

- U vzorků v mezích stanovitelnosti analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay se koncentrace DNA HSV-1 a DNA HSV-2 ve vzorcích počítá za pomoci uložených relativních standardních křivek ve spojení s koeficienty kalibrací.
 - Koeficient kalibrace se vypočítá na základě výsledků kalibrátorů NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrator zpracovaných tak, aby byla zajištěna validita standardní křivky pro konkrétní šarži testovacího proužku NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip na konkrétní soustavě NeuMoDx™ System pro jednotlivé cíle.
 - Koeficient kalibrace je zahrnut do konečného stanovení koncentrace DNA viru HSV-1 a DNA viru HSV-2.
- Výsledky analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay se udávají jako log₁₀ kopií/ml a kopie/ml.
- Výsledná stanovitelnost u neznámých vzorků je výsledovatelná podle ověřovacího panelu EDX HSV-1 Verification Panel a HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics), které jsou kvantifikovány pomocí digitální kapkové PCR (digital droplet PCR, ddPCR).

Kalibrace testu

Platná kalibrace na základě standardní křivky je pro kvantitativní vyjádření DNA viru HSV-1 a/nebo DNA viru HSV-2 ve vzorcích nezbytná. Pro získání platných výsledků musí být kalibrace testu provedena u HSV-1 i HSV-2 za použití kalibrátorů dodaných společností NeuMoDx™ Molecular, Inc.

Kalibrátory

1. Kalibrátory NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrator jsou dodávány v soupravě (REF 800900) a jsou složeny ze sušené pelety ze syntetické DNA viru HSV-1 a DNA viru HSV-2 a specifického pufru.
2. Sada kalibrátorů pro HSV-1/HSV-2 musí být zpracována s každou novou šarží testovacích proužků NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, nebo pokud je do soustavy NeuMoDx™ System nahrán nový soubor definic analýzy HSV-1/HSV-2 anebo pokud je aktuální sada kalibrátorů za dobou platnosti (v současnosti nastavenou na 90 dnů), případně pokud je upraven software soustavy NeuMoDx™ System.
3. Software soustavy NeuMoDx™ System uživatele uvědomí, kdy je třeba kalibrátory zpracovat; novou šarží testovacích proužků nelze k testování použít, dokud nebudou kalibrátory úspěšně zpracovány.
4. Pokud je třeba zpracovat novou sadu kalibrátorů pro HSV-1/HSV-2, před provedením testu si prostudujte všechny pokyny obsažené v příbalové informaci ke kalibrátorům NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrator.
5. Validita kalibrace je zajištěna následovně:
 - a. Pro stanovení platnosti jednotlivých křivek je třeba vygenerovat dva koeficienty kalibrace, jeden pro HSV-1 a jeden pro HSV-2, a to zpracováním sady dvou kalibrátorů pro každý cíl – vysoká a nízká hladina.
 - b. Pro získání platných výsledků je nutné mít výsledky nejméně 2 ze 3 replikátů v mezích předem stanovených parametrů. Nominální cíl kalibrátoru pro nízkou hladinu je $3,12 \log_{10}$ kopií/ml a nominální cíl kalibrátoru pro vysokou hladinu je $5,12 \log_{10}$ kopií/ml, a to pro sady kalibrátorů jak pro HSV-1, tak pro HSV-2.
 - c. Koeficient kalibrace se vypočítá tak, aby zohledňoval očekávanou variaci mezi šaržemi testovacích proužků; tento koeficient kalibrace se používá ke stanovení finální koncentrace HSV-1 a/nebo HSV-2.
6. 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.
7. Pokud kalibrátor (kalibrátory) neprojde kontrolou validity podruhé za sebou, kontaktujte technickou podporu společnosti QIAGEN.

Kontrola kvality

Místní předpisy obvykle stanoví, že laboratoř je odpovědná za kontrolní postupy, které monitorují přesnost 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 HSV-1 a HSV-2 External Control (REF 900901) poskytuje společnost NeuMoDx™. Pozitivní kontroly obsahují sušenou peletu syntetické DNA viru HSV-1 a HSV-2. Negativní kontrolou je pufr.
2. Pozitivní a negativní externí kontroly je třeba provést jednou za 24 hodin. Pokud sada platných externích kontrol neexistuje, software soustavy NeuMoDx™ System vyzve uživatele ke zpracování těchto kontrol dřív, než budou moci být ohlášeny výsledky vzorků.
3. Pokud je třeba provést externí kontroly, připravte si před provedením testu pozitivní a negativní kontroly, jak je uvedeno v příbalové informaci k externím kontrolám HSV 1/2 External Control.
4. Za použití dotykové obrazovky a stojanu na zkumavky se vzorkem umístěného na přihrádce automatického podavače vložte pozitivní a negativní kontroly do soustavy NeuMoDx™ System. Soustava NeuMoDx™ System rozpozná čárový kód a začne zpracovávat zkumavky s externími kontrolami, pokud jsou reagentie či spotřební materiál nezbytné k testování k dispozici.
5. Validita externích kontrol bude vyhodnocena soustavou NeuMoDx™ System na základě očekávaného výsledku. Pozitivní kontrola by měla přinést výsledek HSV-1 a HSV-2 Positive (Pozitivní) a negativní kontrola by měla přinést výsledek HSV-1 a HSV-2 Negative (Negativní).
6. S neshodným výsledkem externích kontrol by mělo být zacházeno následovně:
 - a. Pozitivní výsledek testu hlášený u vzorku negativní kontroly může naznačovat problém s kontaminací vzorku a je třeba prověřit postupy kontroly kvality laboratoře, aby se zjistila hlavní příčina. Zajistěte oddělené prostory pro přípravu vzorků, manipulaci s kontrolami a přípravu PCR v reálném čase. Tipy na další řešení problémů naleznete v *návodu k obsluze molekulárních soustav NeuMoDx 288 Molecular System nebo NeuMoDx 96 Molecular System*.
 - b. Výsledek Negative (Negativní) testu u vzorku pozitivní kontroly může naznačovat problém související s reagentií nebo přístrojem.
 - c. V každém výše uvedeném případě anebo v případě výsledku No Result (NR, bez výsledku), Unresolved (UNR, nerozlišeno) nebo Indeterminate (IND, neurčitý) neúspěšnou kontrolu (neúspěšné kontroly) zopakujte s novou, čerstvě připravenou ampulkou kontroly (kontrol), které testem validity neprošly.
 - d. Pokud pozitivní externí kontroly NeuMoDx™ HSV 1/2 External Control nepřestávají hlásit výsledek Negative (Negativní), kontaktujte technickou podporu společnosti QIAGEN.
 - e. Pokud negativní externí kontroly NeuMoDx™ HSV 1/2 External Control nepřestávají hlásit výsledek Positive (Pozitivní), pokuste se předtím, než kontaktujete technickou podporu společnosti QIAGEN, eliminovat všechny zdroje možné kontaminace, včetně výměny VŠECH reagentií.
7. Pokud externí kontroly neposkytnou očekávané výsledky, je nutné zopakovat sadu pozitivních i negativních kontrol. Vzorky nebudou zpracovány, dokud soustava nezpracuje platnou sadu externích kontrol. V případě, že se vzorky zpracovávají v době, kdy vyprší platnost externích kontrol, bude systém vyžadovat spuštění platné sady externích kontrol. Pokud sada externích kontrol neposkytne platné výsledky, výsledky vzorků nebudou ohlášeny.

Kontroly (interní) zpracování vzorků

Exogenní kontrola zpracování vzorků (Sample Process Control, SPC1) je zabudována do extrakční destičky NeuMoDx™ Extraction Plate a u každého vzorku/kontroly/kalibrátoru prochází celým procesem extrakce nukleové kyseliny a amplifikace s PCR v reálném čase. Každý testovací proužek NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip obsahuje primery a sondu specifické pro SPC1, které umožňují detekci přítomnosti SPC1 spolu s cílovou DNA viru HSV-1 a HSV-2 (pokud je přítomna) prostřednictvím multiplexní PCR v reálném čase. Detekce amplifikace SPC1 umožňuje softwaru soustavy NeuMoDx™ System sledovat účinnost extrakce DNA a procesy amplifikace s PCR.

Neplatné výsledky

Pokud se analýze NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay prováděné na soustavě NeuMoDx™ System nepodaří vyprodukovat platný výsledek, bude na základě typu chyby, ke které došlo, oznámen výsledek buď jako Indeterminate (IND; Neurčitý), No Result (NR; Bez výsledku), nebo Unresolved (UNR; Nerozlišeno). Pro získání platného výsledku je třeba test zopakovat.

Pokud je během zpracování vzorku detekována chyba soustavy NeuMoDx™ System, bude oznámen výsledek Indeterminate (Neurčitý). V případě ohlášení výsledku IND doporučujeme test zopakovat.

Výsledek No Result (Bez výsledku) bude ohlášen tehdy, pokud je detekována chyba soustavy NeuMoDx System a zpracování vzorku je přerušeno. V případě ohlášení výsledku No Result (Bez výsledku) se doporučuje opakování testu.

Pokud není detekován žádný cíl a nedojde k žádné amplifikaci DNA viru HSV-1, DNA viru HSV-2 nebo SPC1, což naznačuje možné selhání reagentie anebo přítomnost inhibitorů, bude ohlášen výsledek UNR (nevyřešený). V případě oznámení výsledku UNR (Nevyřešený) můžete jako první krok test opakovat. Pokud opakovaný test není úspěšný, lze použít zředěný vzorek pro snížení účinků případné inhibice ve vzorku (další pokyny naleznete v části s omezeními).

Seznam kódů chyb, které mohou souviset s neplatnými výsledky, najdete v návodu k obsluze molekulární soustavy NeuMoDx 288 Molecular System (výř. č.: 40600108) nebo v návodu k uživatelské obsluze molekulárního systému NeuMoDx 96 Molecular System (P/N: 40600317).

VÝKONOVÁ CHARAKTERISTIKA^{11,12,16}

Analytická citlivost – mez detekce¹³

Analytická citlivost analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay byla charakterizována testováním série ředění ověřovacího panelu EDX HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) a HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics) ve vzorcích plazmy negativních na HSV-1/HSV-2 s cílem stanovit mez detekce (Limit of Detection, LoD) na soustavách NeuMoDx™ System. LoD byla definována jako experimentálně stanovená nejbližší hladina cíle nad koncentrací stanovenou probitovou analýzou s 95% intervalem spolehlivosti (Confidence Interval; CI). Měření bylo prováděno po dobu 3 dnů napříč několika soustavami s několika šaržemi reagentií NeuMoDx™. Každá soustava zpracovávala denně 42 replikátů na každé úrovni ředění (pozitivní vzorky) a 8 replikátů pro negativní vzorky. Míry detekce jsou uvedeny v *tabulce 2 a 3*.

Tabulka 2: Pozitivní míry detekce pro stanovení LoD analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

HSV-1					HSV-2				
Cílová koncentrace [kopie/ml]	Cílová koncentrace [log ₁₀ kopie/ml]	Počet platných testů	Počet pozitivních vzorků	Míra detekce	Cílová koncentrace [kopie/ml]	Cílová koncentrace [log ₁₀ kopie/ml]	Počet platných testů	Počet pozitivních vzorků	Míra detekce
160	2,20	42	40	95,24 %	100	2,00	42	41	97,62 %
100	2,00	42	40	95,24 %	60	1,78	41	39	95,12 %
80	1,90	42	35	83,33 %	40	1,60	42	40	95,24 %
40	1,60	38	26	68,42 %	20	1,30	42	27	64,29 %
NEG	0,00	20	0	0 %	NEG	0,00	24	0	0 %

LoD analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay byla stanovena probitovou analýzou jako 114 kopií/ml (2,05 log₁₀ kopií/ml) (95% interval spolehlivosti: 93,5 až 133,7 kopií/ml) pro HSV-1 a 56 kopií/ml (1,75 log₁₀ kopií/ml) (95% interval spolehlivosti: 44,7 až 66,2 kopií/ml) pro HSV-2. Koncentrace LoD (114 kopií/ml) u viru HSV-1 byla potvrzena analýzou míry shody na izolátech z různých geografických oblastí: Asie, Evropy, Afriky a Severní Ameriky (Tabulka 3).

Tabulka 3: Analýza míry shody na izolátech HSV-1 z různých geografických oblastí, potvrzující dolní mez detekce. Testovaná hladina koncentrace: 114 kopií/ml.

Geografická oblast izolátu	Počet platných testů	Detekované vzorky	Míra detekce
Severní Amerika	24	24	100
Evropa	24	24	100
Asie	24	24	100
Afrika	24	24	100

Analytická citlivost – dolní mez stanovitelnosti (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) a horní mez stanovitelnosti (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)¹³

Dolní mez stanovitelnosti (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) a horní mez stanovitelnosti (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) jsou definovány jako nejnižší, respektive horní cílová hladina, při které je dosaženo detekce > 95 % A hodnoty TAE ≤ 1,0. Pro stanovení LLoQ a ULoQ byla vypočtena celková analytická chyba (total analytical error, TAE) pro každou z hladin cíle HSV-1 a HSV-2, u nichž bylo prokázáno, že při testování meze detekce vykazují detekci > 95 %. TAE je stanovena následovně:

$$TAE = |\text{Bias}| + 2 * SD \text{ [Westgardova pravidla]}$$

Odchylka je absolutní hodnota mezi průměrem vypočítané koncentrace a očekávanou koncentrací. SD označuje směrodatnou odchylku kvantitativně vyjádřené hodnoty vzorku.

Zpracované výsledky pro 5 hladin vzorků plazmy s HSV-1/HSV-2, použitých při měření LLoQ/ULoQ, naleznete v tabulkách 4 a 5. Na základě tohoto souboru dat a dříve stanovené LoD byla pro HSV-1 stanovena LLoQ 114 kopií/ml (2,05 log₁₀ kopií/ml) a ULoQ 1,26×10⁶ kopií/ml (zde přibližně 6 log₁₀ kopií/ml) a pro HSV-2 byla stanovena LLoQ 60 kopií/ml (1,78 log₁₀ kopií/ml) a ULoQ 1,19×10⁶ kopií/ml (zde přibližně 6 log₁₀ kopií/ml).

Tabulka 4: Testovací proužek NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip; HSV-1 ULoQ a LLoQ s hodnotou odchylky a TAE

Cílová konc.[kopie/ml]	Cílová konc. [log ₁₀ kopií/ml]	Průměrná konc.[log ₁₀ kopií/ml]	Detekce (%)	SD	Odchylka	TAE
1,26×10 ⁶	6,10	6,10	100	0,22	0,10	0,54
160	2,20	2,46	95,24	0,26	0,25	0,78
100	2,00	2,37	95,24	0,31	0,37	0,98
80	1,90	2,33	83,33	0,29	0,42	1,01
40	1,60	2,25	68,42	0,38	0,65	1,41

Tabulka 5: Testovací proužek NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip; HSV-2 ULoQ a LLoQ s hodnotou odchylky a TAE

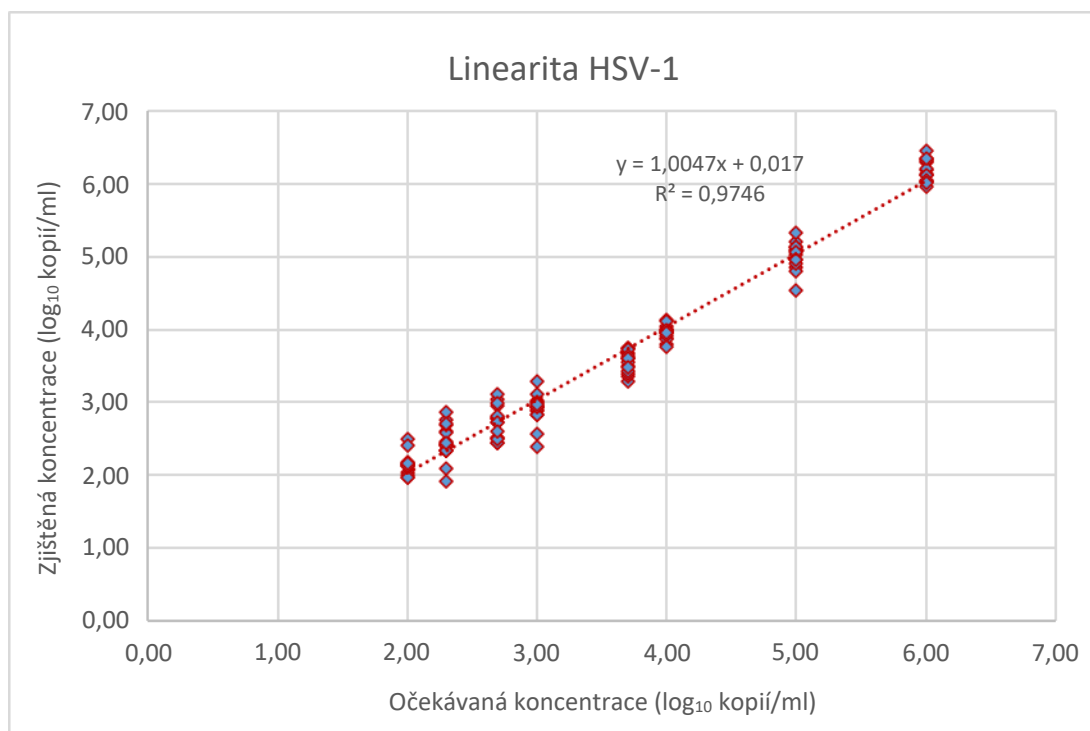
Cílová konc.[kopie/ml]	Cílová konc. [log ₁₀ kopií/ml]	Průměrná konc.[log ₁₀ kopií/ml]	Detekce (%)	SD	Odchylka	TAE
1,19×10 ⁶	6,08	5,95	100	0,07	0,13	0,27
100	2,00	2,29	97,62%	0,20	0,29	0,69
60	1,78	2,21	95,12%	0,21	0,43	0,84
40	1,60	2,21	95,24%	0,21	0,61	1,02
20	1,30	2,00	64,29%	0,27	0,69	1,24

Na základě výsledků těchto měření byla stanovena hodnota LLoQ analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay jako 114 kopií/ml (2,05 log₁₀ kopií/ml) pro HSV-1 a 60 kopií/ml (1,78 log₁₀ kopií/ml) pro HSV-2. Hodnota ULoQ pro všechny typy vzorků je 1,26×10⁶ kopií/ml (6 log₁₀ kopií/ml) pro HSV-1 a 1,19×10⁶ kopií/ml (6 log₁₀ kopií/ml) pro HSV-2.

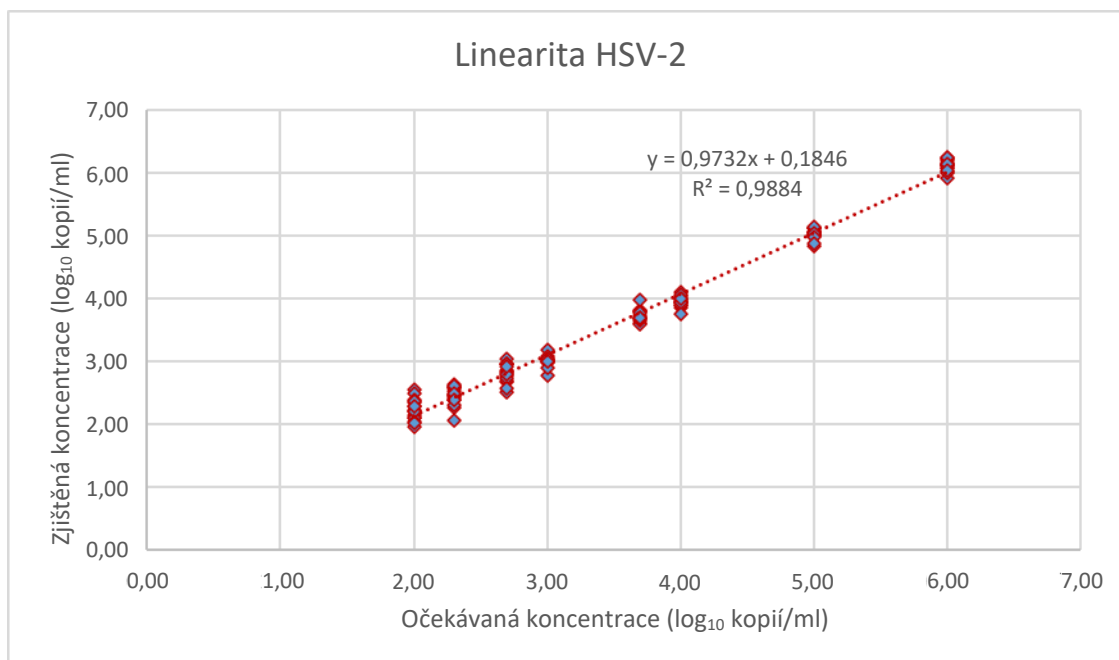
Linearita¹⁴

Linearita testovacího proužku NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip byla stanovena v plazmě přípravou řady ředění pomocí ověřovacího panelu HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) a EDX HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics). Bylo vytvořeno osm (8) sériových ředění panelů HSV-1/HSV-2 připravených v lidské plazmě negativní na HSV-1/HSV-2, která pokrývají koncentrační rozmezí 6–2 log₁₀ kopií/ml.

Koncentrace analýzy HSV-1/HSV-2 ohlášené soustavou NeuMoDx™ System ve srovnání s očekávanými hodnotami jsou uvedeny na obrázcích 2 a 3.



Obrázek 2: Linearita analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay pro HSV-1



Obrázek 3: Linearita analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay pro HSV-2

Analytická specifičnost – zkřížená reaktivita^{11, 12}

Analytická specifičnost byla prokázána screeningem zkřížené reaktivity 22 organismů, které se ve vzorcích plazmy běžně nacházejí, a také druhů, které se HSV-1 a HSV-2 fylogeneticky podobají. Organismy byly připraveny ve směsích skládajících se z 5/6 organismů testovaných při vysoké koncentraci. Testované organismy jsou uvedeny v *tabulce 6*. U žádného z testovaných organismů nebyla pozorována žádná zkřížená reaktivita, což potvrzuje 100% analytickou specifičnost analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

Tabulka 6: Patogeny použité k prokázání analytické specifičnosti

Necílové organismy					
<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Virus lidské imunitní nedostatečnosti – 1	Virus hepatitidy B	Adenovirus typu 5	Virus Epstein-Barrové	Varicella zoster virus	Enterovirus 68
BK virus	Lidský herpesvirus 6	Lidský herpesvirus 8	Cytomegalovirus	HHV-7	HTVL-1
HTVL-2	JC virus	SV40	Virus lidské imunitní nedostatečnosti – 2		

Analytická specifičnost – interferující látky, komenzálové^{11, 12}

Interference u analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay byla vyhodnocena za přítomnosti necílových organismů, a to za použití stejných směsí organismů, jaké byly připraveny pro testování zkřížené reaktivity, uvedených výše v *tabulce 6*. Plazma negativní na HSV-1/HSV-2 byla obohacena o organismy smíšené do skupin po 4–7 a při koncentraci 2,47 log₁₀ kopií/ml (300 kopií/ml) takto obohacena o cílový virus HSV-1/HSV-2. Jak naznačila minimální odchylka stanovitelnosti z kontrolních vzorků, které neobsahovaly žádný interferující přípravek, nebyla za přítomnosti těchto komenzálů pozorována žádná významná interference.

Analytická specifičnost – interferující látky, endogenní a exogenní látky^{11, 12}

Analýza NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay byla hodnocena za přítomnosti typických exogenních a endogenních interferujících látek, které se v klinických vzorcích plazmy s HSV-1/HSV-2 objevily. Mezi tyto látky patřily neobvykle vysoké hladiny krevních složek a také běžné antivirové léky, které jsou zařazeny do tabulky 7. Každá látka byla přidána k vyšetřenému diluentu Basematrix 53 negativnímu na HSV-1/HSV-2, obohacenému o 2,47 log₁₀ kopií/ml (300 kopií/ml) HSV-1/HSV-2 a u vzorků byla analyzována interference.

Průměrná koncentrace a odchylka u všech testovaných látek ve srovnání s kontrolními vzorky uměle obohacenými o stejnou hladinu HSV-1/HSV-2 jsou uvedeny v *tabulce 8*. Žádná z exogenních a endogenních látek specifičnost analýzy NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay neovlivnila.

Tabulka 7: Testování interference – exogenní přípravky (klasifikace léků)

Směs	Název léku	Klasifikace
Směs 1	Valganciclovir	ANTIVIROTIKUM
	Prednison	IMUNOSUPRESIVUM
	Cidofovir	ANTIVIROTIKUM
	Cefotaxime	ANTIBIOTIKUM
	Mycophenolate mofetil	IMUNOSUPRESIVUM
Směs 2	Vankomycin	ANTIBIOTIKUM
	Takrolimus	IMUNOSUPRESIVUM
	Famotidin	HISTAMINOVÝ ANTAGONISTA
	Valaciclovir	ANTIVIROTIKUM
	Leflunomid	IMUNOSUPRESIVUM

Tabulka 8: Testování interference – exogenní a endogenní přípravky

Endogenní (plazma)	HSV-1		HSV-2	
	Průměrná konc.	Odchylka	Průměrná konc.	Odchylka
	log ₁₀ kopií/ml	log ₁₀ kopií/ml	log ₁₀ kopií/ml	log ₁₀ kopií/ml
Triglyceridy (500 mg/dl)	3,04	-0,19	2,51	0,07
Konjugovaný bilirubin (0,25 g/l)	3,18	-0,18	2,72	0,15
Nekonjugovaný bilirubin (0,25 g/l)	3,62	-0,27	2,53	0,24
Albumin (58,7 g/l)	2,88	-0,14	1,99	0,01
Hemoglobin (2,9 g/l)	2,8	-0,07	2,69	-0,01
Exogenní (přípravky)	Průměrná konc.	Odchylka	Průměrná konc.	Odchylka
	log ₁₀ kopií/ml	log ₁₀ kopií/ml	log ₁₀ kopií/ml	log ₁₀ kopií/ml
Směs 1: Valganciclovir, Prednison, Cidofovir, Cefotaxim, Mycophenolate mofetil	2,16	0,33	2,18	0,35
Směs 2: Vankomycin, Takrolimus, Famotidin, Valaciclovir, Leflunomid	2,53	0,32	2,44	0,56

Opakovatelnost a vnitřní laboratorní preciznost¹⁵

Preciznost testovacího proužku NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip byla stanovena testováním 2 replikátů 3prvkového panelu se vzorky HSV-1/HSV-2, připravovanými s plazmidem HSV-1 či HSV-2 dvakrát denně, za použití jedné soustavy NeuMoDx™ 96 System po dobu 20 dnů. Preciznost byla charakterizována v rámci jednoho cyklu a jednoho dne a celková směrodatná odchylka byla stanovena jako $\leq 0,30 \log_{10}$ kopií/ml. Napříč dny nebo cykly byla prokázána vynikající preciznost, jak je uvedeno v *tabulce 9*. Preciznost mezi pracovníky obsluhy charakterizována nebyla, jelikož obsluha při zpracování vzorků za použití soustavy NeuMoDx™ System nehraje žádnou významnou roli.

Tabulka 9: Vnitřní laboratorní preciznost – analýza NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay na soustavě NeuMoDx™ System 96

Vzorek	SD opakovatelnosti (log ₁₀ kopií/ml)	SD mezi různými cykly (log ₁₀ kopií/ml)	SD v rámci dne (log ₁₀ kopií/ml)	Mezi různými dny (log ₁₀ kopií/ml)	Celková SD (v rámci laboratoře) (log ₁₀ kopií/ml)
HSV-1					
5,5 log ₁₀ kopií/ml	0,18	0,00	0,18	0,10	0,20
4,5 log ₁₀ kopií/ml	0,16	0,10	0,19	0,00	0,19
3,0 log ₁₀ kopií/ml	0,19	0,09	0,21	0,10	0,23
HSV-2					
5,7 log ₁₀ kopií/ml	0,14	0,05	0,15	0,07	0,16
4,7 log ₁₀ kopií/ml	0,11	0,00	0,11	0,07	0,13
3,1 log ₁₀ kopií/ml	0,16	0,13	0,20	0,00	0,20

Reprodukovatelnost mezi šaržemi¹⁵

Reprodukovatelnost mezi šaržemi byla u testovacího proužku NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip stanovena za použití tří různých šarží proužků NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip. K posouzení účinnosti na jedné molekulární soustavě NeuMoDx™ 96 Molecular System v 5 samostatných cyklech byl použit 4prvkový panel HSV-1 a HSV-2 připravený pomocí ověřovacího panelu HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) nebo EDX HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics). Byla analyzována odchylka v rámci šarže i mezi různými šaržemi a výsledky byly vyjádřeny jako směrodatná odchylka mezi šaržemi; výsledky jsou uvedeny v *tabulce 10*. Největší maximální směrodatná odchylka byla 0,26 log₁₀ kopií/ml. Ekvivalentní účinnost byla prokázána napříč šaržemi, jelikož směrodatná odchylka u všech prvků panelu byla v mezích stanovené tolerance (SD reprodukovatelnosti ≤ 0,3 log₁₀ kopií/ml).

Tabulka 10: Reprodukovatelnost mezi šaržemi – analýza NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

Vzorek	SD opakovatelnosti (log ₁₀ kopií/ml)	SD mezi různými dny (log ₁₀ kopií/ml)	SD v rámci šarže (log ₁₀ kopií/ml)	SD mezi různými šaržemi (log ₁₀ kopií/ml)	SD reprodukovatelnosti (log ₁₀ kopií/ml)
HSV-1					
1,26×10 ⁵ kopií/ml	0,12	0,22	0,25	0,00	0,25
1,26×10 ⁴ kopií/ml	0,16	0,19	0,25	0,00	0,25
300 kopií/ml	0,18	0,17	0,25	0,00	0,25
HSV-2					
1,26×10 ⁵ kopií/ml	0,13	0,12	0,17	0,00	0,18
1,26×10 ⁴ kopií/ml	0,77	0,10	0,13	0,00	0,13
300 kopií/ml	0,21	0,12	0,24	0,00	0,24

Reprodukovatelnost mezi přístroji¹⁵

Reprodukovatelnost testovacího proužku NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip mezi přístroji byla stanovena pomocí tří různých soustav (jedna molekulární soustava NeuMoDx™ 288 Molecular System a dvě molekulární soustavy NeuMoDx™ 96 Molecular System). K posouzení účinnosti byl použit 4prvkový panel HSV-1/HSV-2 připravený pomocí ověřovacího panelu HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) nebo EDX HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics). Testování bylo prováděno na soustavách po dobu 5 dnů. Odchylka byla charakterizována v rámci jednoho dne a mezi soustavami a celková směrodatná odchylka byla stanovena jako ≤ 0,30 log₁₀ kopií/ml. Ekvivalentní účinnost byla prokázána napříč soustavami, jelikož SD stanovitelnosti všech prvků panelu byla v mezích stanovené tolerance (tabulka 11).

Tabulka 11: Reprodukovatelnost mezi přístroji – testovací proužek NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip

Vzorek	SD opakovatelnosti (Log ₁₀ kopii/ml)	SD mezi různými dny (log ₁₀ kopii/ml)	SD v rámci soustavy (log ₁₀ kopii/ml)	SD mezi různými soustavami (log ₁₀ kopii/ml)	SD reprodukovatelnosti (log ₁₀ kopii/ml)
HSV-1					
1,26×10 ⁵ kopii/ml	0,25	0,04	0,26	0,13	0,29
1,26×10 ⁴ kopii/ml	0,26	0,08	0,28	0,07	0,28
300 kopii/ml	0,19	0,08	0,21	0,08	0,23
HSV-2					
1,26×10 ⁵ kopii/ml	0,15	0,16	0,22	0,00	0,22
1,26×10 ⁴ kopii/ml	0,14	0,18	0,23	0,08	0,24
300 kopii/ml	0,14	0,20	0,25	0,00	0,25

REFERENCE

- Rifai, N., Horvath, A.R., Wittwer, C.T., Tietz, N.W. (Eds.), 2018. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics, Sixth edition. ed. Elsevier, St. Louis, Missouri.
- Lee, D.H., Zuckerman, R.A., AST Infectious Diseases Community of Practice, 2019. Herpes simplex virus infections in solid organ transplantation: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. Clin Transplant 33, e13526. <https://doi.org/10.1111/ctr.13526>
- Reid GE, Lynch JP 3rd, Weigt S, Sayah D, Belperio JA, Grim SA, Clark NM. Herpesvirus Respiratory Infections in Immunocompromised Patients: Epidemiology, Management, and Outcomes. Semin Respir Crit Care Med. 2016 Aug;37(4):603-30. doi: 10.1055/s-0036-1584793. Epub 2016 Aug 3. PMID: 27486740; PMCID: PMC7171758.
- Fernandez-Nieto D, Jimenez-Cauhe J, Ortega-Quijano D, Burgos-Blasco P, Pindado-Ortega C, Bea-Ardebol S. A case of atypical disseminated herpes simplex virus 1 with hepatitis in a liver transplant recipient: the need for dermatologic evaluation. Dermatol Online J. 2020 Feb 15;26(2):13030/qt3k90n5s9. PMID: 32239894.
- Rostamzadeh Khameneh Z, Sepehrvand N, Taghizadeh-Afshari A, Motazakker M, Ghafari A, Masudi S. Seroprevalence of herpes simplex virus-2 in kidney transplant recipients: a single-center experience. Iran J Kidney Dis. 2010 Apr;4(2):158-61. PMID: 20404429.
- Navarro E, Serrano-Heras G et al. 2015. Real-time PCR Detection Chemistry. Clin Chim Acta.15;439:231-50. 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>
- US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington,DC: US Government Printing Office, January 2009.
- World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed.Geneva: World Health Organization, 2004.
- CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline—Second Edition CLSI Document MM13. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020
- CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases. Approved Guideline – Third Edition. CLSI document MM03. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.
- CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document MM06-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2010.
- CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2012.
- 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.
- CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2014.
- CLSI. Metrological Traceability and Its Implementation; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Report EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2006.

OCHRANNÉ ZNÁMKY















NeuMoDx™ je ochranná známka společnosti NeuMoDx Molecular, Inc.

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

Seracare® je ochranná známka společnosti Seracare Life Sciences, 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
	Pouze na předpis
	Výrobce
	Distributor
	Prostředek zdravotnické techniky pro diagnostiku <i>in vitro</i>
	Katalogové číslo
	Číslo šarže
	Přečtěte si návod k použití
	Upozornění, prostudujte si doprovodnou dokumentaci
	Teplotní omezení
	Uchovávejte v suchu
	Nepoužívejte opakovaně
	Nevystavujte světlu
	Obsahuje dostatečné množství pro „n“ testů
	Použijte do



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

www.sentinel diagnostics.com



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

+1 888 301 NMDX (6639)
Technická podpora: support.qiagen.com
Vigilanční hlášení: support.qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents