

**202400 NeuMoDx™ HSV 1/2 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™ HSV 1/2 Quant Assay je avtomatiziran *in vitro* amplifikacijski test nukleinske kisline za kvantifikacijo in diferenciacijo DNK virusa herpesa simpleksa tipa 1 (HSV-1, humani herpesvirus alfa 1) in/ali DNK virusa herpesa simpleksa tipa 2 (HSV-2, humani herpesvirus alfa 2) v plazmi EDTA imunsko oslabiljenih bolnikov po presaditvi^{1,2}.

Test NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay, izveden na sistemih NeuMoDx™ 288 Molecular System in NeuMoDx™ 96 Molecular System, vključuje avtomatizirano ekstrakcijo DNK za izolacijo ciljnih nukleinskih kislin iz primerka ter PCR v realnem času za ciljanje dveh visoko ohranjenih regij v genomih HSV-1 in HSV-2.

Test je namenjen za uporabo kot pripomoček pri spremljanju ravni DNK HSV-1 in/ali HSV-2 v plazmi EDTA. Ta test je namenjen za uporabo skupaj s klinično predstavitvijo in drugimi laboratorijskimi označevalci napredka bolezni za klinično upravljanje in nadzor okužb s HSV-1 in/ali HSV-2.

Test NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay ni namenjen za uporabo kot presejalni test za prisotnost DNK HSV-1/HSV-2 v krvi ali krvnih produktih.

Test NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay je namenjen usposobljenemu osebju kliničnih laboratorijev, ki je posebej izučeno in usposobljeno za tehnike PCR v realnem času ter diagnostične postopke *in vitro* in/ali sisteme NeuMoDx™ Molecular System. Test NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay ni namenjen za samotestiranje ali za uporabo na kraju oskrbe.

POVZETEK IN RAZLAGA

Za pripravo plazme se lahko uporabi človeška polna kri, odvzeta v sterilne epruvete za odvzem krvi, ki vsebujejo EDTA kot antikoagulant, ali epruvete za pripravo plazme (Plasma Preparation Tubes, PPT). Za začetek testiranja se za zagon avtomatske obdelave plazma 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.

550 µl alikvota primerka plazme se zmeša z NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 in sistem NeuMoDx™ System samodejno izvede vse korake, ki so potrebni za ekstrakcijo ciljne nukleinske kisline, pripravo izolirane DNK za amplifikacijo PCR v realnem času ter zaznavo in amplifikacijo produktov za amplifikacijo, če so prisotni. Test NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay vključuje kontrolo obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC1) DNK, ki pomaga nadzorovati prisotnost potencialno inhibitornih snovi ter napak sistema NeuMoDx™ System ali reagenta, s katerimi se lahko srečamo med postopkom ekstrakcije in amplifikacije.

HSV-1 in HSV-2 sta pogosti okužbi po vsem svetu. V Združenih državah znaša seroprevalenca HSV-1 oziroma HSV-2 58 % oziroma 17 %. Ta dva virusa se prenašata z neposrednim stikom z okuženo kožo ali okuženimi izločki. Do prenosa lahko pride v obdobjih subkliničnega izločanja virusa, ko simptomi niso prisotni^{3,4}.

HSV-1 in HSV-2 med imunokompetentnimi odraslimi povzročata različne primarne okužbe, ki prizadenejo sluznice. Sindroma se prekrivata, pri čemer HSV-1 tipično povzroča orolabialni herpes, HSV-2 pa anogenitalno bolezen. Za oba sindroma so značilni boleči, gnojni mehurčki na koži in sluznicah prizadetega predela. Po primarni okužbi HSV-1 in HSV-2 povzročita latentno okužbo senzoričnih ganglijskih nevronov. Ponovna aktivacija latentnega virusa povzroči ponavljajočo se mukokutano bolezen. Huda bolezen HSV-1 ali HSV-2 je pri imunokompetentnih odraslih redka. Vendar pa se lahko pojavijo pomembni nevrološki sindromi, vključno z Bellovo paralizo, meningitisom in encefalitisom, ki so povezani z veliko obolevnostjo in smrtnostjo, če niso takoj zdravljeni. Pri imunsko oslabiljenih bolnikih z boleznijo HSV se najpogosteje razvije eden od zgoraj opisanih mukokutanih sindromov, ki so posledica ponovne aktivacije latentne okužbe^{3,4,5}.

Imunsko oslabljeni posamezniki so prav tako izpostavljeni tveganju lokalne razširitve bolezni (npr. ezofagitis HSV) in širjenja okužbe. Širjenje okužbe HSV na nesosednje visceralne organe je povezano z zelo visoko smrtnostjo, zlasti pri hepatitisu HSV^{3,4,5}.

NAČELA POSTOPKA

Test NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay na sistemu NeuMoDx™ System pri izvedbi analize uporablja NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators, NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls, NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 in NeuMoDx™ reagente za splošno uporabo. Test NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay združuje samodejno ekstrakcijo, amplifikacijo in zaznavo DNK s PCR v realnem času. Primerki plazme in 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 upravljalca ni potrebno.

Sistem NeuMoDx™ System uporablja kombinacijo toplote, litične encime in ekstrakcijske reagente, da samodejno izvede lizo celice, ekstrakcijo DNK in odstranitev inhibitorjev. Sproščene nukleinske kisline se ujamejo v mikrosfere z magnetno afiniteto. Mikrosfere z vezanimi nukleinskimi kislinami se naložijo v kartušo NeuMoDx™ Cartridge, kjer so nevezane komponente brez DNK dodatno splaknjene z reagentom za spiranje NeuMoDx™ Wash Reagent, vezana DNK pa se izluži z reagentom za sprostitvev NeuMoDx™ Release Reagent. Sistemi NeuMoDx™ System nato uporabijo izluženo DNK za rehidracijo lastniških liofiliziranih amplifikacijskih reagentov SENTINEL CH. Lastniški liofilizirani amplifikacijski reagenti S.p.A., ki vsebujejo vse potrebne elemente za PCR-amplifikacijo ciljev, specifičnih za HSV-1/HSV-2 in SPC1. Pri rekonstituciji liofiliziranih reagentov PCR sistem NeuMoDx™ System izvrže mešanico, pripravljeno za PCR v NeuMoDx™ Cartridge. Amplifikacija in zaznava kontrole in ciljnih sekvenc DNK (če so prisotne) se pojavi na območju komore PCR NeuMoDx™ Cartridge. NeuMoDx™ Cartridge je zasnovana tudi, da vsebuje ampikon po PCR v realnem času, ki posledično izloči tveganje onesnaženja po amplifikaciji.

Genomski cilji za NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip so geni US6 oziroma UL45 za virus HSV-1 ter geni US6 in UL30 za virus HSV-2. Te 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 set 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 DNK⁶.

Šobe TaqMan®, označene s fluorofori na 5'-koncu in dušilci na 3'-koncu, se uporabijo za zaznavanje DNK HSV-1, DNK HSV-2 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 (NEDOLOČENO)/UNRESOLVED (NEREŠENO)/NO RESULT (NI REZULTATA)). Če je rezultat pozitiven in izračunana koncentracija v mejah kvantifikacije, programska oprema NeuMoDx™ System prikaže tudi kvantitativno vrednost, povezano z vzorcem, oziroma sporoči, če je izračunana koncentracija zunaj meje kvantifikacije.

REAGENTI/POTROŠNI MATERIAL

Potrebni material

REF.	Vsebina	Testi na enoto	Testi na paket
202400	NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip <i>Liofilizirani reagenti PCR, ki poleg SPC1 specifičnih šob in primerjev TaqMan® vsebujejo še HSV-1 specifične šobe in primerje TaqMan® in HSV-2 specifične šobe in primerje TaqMan®.</i>	16	96

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

REF.	Vsebina
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Posušeni paramagnetni delci, posušen litični encim in kontrole obdelave posušenega vzorca.</i>
800900	Kalibratorji NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrator <i>Seti visokih in nizkih sušenih kalibratorjev HSV-1 in HSV-2 za enkratno uporabo za določanje standardne krivulje.</i>
900901	NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls <i>Seti pozitivnih posušenih kontrol in negativnih kontrol za HSV-1 in HSV-2 za enkratno uporabo za določanje dnevne veljavnosti testa NeuMoDx™ HSV-1/2 Quant Assay</i>
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Konice Hamilton CO-RE (300 µl) s filtri
235905	Konice Hamilton CO-RE (1000 µl) s filtri

Za podrobnosti o reagentih in potrošnem materialu glejte zavedna navodila

Potrebni instrumenti

NeuMoDx™ 288 Molecular System (REF. 500100) ali **NeuMoDx™ 96 Molecular System** (REF. 500200).

NeuMoDx System Software, različica 1.9.2.6 ali novejša.

OPOZORILA IN PREVIDNOSTNI UKREPI

- NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip je namenjen samo za diagnostično uporabo in vitro s sistemi NeuMoDx™ Systems.
- Preden izvedete test, preberite vsa navodila, ki so priložena kompletu.
- Ne uporabljajte reagentov ali potrošnega materiala po navedenem roku uporabe.
- Ne uporabljajte nobenih reagentov, če je varnostno tesnilo odprto oziroma če je embalaža ob prejemu poškodovana.
- Ne uporabljajte potrošnega materiala ali reagentov, če je zaščitna mošnja ob prejemu odprta ali poškodovana.
- Ne mešajte reagentov za amplifikacijo iz drugih kompletov, ki so na trgu.
- Ne uporabljajte ponovno. Vse testne trakove NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip shranjujte v njihovi aluminijasti ovojnini, da jih zaščitite pred svetlobo in vlago.

- Veljavna testna kalibracija, ki se ustvari z obdelavo visokih in nizkih kalibratorjev NeuMoDx™ HSV-1/ 2 Calibrator (REF. 800900), mora biti na voljo, preden je možno ustvariti testne rezultate za klinične vzorce.
- Zunanje kontrole NeuMoDx™ HSV 1/ 2 External Controls (REF. 900901) je treba obdelati vsakih 24 ur med testiranjem z NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip.
- Minimalni volumen primerka je odvisen od velikosti epruvete, prenosnika za primerek in volumna primerka, kot je določeno spodaj. Če je volumen pod navedenim minimumom, se lahko pojavi napaka »Quantity Not Sufficient« (Količina ni zadostna).
- Če so primerki shranjeni pri nepravilnih temperaturah ali po tem, ko navedeno obdobje shranjevanja poteče, so rezultati lahko neveljavni ali napačni.
- Preprečite onesnaženje katerega koli reagenta in potrošnega materiala z mikrobi ali dezoksiribonukleazo (DNaza). Pri uporabi sekundarnih epruvet s primerki je priporočena uporaba sterilnih pipet za prenos brez Dnaze. Za vsak primerek uporabite novo pipeto.
- Da se izognete onesnaženju, kartuše NeuMoDx™ Cartridge po amplifikaciji ne uporabljajte in ne ločujte. Kartuš NeuMoDx™ Cartridge v nobenem primeru ne odstranite iz zabojnika za biološke odpadke (NeuMoDx™ 288 Molecular System) ali koša za biološke odpadke (NeuMoDx™ 96 Molecular System). Kartuša NeuMoDx™ Cartridge je zasnovana, da preprečuje onesnaženje.
- V primerih, kjer teste PCR z odprtimi epruvetami izvaja tudi laboratorij, je potrebno zagotoviti, da testni trakovi NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, dodatni potrošni material in reagenti, potrebni za testiranje, osebna zaščitna oprema kot so rokavice in laboratorijskih 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 NeuMoDx™ Cartridge, tesnilne folije površine testnega traku NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip ali ekstrakcijske plošče NeuMoDx™ Extraction Plate oziroma zgornje površine NeuMoDx™ Lysis Buffer 1; s potrošnim materialom in reagenti ravnajte 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.
- V navpični vrstici ob robu besedila so navedene spremembe v primerjavi s prejšnjo različico navodila za uporabo.
- 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, opisani v skladu z dokumentom OSHA Standard on Bloodborne Pathogens⁷ (standard OSHA za patogene, ki se prenašajo s krvjo). Za materiale, ki vsebujejo ali bi lahko vsebovali kužne snovi, uporabite Biosafety Level 2⁸ (raven biološke varnosti 2) ali druge ustrezne prakse za biološko varnost^{9,10}.
- Neuporabljene reagente in odpadke odstranite v skladu z državnimi, zveznimi, okrajnimi in lokalnimi predpisi. Upoštevajte priporočila v varnostnem listu (Safety Data Sheet, SDS).

SHRANJEVANJE, RAVNANJE IN STABILNOST IZDELKA

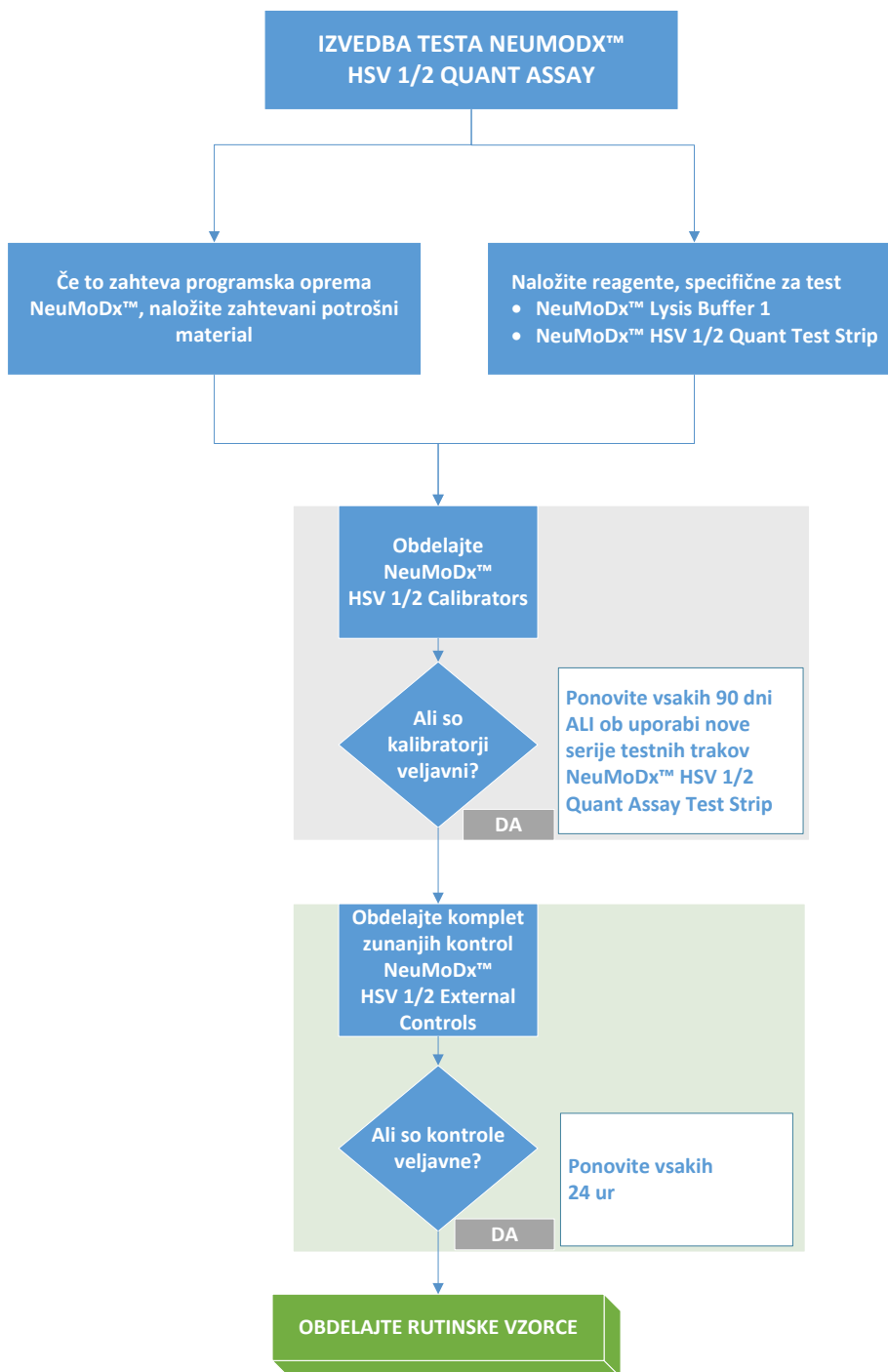
- Testni trakovi NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip so stabilni v prvotni embalaži pri temperaturi od 15 do 30 °C do roka uporabnosti, ki je naveden na oznaki izdelka.
- Testni trak NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, naložen v sistem NeuMoDx™ System, je stabilen 32 dni; programska oprema sistema NeuMoDx™ System bo zahtevala odstranitev testnih trakov, ki so bili v sistemu NeuMoDx™ System v uporabi več kot 32 dni, in treba bo odpreti (vzeti iz vrečke) nove testne trakove NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip ter jih naložiti v sistem NeuMoDx™ System. Med nalaganjem v prenosnik testnega traku s traku ne smete odstraniti aluminijaste folije.
- Kalibratorji in kontrole NeuMoDx™ HSV1/2 niso kužni, vendar jih je po uporabi treba v laboratoriju zavreči med biološke odpadke, saj vsebujejo ciljni material, kar lahko v primeru neustreznega ravnanja povzroči onesnaženje.

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.
3. Za pripravo primerkov plazme je treba zbrati polno kri v sterilne epruvete z antikoagulantom EDTA. Upoštevajte navodila proizvajalca epruvet za zbiranje primerkov.
4. Polna kri, zbrana v zgoraj navedenih napravah, je lahko shranjena in/ali v transportu do 24 ur pri temperaturi 2 °C do 8 °C pred pripravo plazme. Pripravo vzorcev je treba izvesti v skladu z navodili proizvajalca.
5. Pripravljena plazma se lahko shranjuje v sistemu NeuMoDx™ System do 24 ur pred pričetkom obdelave. Če je potreben dodaten čas shranjevanja, priporočamo, da se primerki shranijo v hladilniku ali zamrznejo kot sekundarni alikvoti.
6. Pripravljene primerke plazme naj bodo shranjeni pri temperaturi med 2 in 8 °C in ne več kot 8 dni pred testiranjem ter največ 24 ur pri sobni temperaturi.
7. Pripravljene primerke so lahko shranjeni pri temperaturi < -20 °C do 8 tednov pred obdelavo; vzorci pred uporabo ne smejo biti podvrženi več kot 2 ciklom zamrzovanja/odtajanja:
 - a. Če so vzorci zamrznjeni, se morajo pred testiranjem 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.
8. Če bodo primerki poslani, jih je potrebno zapakirati in označiti v skladu z veljavnimi uredbami države in/ali mednarodnimi uredbami.
9. Primerke jasno označite in navedite, da so namenjeni za testiranje HSV-1 in/ali HSV-2.

10. Nadaljujte na razdelek *Priprava testa*.

Celoten postopek za izvajanje testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay je povzet na *sliki 1*.



Slika 1: Potek izvedbe testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

NAVODILA ZA UPORABO

Priprava testa

Za vzorce plazme se test NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay lahko izvaja neposredno iz primarnih epruvet za zbiranje krvi ali iz alikvotov primerkov iz sekundarnih epruvet.

- Oznako s črtno kodo nalepite 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 ustrezni prenosnik za epruvete s primerki v skladu z navodili proizvajalca.
- Če se testiranje primerka plazme 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 zajamčena za primerke, ki so bili nepravilno zbrani.
- Če imate vzorce plazme v sekundarni epruveti, prenesite alikvot primerka 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	Najmanjši zahtevani volumen primerka
Prenosnik za epruvete s primerki z 32 epruvetami	Premer 11–14 mm in višina 60–120 mm	750 µl
Prenosnik za epruvete s primerki z 24 epruvetami	Premer 14,5–18 mm in višina 60–120 mm	1100 µl
Prenosnik za epruvete s primerki za nizki volumen	1,5-ml epruveta s stožčastim dnom za mikrocentrifugo	650 µl

Delovanje sistema NeuMoDx™ System

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

- Naložite naročilo testa v sistem NeuMoDx™ System v skladu z zeleno vrsto epruvete.
- Odrežite aluminijaste vrečke s trakovi NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip na mestu, ki ga indicirata stranski zarezi.
- Trakove vzemite iz vrečk tik pred uporabo.
- Preden uporabite vrečke, se vedno prepričajte, da so dobro zaprte in da je znotraj še vedno vrečica s sušilom. Uporabite jih le, če nimajo poškodb.
- Če se barva vrečice s sušilom spremeni iz oranžne v zeleno, aluminijaste vrečke in njihovo vsebino zavrzite.
- Enega ali več prenosnikov NeuMoDx™ System Test Strip napolnite s trakovi NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip in uporabite zaslon na dotik, da naložite prenosnike testnih trakov v sistem NeuMoDx™ System.
- 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.
- 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.
- Če to zahteva programska oprema sistema NeuMoDx™ System, obdelajte kalibratorje (REF. 800900) in/ali zunanje kontrole (REF. 900901), kot je potrebno. Dodatne informacije glede kalibratorjev in kontrol so na voljo v razdelku Obdelava rezultatov.
- Epruveto(-e) s kalibratorjem/kontrolo naložite v standardne prenosnike za 32 epruvet in poskrbite, da so pokrovi odstranjeni z vseh epruvet.
- Prenosnik(e) za epruvete s primerki postavite na polico samodejnega nalagalnika in uporabite zaslon na dotik, da prenosnik(e) naložite v NeuMoDx™ System. To bo sprožilo obdelavo naloženih primerkov za opredeljen(-e) test(-e), če je v sistemu veljavno naročilo testa.

OMEJITVE

- Testne trakove NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip lahko uporabljate samo na sistemih NeuMoDx™ System.
- Delovanje NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip je bilo vzpostavljeno za primerke plazme, pripravljene iz polne krvi, ki je bila odvzeta z antikoagulantom EDTA. Uporaba NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip z drugimi tipi primerkov ni bila ocenjena, zato karakteristike delovanja tega testa za druge tipe primerkov niso znane.
- Test NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay se ne sme uporabljati z vzorci hepariniziranih ljudi.
- Ker je zaznavanje DNK HSV-1 in/ali HSV-2 odvisno od števila prisotnih organizmov v vzorcu, so zanesljivi rezultati odvisni od ustreznega zbiranja, ravnanja in shranjevanja primerkov.
- Napačni rezultati se lahko pojavijo zaradi nepravilnega zbiranja primerkov, ravnanja, shranjevanja izdelkov, tehnične napake ali zamenjave epruvet s primerkom. Poleg tega se lahko pojavijo lažni negativni vzorci, če je število virusnih delcev v vzorcu pod mejo zaznavanja testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.
- Sistem NeuMoDx™ System lahko uporablja izključno osebje, ki je bilo usposobljeno za uporabo sistema NeuMoDx™ System.
- Če se cilji HSV-1, HSV-2 in SPC1 ne amplificirajo, bo javljen neveljaven rezultat (Indeterminate (Nedoločeno) ali Unresolved (Nerešeno)), zato bo test treba ponoviti.
- Če pred dokončanjem obdelave vzorca pride do napake sistema, bo sporočeno »No Result« (Ni rezultata), zato bo test treba ponoviti.
- Če je rezultat testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay pozitiven, kvantifikacijska vrednost pa je pod mejo kvantifikacije, bo sistem NeuMoDx™ System javil, ali je bila DNK HSV-1 in/ali HSV-2 zaznana pod spodnjo mejo kvantifikacije (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ali nad zgornjo mejo kvantifikacije (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- V primeru, da je DNK HSV-1 in/ali HSV-2 zaznana nad zgornjo mejo kvantifikacije (Upper Limit of Quantitation, ULoQ), je možno test NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay ponoviti z razredčenim alikvotom prvotnega primerka. Priporočena je razredčitev 1 : 100 ali 1 : 1000 v DNK HSV-1 in DNK HSV-2 negativni plazmi ali redčilu Basematrix 53 (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Sistem bo samodejno izračunal koncentracijo prvotnega primerka: Koncentracija prvotnega primerka = \log_{10} (faktor redčenja) + javljena koncentracija razredčenega vzorca, če je bil pred ponovitvijo v programski opremi pravilno izbran faktor redčenja.
- Občasna prisotnost inhibitorjev PCR v plazmi lahko privede na napake pri kvantifikaciji sistema; če se to pojavi, priporočamo ponovitev testa z istim primerkom, ki je razredčen v redčilu Basematrix v razmerju 1 : 10 ali 1 : 100.
- Pozitivni rezultat ne pomeni nujno prisotnosti živih organizmov. Vendar pa pozitiven rezultat nakazuje prisotnost DNK HSV-1 in/ali HSV-2.
- Delecija ali mutacije v ohranjenih regijah, ki so cilji testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay, lahko vplivajo na zaznavo ali privedejo do napačnih rezultatov pri uporabi testnih trakov NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip.
- Rezultati testa NeuMoDx™ HSV 1/2 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 onesnaženje.

OBDELAVA REZULTATOV

Razpoložljive rezultate si je možno ogledati oziroma natisniti na zavihku »Results« (Rezultati) okna Results (Rezultati) na zaslonu na dotik NeuMoDx™ System. Rezultate testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay samodejno ustvari programska oprema NeuMoDx™ System z uporabo algoritma za odločanje in parametrov za obdelavo rezultatov, navedenih v definicijski datoteki testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Assay Definition File (različica HSV1/2 ADF 4.0.0). Rezultat testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay je lahko Negative (Negativno), Positive (Pozitivno) s sporočeno koncentracijo HSV-1 in/ali HSV-2, Positive (Pozitivno) nad ULoQ, Positive (Pozitivno) pod LLoQ, Indeterminate (Nedoločeno) (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 o obdelavi rezultatov ADF in povzeti spodaj v *preglednici 1*.

Rezultate NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip je treba interpretirati v kombinaciji z drugimi kliničnimi in laboratorijskimi ugotovitvami.

Preglednica 1: Povzetek interpretacije rezultatov testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

Rezultat	HSV-1/HSV-2	Kontrola obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC1)	Interpretacija rezultatov
Positive (Pozitivno) s prijavljeno koncentracijo	Amplified (Amplificirano) $2,05 \leq [\text{HSV-1}] \leq 6,0 \log_{10}$ kopij/ml	Amplified (Amplificirano) ali Not Amplified (Ni amplificirano)	DNK HSV-1 zaznana v kvantitativnem območju
	Amplified (Amplificirano) $1,78 \leq [\text{HSV-2}] \leq 6,0 \log_{10}$ kopij/ml	Amplified (Amplificirano) ali Not Amplified (Ni amplificirano)	DNK HSV-2 zaznana v kvantitativnem območju
Positive (Pozitivno), nad zgornjo mejo kvantifikacije [Upper Limit of Quantitation, ULoQ]	Amplified (Amplificirano) $[\text{HSV-1}] > 6,0 \log_{10}$ kopij/ml	Amplified (Amplificirano) ali Not Amplified (Ni amplificirano)	DNK HSV-1 zaznana nad kvantitativnim območjem
	Amplified (Amplificirano) $[\text{HSV-2}] > 6,0 \log_{10}$ kopij/ml	Amplified (Amplificirano) ali Not Amplified (Ni amplificirano)	DNK HSV-2 zaznana nad kvantitativnim območjem
Positive (Pozitivno), pod spodnjo mejo kvantifikacije [Lower Limit of Quantitation, LLoQ]	Amplified (Amplificirano) $[\text{HSV-1}] < 2,05 \log_{10}$ kopij/ml	Amplified (Amplificirano) ali Not Amplified (Ni amplificirano)	DNK HSV-1 zaznana pod kvantitativnim območjem
	Amplified (Amplificirano) $[\text{HSV-2}] < 1,78 \log_{10}$ kopij/ml	Amplified (Amplificirano) ali Not Amplified (Ni amplificirano)	DNK HSV-2 zaznana pod kvantitativnim območjem
Negative (Negativno)*	Not Amplified (Ni amplificirano)	Amplified (Amplificirano)	DNK HSV-1/HSV-2 ni zaznana
Indeterminate (Nedoločeno)	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†
No Result (Ni rezultata)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Ni amplificirano, zaznana napaka sistema, obdelava vzorca prekinjena)		Obdelava vzorca je bila prekinjena; ponovno preskusite vzorec†
Unresolved (Nerešeno)	Not Amplified, No System Error Detected (Ni amplificirano, Ni zaznane napake sistema)		Vsi ciljni rezultati so bili neveljavni; ponovno preskusite vzorec†

*Tako kot pri drugih testih negativni rezultati ne pomenijo, da je okužba s HSV-1 in/ali HSV-2 izključena.

†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 (Nedoločeno)/NR (Ni rezultata)/UNR (Nerešeno) samodejno ponovno obdelava, da se zmanjšajo zamude pri poročanju o rezultatih.

Testna kalkulacija

- Za vzorce znotraj obsega kvantifikacije testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay je koncentracija DNK HSV-1 in DNK HSV-2 v vzorcih izračunana z uporabo shranjene relativne standardne krivulje, skupaj s koeficienti kalibracije.
 - Koeficient kalibracije je izračunan na podlagi rezultatov kalibratorjev NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrator, ki so bili obdelani za vzpostavitev veljavnosti standardne krivulje za vsak cilj za posebno serijo testnih trakov NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip na specifičnem sistemu NeuMoDx™ System.
 - Koeficient kalibracije se vključi v končno določitev koncentracije DNK HSV-1 in DNK HSV-2.
- Rezultati testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay so izraženi v \log_{10} kopij/ml in kopij/ml.
- Tako pridobljena kvantifikacija neznanih vzorcev je sledljiva do plošč za verifikacijo EDX HSV-1 in HSV-2 (Exact Diagnostics), ki sta količinsko opredeljeni z digitalnimi kapljicami PCR (ddPCR).

Testna kalibracija

Za kvantifikacijo DNK HSV-1 in/ali DNK HSV-2 v primerkih je potrebna veljavna kalibracija, ki temelji na standardni krivulji. Za ustvarjanje veljavnih rezultatov je potrebno dokončati testno kalibracijo za HSV-1 in HSV-2 z uporabo kalibratorjev, ki jih zagotavlja družba NeuMoDx™ Molecular, Inc.

Kalibratorji

1. Kalibratorji NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrator so na voljo v kompletu (REF. 800900) in so sestavljeni iz posušene usedline sintetične DNK HSV-1 in DNK HSV-2 ter posebnega pufra.
2. Set kalibratorjev HSV-1/HSV-2 je potrebno obdelati z vsako novo serijo testnih trakov NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, če je v sistem NeuMoDx™ System naložena nova definicijska datoteka testa za HSV-1/HSV-2, če je trenutnemu setu kalibratorjev potekel rok veljavnosti (trenutno nastavljen na 90 dni) ali če je bila programska oprema NeuMoDx™ System spremenjena.
3. Programska oprema sistema NeuMoDx™ System bo uporabnika obvestila, ko bo kalibratorje potrebno obdelati; nova serija testnih trakov ne more biti uporabljena za testiranje, dokler niso bili kalibratorji uspešno obdelani.
4. Če je treba obdelati nov set kalibratorjev HSV-1/HSV-2, preberite vsa navodila, priložena kalibratorjem NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrator, preden izvedete test.
5. Veljavnost kalibracije je določena po spodnjem postopku:
 - a. Z obdelavo seta dveh kalibratorjev – visokega in nizkega – za vsak cilj za vzpostavitev veljavnosti za vsako krivuljo morate ustvariti dva koeficienta kalibracije, enega za HSV-1 in enega za HSV-2.
 - b. Za ustvarjanje veljavnih rezultatov morata vsaj 2 od 3 ponovljenih vzorcev podati rezultate znotraj vnaprej določenih parametrov. Nazivni cilj nizkega kalibratorja je 3,12 log₁₀ kopij/ml, nazivni cilj visokega kalibratorja pa je 5,12 log₁₀ kopij/ml za oba seta kalibratorjev HSV-1 in HSV-2
 - c. Koeficient kalibracije se izračuna za upoštevanje pričakovane variacije med serijami testnih trakov; ta koeficient kalibracije se uporabi pri določanju končne koncentracije HSV-1 in/ali HSV-2.
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.
7. Če kalibrator(ji) ne prestane(jo) testa veljavnosti dvakrat zapored, se obrnite na tehnično podporo družbe QIAGEN.

Kontrola kakovosti

Lokalne uredbe običajno določajo, da je laboratorij odgovoren za postopke nadzora, s katerimi sta spremljani točnost in natančnost celotnega analitičnega procesa, ter da mora za nespremenjen in odobren testni sistem vzpostaviti število, tip in pogostost testiranja kontrolnih materialov s preverjenimi specifikacijami izvedbe.

Zunanje kontrole

1. Zunanje kontrole HSV-1 in HSV-2 External Controls (REF. 900901) zagotavlja družba NeuMoDx™. Pozitivne kontrole vsebujejo posušeno usedlino sintetične DNK HSV-1 in HSV-2. Negativna kontrola je pufer.
2. Pozitivne in negativne zunanje kontrole je potrebno obdelati enkrat na 24 ur. Če set veljavnih zunanjih kontrol ne obstaja, bo programska oprema sistema NeuMoDx™ System od uporabnika zahtevala, da te kontrole obdelata, preden bo lahko pripravil rezultate vzorca.
3. Če so potrebne zunanje kontrole, pred izvedbo testa pripravite pozitivne in negativne kontrole, kot je indicirano v navodilih, ki so priložena kompletu HSV 1/2 External Controls.
4. Ko je prenosnik za epruvete s primerki postavljen na polico samodejnega nalagalnika, z uporabo zaslona na dotik naložite pozitivne in negativne kontrole v sistem NeuMoDx™ System. Sistem NeuMoDx™ System bo prepoznal črtno kodo in začel obdelovati epruvete z zunanjimi kontrolami, razen če reagentov oziroma potrošnega materiala, potrebnega za testiranje, ni na voljo.
5. Veljavnost zunanjih kontrol sistem NeuMoDx™ System oceni na podlagi pričakovanega rezultata. Pozitivna kontrola bi morala imeti HSV-1 in HSV-2 Positive (Pozitivno) rezultat, negativna kontrola pa HSV-1 in HSV-2 Negative (Negativno) rezultat.
6. Ravnanje z odstopajočimi rezultati glede zunanjih kontrol je sledeče:
 - a. Rezultat testa Positive (Pozitivno) pri negativnem kontrolnem vzorcu nakazuje na težavo z onesnaženjem primerka, zato je treba za iskanje vzroka težav preveriti laboratorijske postopke za kontrolo kakovosti. Ta pripravo vzorcev, ravnanje s kontrolami in vzpostavitev PCR v realnem času morate uporabljati ločena območja. Za dodatne nasvete glede odpravljanja težav glejte *Priročnik za uporabo NeuMoDx 288 ali 96 Molecular System*.
 - b. Rezultat testa Negative (Negativno) za pozitivni kontrolni vzorec lahko nakazuje na težavo z reagentom ali instrumentom.
 - c. V katerem koli od zgornjih primerov ali v primeru rezultata No Result (Ni rezultata, NR), Unresolved (Nerešen, UNR) ali Indeterminate (nedoločen, IND) ponovite neuspešno kontrolo s sveže pripravljeno vialo kontrole, ki ni prestala testa veljavnosti.
 - d. Če pozitivne zunanje kontrole NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls še naprej javljajo rezultat Negative (Negativno), stopite v stik s tehnično podporo družbe QIAGEN.
 - e. Če negativne zunanje kontrole NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls še naprej javljajo rezultat Positive (Pozitivno), skušajte izločiti vse vires morebitnega onesnaženja, vključno z menjavo VSEH reagentov, preden stopite v stik s tehnično podporo družbe QIAGEN.
7. Če zunanje kontrole ne podajo pričakovanih rezultatov, morate ponoviti set pozitivnih in negativnih kontrol. Vzorci ne bodo obdelani, dokler sistem ne obdelata veljavnega seta zunanjih kontrol. Če so vzorci v obdelavi, ko rok veljavnosti zunanjih kontrol poteče, bo sistem zahteval, da se izvede veljavni set zunanjih kontrol. Če set zunanjih kontrol ne poda veljavnih rezultatov, rezultat vzorcev ne bodo sporočeni.

(Notranje) kontrole obdelave vzorca

Eksogena kontrola obdelave vzorca (Sample Process Control, SPC1) je vključena v NeuMoDx™ Extraction Plate ter je z vsakim vzorcem/kontrolo/kalibratorjem 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™ HSV 1/2 Quant Test Strip, s čimer je omogočena zaznava prisotnosti SPC1 skupaj s ciljno DNK HSV-1 in HSV-2 (če je prisotna) preko multipleksa PCR v realnem času. Zaznava amplifikacije SPC1 programski opremi sistema NeuMoDx™ System omogoča nadzor učinkovitosti ekstrakcije DNK in postopka amplifikacije PCR.

Rezultati Invalid (Neveljavno)

Če test NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay, izveden na sistemu NeuMoDx™ System, ne ustvari veljavnega rezultata, bo na podlagi tipa napake, ki se je pojavila, sporočen rezultat Indeterminate (Nedoločeno) (IND), No Result (Ni rezultata) (NR) ali Unresolved (Nerešeno) (UNR). Test morate ponoviti za pridobitev veljavnega rezultata.

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

Rezultat No Result (Ni rezultata) bo sporočen, če bo med obdelavo vzorca zaznana napaka sistema NeuMoDx System in bo obdelava vzorca prekinjena. Pri rezultatu No Result (Ni rezultata) je priporočen ponovni test.

Rezultat UNR (Nerazrešeno) bo sporočen, če ne bo zaznan noben cilj in če ni amplifikacije DNK HSV-1 ali DNK HSV-2 ali SPC1, kar kaže 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 (za nadaljnja navodila glejte razdelek z omejitvami).

Oglejte si priročnik za uporabo NeuMoDx 288 Molecular System (št. dela: 40600108) ali priročnik za uporabo NeuMoDx 96 Molecular System (št. dela: 40600317) za seznam kod napak, ki so lahko povezane z rezultati Invalid (Neveljavno).

KARAKTERISTIKE DELOVANJA^{11,12,16}

Analitična občutljivost – meja zaznavanja¹³

Analitična občutljivost testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay je bila opredeljena s testiranjem serije razredčitev plošče EDX HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) in plošče HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics) v vzorcih plazme, negativnih na HSV-1/HSV-2, za določitev meje zaznavanja (Limit of Detection, LoD) na sistemih NeuMoDx™ Systems. LoD je bila opredeljena kot najbližja ciljna raven, določena eksperimentalno, nad koncentracijo, določeno z analizo tipa Probit s 95-odstotnim intervalom zaupanja (IZ). Študija je bila izvedena v obdobju 3 dni na več sistemih z več serijami reagentov NeuMoDx™. Vsak sistem je obdelal 42 ponovljenih vzorcev pri vsaki stopnji razredčitve (pozitivni vzorci) in 8 ponovljenih vzorcev za negativne vzorce na dan. Stopnje zaznavanja so prikazane v *preglednici 2* in *3*.

Preglednica 2: Stopnje zaznavanja pozitivnih testov za določanje LoD kvant. testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

HSV-1					HSV-2				
Ciljna koncentracija [kopije/ml]	Ciljna koncentracija [\log_{10} kopij/ml]	Število veljavnih testov	Število pozitivnih	Stopnja zaznavanja	Ciljna koncentracija [kopije/ml]	Ciljna koncentracija [\log_{10} kopij/ml]	Število veljavnih testov	Število pozitivnih	Stopnja zaznavanja
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 %

Meja zaznavanja (LoD) testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay je bila z analizo tipa Probit določena pri 114 kopij/ml (2,05 \log_{10} kopij/ml) (interval zaupanja 95 %: 93,5 do 133,7 kopij/ml) za HSV-1 in pri 56 kopij/ml (1,75 \log_{10} kopij/ml) (interval zaupanja 95 %: 44,7 do 66,2 kopij/ml) za HSV-2. Koncentracija LoD (114 kopij/ml) za HSV-1 je bila potrjena z analizo stopnje zadetkov na izolatih iz različnih geografskih območij: Azije, Evrope, Afrike in Severne Amerike (preglednica 3).

Preglednica 3: Analiza stopnje zadetkov na različnih geografskih izolatih HSV-1, ki potrjuje spodnjo mejo zaznavanja (Lower Limit of Detection). Testirana stopnja koncentracije: 114 kopij/ml.

Izolat geografskega območja	Veljavni testi	Zaznani vzorci	Stopnja zaznavanja
Severna Amerika	24	24	100
Evropa	24	24	100
Azija	24	24	100
Afrika	24	24	100

Analična občutljivost – spodnja meja kvantifikacije (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) in zgornja meja kvantifikacije (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)¹³

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 spodnje meje kvantifikacije (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) in zgornje meje kvantifikacije (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) je bila izračunana skupna analitična napaka (Total Analytical Error, TAE) za vsako od ciljnih stopenj HSV-1 in HSV-2, ki so pri testiranju meje zaznavanja poročale zaznavo > 95 %. TAE je opredeljena kot:

$$TAE = |\text{Bias}| + 2 * SD \text{ [statistika Westgard Statistics]}$$

Odstopanje je absolutna vrednost razlike med povprečjem izračunane koncentracije in pričakovano koncentracijo. SO se nanaša na standardno odstopanje kvantificirane vrednosti vzorca.

Združeni rezultati za 5 stopenj primerkov plazme HSV-1/HSV-2, uporabljenih v študiji LLoQ/ULoQ, so prikazani v preglednicah 4 in 5. Na podlagi tega nabora podatkov in predhodno določene LoD sta bili LLoQ in ULoQ določeni pri 114 kopij/ml (2,05 \log_{10} kopij/ml) oziroma $1,26 \times 10^6$ kopij/ml (v tem primeru je bil uporabljen približek 6 \log_{10} kopij/ml) za HSV-1 in 60 kopij/ml (1,78 \log_{10} kopij/ml) oziroma $1,19 \times 10^6$ kopij/ml (v tem primeru je bil uporabljen približek 6 \log_{10} kopij/ml) za HSV-2.

Preglednica 4: Testni trak NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip; ULoQ in LLoQ za HSV-1, s pristranskostjo in TAE

Ciljna konc. [kopij/ml]	Ciljna konc. [\log_{10} kopij/ml]	Povprečna konc. [\log_{10} kopij/ml]	Zaznava (%)	SO	Pristranskost	TAE
$1,26 \times 10^6$	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

Preglednica 5: Testni trak NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip; ULoQ in LLoQ za HSV-2, s pristranskostjo in TAE

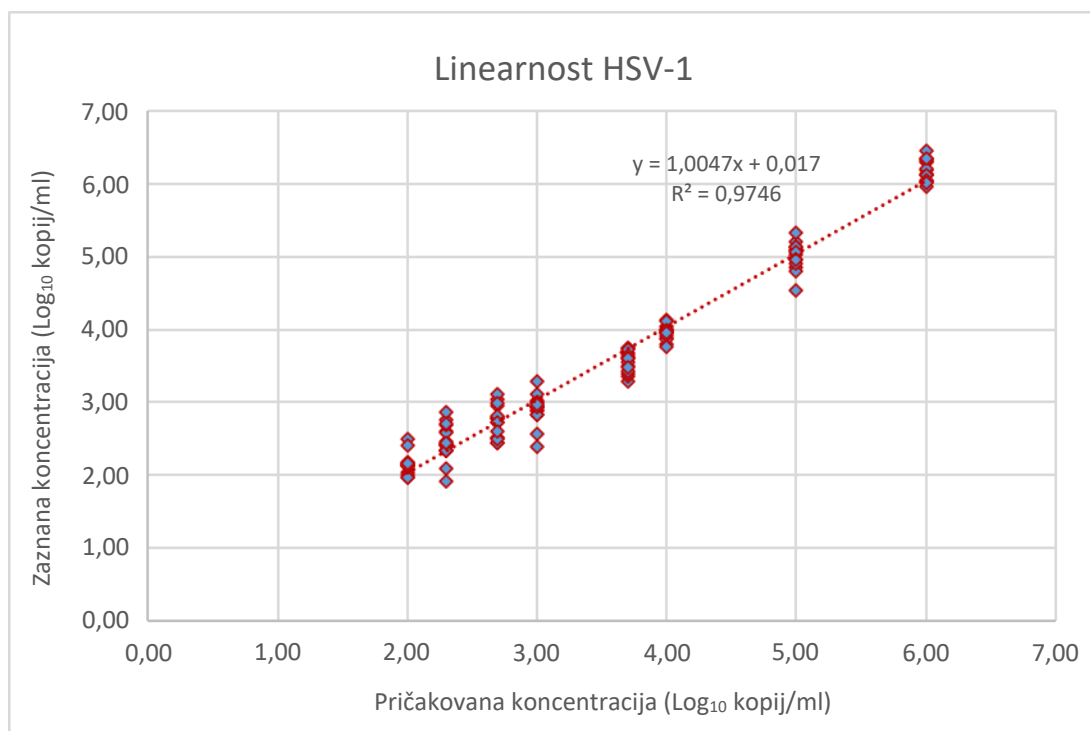
Ciljna konc. [kopij/ml]	Ciljna konc. [log ₁₀ kopij/ml]	Povprečna konc. [log ₁₀ kopij/ml]	Zaznava (%)	SO	Pristranskost	TAE
1,19 x 10 ⁶	6,08	5,95	100	0,07	0,13	0,27
100	2,00	2,29	97,62 %	0,20	0,29	0,69
60	1,78	2,21	95,12 %	0,21	0,43	0,84
40	1,60	2,21	95,24 %	0,21	0,61	1,02
20	1,30	2,00	64,29 %	0,27	0,69	1,24

Na podlagi rezultatov teh študij je bila LLoQ za test NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay določena pri 114 kopij/ml (2,05 log₁₀ kopij/ml) za HSV-1 in pri 60 kopij/ml (1,78 log₁₀ kopij/ml) za HSV-2. ULoQ za vse tipe primerkov je 1,26 x 10⁶ kopij/ml (6 log₁₀ kopij/ml) za HSV-1 in 1,19 x 10⁶ kopij/ml (6 log₁₀ kopij/ml) za HSV-2.

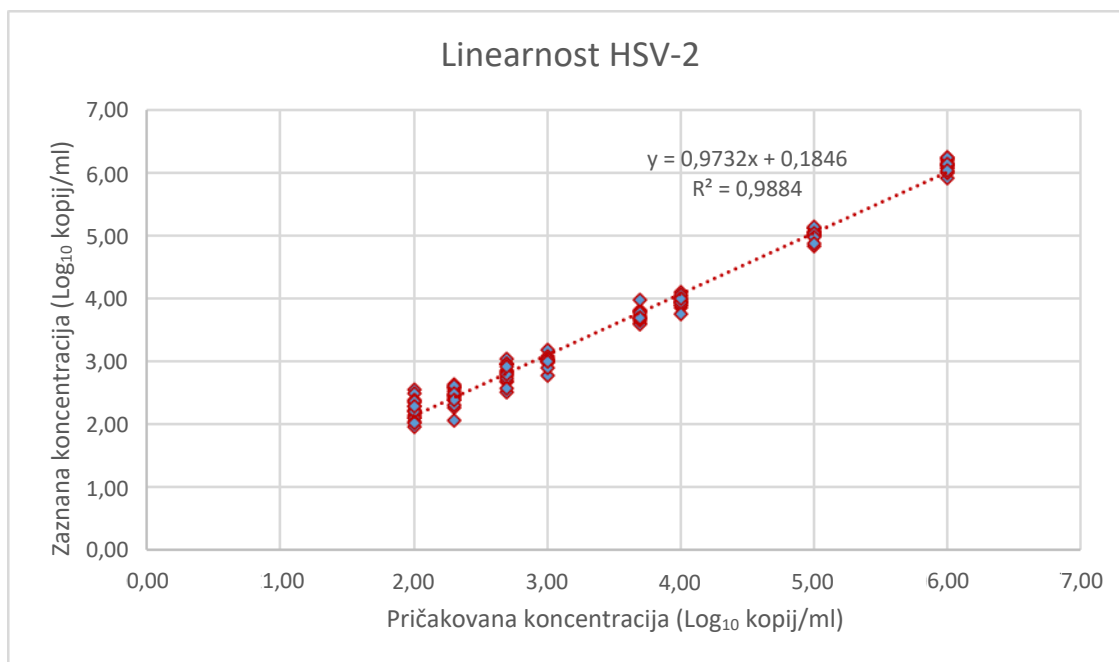
Linearnost¹⁴

Linearnost testnega traku NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip je bila določena v plazmi s pripravo serije razreditev ter uporabo plošče HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) in plošče EDX HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics). Pripravljenih je bilo osem (8) zaporednih razreditev plošč HSV-1/HSV-2, in sicer v človeški plazmi, negativni na HSV-1/HSV-2, s katerimi je bil zajet razpon koncentracije 6 – 2 log₁₀ kopij/ml.

Koncentracije testa HSV-1/HSV-2, ki jih poroča sistem NeuMoDx™ System v primerjavi s pričakovanimi vrednostmi, so predstavljene na slikah 2 in 3.



Slika 2: Linearnost testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay za HSV-1



Slika 3: Linearnost testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay za HSV-2

Analitična specifičnost – navzkrižna reaktivnost^{11, 12}

Analitična specifičnost je bila prikazana s presajenjem 22 organizmov, ki jih za navzkrižno reaktivnost običajno najdemo v primerkih plazme, kot tudi v vrstah, ki so filogenetsko podobne HSV-1 in HSV-2. Organizmi so bili pripravljene v skupinah po 5/6 organizmov ter testirani pri visoki koncentraciji. Testirani organizmi so prikazani v preglednici 6. Pri nobenem testiranem organizmu ni bila opažena navzkrižna reaktivnost, s čimer je potrjena 100 % analitična specifičnost testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

Preglednica 6: Patogeni, uporabljeni za dokazovanje analitične specifičnosti

Neciljni organizmi					
<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 humane imunske pomanjkljivosti 1	Virus hepatitisa B	Adenovirus tipa 5	Virus Epstein-Barr	Virus varicella-zoster	Enterovirus 68
BK virus	Humani herpesvirus tipa 6	Humani herpesvirus tipa 8	Citomegalovirus	HHV-7	HTVL-1
HTVL-2	JC virus	SV40	Virus humane imunske pomanjkljivosti 2		

Analitična specifičnost – moteče snovi, komenzalni organizmi^{11, 12}

Test NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay je bil ocenjen glede motenj ob prisotnosti neciljnih organizmov z uporabo istih skupin organizmov, pripravljenih za testiranje navzkrižne reaktivnosti in navedenih zgoraj v preglednici 6. Negativna plazma HSV-1/HSV-2 je bila obogatena z organizmi, združenimi v skupinah po 4–7, ter obogatena tudi s ciljem HSV-1/HSV-2 pri koncentraciji 2,47 log₁₀ kopij/ml (300 kopij/ml). Pomembna motnja v prisotnosti teh komenzalnih organizmov ni bila opažena, kot je indiciral minimalni odklon kvantifikacije od kontrolnih primerkov, ki niso vsebovali motečega agenta.

Analitična specifičnost – moteče snovi, endogene in eksogene snovi^{11, 12}

Test NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay je bil ocenjen ob prisotnosti tipičnih eksogenih in endogenih motečih snovi, s katerimi se srečujemo pri kliničnih vzorcih plazme HSV-1/HSV-2. Vsebovale so nenavadno visoke stopnje krvnih komponent kot tudi splošna protivirusna zdravila, ki so razvrščena v preglednici 7. Vsaka snov je bila dodana presejani matrici Basematrix 53, negativni na HSV-1/HSV-2, obogateni z 2,47 log₁₀ kopij/ml (300 kopij/ml) HSV-1/ HSV-2, vzorci pa so bili analizirani glede motenj.

Povprečna koncentracija in odstopanje vseh testiranih snovi, primerjana s kontrolnimi vzorci, obogatene s isto stopnjo HSV-1/HSV-2, sta navedena v preglednici 8. Nobena od eksogenih in endogenih snovi ni vplivala na specifičnost testa NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

Preglednica 7: 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
	Valaciclovir	PROTIVIRUSNO ZDRAVILO
	Leflunomid	ZDRAVILO ZA ZAVIRANJE IMUNSKE ODZIVNOSTI

Preglednica 8: Testiranje interference – eksogeni in endogeni agenti

Endogeni (plazma)	HSV-1		HSV-2	
	Povprečna konc.	Pristranskost	Povprečna konc.	Pristranskost
	log ₁₀ kopij/ml	log ₁₀ kopij/ml	log ₁₀ kopij/ml	log ₁₀ kopij/ml
Trigliceridi (500 mg/dl)	3,04	-0,19	2,51	0,07
Konjugirani bilirubin (0,25 g/l)	3,18	-0,18	2,72	0,15
Nekonjugirani 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
Eksogena (zdravila)	Povprečna konc.	Pristranskost	Povprečna konc.	Pristranskost
	log ₁₀ kopij/ml	log ₁₀ kopij/ml	log ₁₀ kopij/ml	log ₁₀ kopij/ml
Skupina 1: Valganciklovir, prednizon, cidofovir, cefotaksim, mikofenolat mofetil	2,16	0,33	2,18	0,35
Skupina 2: Vankomicin, takrolimus, famotidin, valaciclovir, leflunomid	2,53	0,32	2,44	0,56

Ponovljivost in natančnost znotraj laboratorija¹⁵

Natančnost testnega traku NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip je bila določena s testiranjem 2 ponovljenih vzorcev 3-članske plošče primerkov HSV-1/HSV-2, pripravljenih s plazmidom HSV-1 ali HSV-2, dvakrat na dan z uporabo enega sistema NeuMoDx™ 96 System v obdobju 20 dni. Določena je bila natančnost znotraj serije in znotraj dneva, skupno standardno odstopanje pa je bilo določeno pri $\leq 0,30 \log_{10}$ kopij/ml. Dokazana je bila odlična natančnost med dnevi in postopki, kot je prikazano v *preglednici 9*. Natančnost med upravljavci ni bila določena, saj upravljavec ne igra pomembne vloge pri obdelavi vzorcev z uporabo sistema NeuMoDx™ System.

Preglednica 9: Natančnost znotraj laboratorija – test NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay na sistemu NeuMoDx™ System 96

Vzorec	SO pri ponovljivosti (log ₁₀ kopij/ml)	SO med postopki (log ₁₀ kopij/ml)	SO znotraj dneva (log ₁₀ kopij/ml)	Med dnevi (log ₁₀ kopij/ml)	Splošno SO (znotraj laboratorija) (log ₁₀ kopij/ml)
HSV-1					
5,5 log ₁₀ kopij/ml	0,18	0,00	0,18	0,10	0,20
4,5 log ₁₀ kopij/ml	0,16	0,10	0,19	0,00	0,19
3,0 log ₁₀ kopij/ml	0,19	0,09	0,21	0,10	0,23
HSV-2					
5,7 log ₁₀ kopij/ml	0,14	0,05	0,15	0,07	0,16
4,7 log ₁₀ kopij/ml	0,11	0,00	0,11	0,07	0,13
3,1 log ₁₀ kopij/ml	0,16	0,13	0,20	0,00	0,20

Ponovljivost med serijami¹⁵

Ponovljivost rezultatov testnih trakov NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip je bila določena z uporabo treh različnih serij testnih trakov NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip. Za oceno delovanja na enem sistemu NeuMoDx™ 96 Molecular System s 5 ločenimi postopki je bila uporabljena 4-članska plošča HSV-1 in HSV-2, pripravljena s ploščo HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) oziroma EDX HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics). Analizirane so bile razlike znotraj serije in med serijami, rezultati, izraženi kot standardno odstopanje med serijami, pa so predstavljeni v *preglednici 10*. Največje maksimalno standardno odstopanje je znašalo 0,26 log₁₀ kopij/ml. Ekvivalentno delovanje je bilo dokazano med vsemi serijami, saj je bilo standardno odstopanje (Standard Deviation, SD) med vsemi člani plošče znotraj določene tolerance (ponovljivost SO ≤ 0,3 log₁₀ kopij/ml).

Preglednica 10: Ponovljivost med serijami – test NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

Vzorec	SO pri ponovljivosti (Log ₁₀ kopij/ml)	SO med dnevi (log ₁₀ kopij/ml)	SO znotraj serije (log ₁₀ kopij/ml)	SO med serijami (log ₁₀ kopij/ml)	SO pri reproducibilnosti (log ₁₀ kopij/ml)
HSV-1					
1,26 x 10 ⁵ kopij/ml	0,12	0,22	0,25	0,00	0,25
1,26 x 10 ⁴ kopij/ml	0,16	0,19	0,25	0,00	0,25
300 kopij/ml	0,18	0,17	0,25	0,00	0,25
HSV-2					
1,26 x 10 ⁵ kopij/ml	0,13	0,12	0,17	0,00	0,18
1,26 x 10 ⁴ kopij/ml	0,77	0,10	0,13	0,00	0,13
300 kopij/ml	0,21	0,12	0,24	0,00	0,24

Ponovljivost med instrumenti¹⁵

Ponovljivost rezultatov testa s testnimi trakovi NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip med instrumenti je bila določena z uporabo treh različnih sistemov (enega sistema NeuMoDx™ 288 Molecular System in dveh sistemov NeuMoDx™ 96 Molecular System). Za oceno delovanja je bila uporabljena 4-članska plošča HSV-1/HSV-2, pripravljena s ploščo HSV-1 Verification Panel (Exact Diagnostics) oziroma ploščo EDX HSV-2 Verification Panel (Exact Diagnostics). Testiranje je bilo izvajano na vseh sistemih v obdobju 5 dni. Opredeljene so bile razlike znotraj dneva in med sistemi, skupno standardno odstopanje pa je bilo določeno pri ≤ 0,30 log₁₀ kopij/ml. Ekvivalentno delovanje je bilo dokazano pri vseh sistemih, saj je bilo standardno odstopanje (Standard Deviation, SD) pri kvantifikaciji vseh članov plošče znotraj določene tolerance (preglednica 11).

Preglednica 11: Ponovljivost med instrumenti – testni trak NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip

Vzorec	SO pri ponovljivosti (Log ₁₀ kopij/ml)	SO med dnevi (log ₁₀ kopij/ml)	SO znotraj sistema (log ₁₀ kopij/ml)	SO med sistemi (log ₁₀ kopij/ml)	SO pri reproduktibilnosti (log ₁₀ kopij/ml)
HSV-1					
1,26 x 10 ⁵ kopij/ml	0,25	0,04	0,26	0,13	0,29
1,26 x 10 ⁴ kopij/ml	0,26	0,08	0,28	0,07	0,28
300 kopij/ml	0,19	0,08	0,21	0,08	0,23
HSV-2					
1,26 x 10 ⁵ kopij/ml	0,15	0,16	0,22	0,00	0,22
1,26 x 10 ⁴ kopij/ml	0,14	0,18	0,23	0,08	0,24
300 kopij/ml	0,14	0,20	0,25	0,00	0,25

REFERENCE

1. 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.
2. 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>
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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>
7. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington,DC: US Government Printing Office, January 2009.
8. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed.Geneva: World Health Organization, 2004.
9. CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
10. 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
11. CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases. Approved Guideline – Third Edition. CLSI document MM03. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.
12. CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document MM06-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2010.
13. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2012.
14. 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.
15. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2014.
16. 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.

Seracare® je blagovna znamka podjetja Seracare Life Sciences, Inc.

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 za uporabo 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



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

+1 888 301 NMDX (6639)
Tehnična podpora: support.qiagen.com
Poročanje v okviru vigilance: support.qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents