


200700 NeuMoDx™ HAdV 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™ HAdV Quant Assay je automatizovaný *in vitro* test amplifikace nukleové kyseliny pro identifikaci a kvantifikaci DNA lidského adenoviru (AdV) ve vzorcích extrahovaných z lidské plazmy/séra a moči. Analýza NeuMoDx™ HAdV Quant Assay prováděná na molekulárních soustavách NeuMoDx™ 288 Molecular System a NeuMoDx™ 96 Molecular System (soustava (soustavy) NeuMoDx™ System) obsahuje automatizovanou extrakci DNA k izolování cílové nukleové kyseliny ze vzorku a polymerázovou řetězovou reakci v reálném čase (Polymerase Chain Reaction, PCR) k zacílení na sekvence v genomu AdV.

Analýza NeuMoDx™ HAdV Quant Assay je spolu s dalšími klinickými a laboratorními nálezy určena jako pomůcka při diagnostice a sledování infekce AdV.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Plnou lidskou krev, odebranou do sterilních zkumavek pro odběr krve, které obsahují kyselinu ethylenediamintetraoctovou (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) jako antikoagulant, případně odebranou do zkumavek pro přípravu plazmy (Plasma Preparation Tubes, PPT), lze použít pro přípravu plazmy, zatímco sérum by mělo být odebráno do zkumavek pro separaci séra nebo zkumavek pro separaci (Serum Separation Tubes, SST). Pro testování vzorku moči se vzorek moči odebírá do běžného pohárku na odběr moči bez konzervačních nebo přídavných látek. Aby byly plazma/sérum nebo moč připraveny k testování, vloží se v primární nebo sekundární zkumavce se vzorkem kompatibilní se soustavou NeuMoDx™ System pomocí k tomu určeného stojanu na zkumavky se vzorkem do soustavy NeuMoDx™ System, kde začne automatizované zpracování.

U vzorků plazmy/séra se alikvotní podíl vzorku 550 µl smísí s pufrém NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 z přístroje anebo se alikvotní podíl vzorku plazmy/séra 100 µl smísí s pufrém NeuMoDx™ Lysis Buffer 5. U vzorků moči se alikvotní podíl vzorku 550 µl smísí s pufrém NeuMoDx™ Lysis Buffer 2 z přístroje.

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™ HAdV 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 reagentie, ke kterému může dojít během extrakce a amplifikace.

Adenoviry (AdV) jsou neobalené, dvouvláknové DNA viry patřící do rodu Mastadenovirus z čeledi *Adenoviridae*, které jsou spojovány s celou řadou klinických syndromů u lidí. Jsou známy typy a genotypy lidských adenovirů (HAdV), které jsou rozděleny do sedmi druhů (A–G).¹ Vzhledem k jejich genetické heterogenitě je tropismus druhů HAdV značně různorodý, což vede k infekcím různých orgánů a tkání. Adenoviry mohou způsobovat epidemie horečnatých respiračních onemocnění, faryngokonjunktivální horečky, keratokonjunktivitidy nebo gastroenteritidy a průjemových onemocnění.¹ Infekce může být důsledkem expozice infikovaným osobám (vdechnutí aerosolových kapek, očkování spojivek, šíření fekálně orální cestou), může být získána z exogenních zdrojů (např. polštáře, ložní prádlo, skříňky, zbraně), případně výsledkem reaktivace. Inkubační doba se pohybuje od 2 do 14 dnů. Latentní AdV může přetrvávat v lymfatické tkáni, ledvinovém parenchymu nebo jiných tkáních po několik let; k reaktivaci může dojít u těžce imunosuprimovaných pacientů.¹

Význam vhodného diagnostického sledování HAdV podtrhuje skutečnost, že morbidita a mortalita u imunokompromitovaných pacientů s invazivní infekcí může být velmi vysoká, a to jak v dětském, tak v dospělém věku.² Kvantitativní měření virové nálože může přispět k diagnostice infekce a působit jako náhradní ukazatel, který koreluje s klinickou odpovědí na léčbu. PCR může být účinnou screeningovou metodou pro identifikaci asymptomatických pacientů s rizikem progresivního onemocnění způsobeného adenoviry.²

PRINCIPY POSTUPU

K provedení analýzy využívá analýza NeuMoDx™ HAdV Quant Assay na soustavě NeuMoDx™ System testovací proužek NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, kalibrační soupravu NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit, soupravu pro externí kontrolu NeuMoDx™ HAdV External Control Kit, lyzační pufr NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, lyzační pufr NeuMoDx™ Lysis Buffer 2, lyzační pufr NeuMoDx™ Lysis Buffer 5 a obecně použitelné reagentie NeuMoDx™. Teplota pro uchování reagentie je +15/+30 °C.

Analýza NeuMoDx™ HAdV Quant Assay v sobě spojuje automatizovanou extrakci DNA, amplifikaci a detekci pomocí PCR v reálném čase. Vzorky plazmy/séra nebo moči 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, působení lytických enzymů a extrakčních reagensů. Uvolněné nukleové kyseliny jsou zachyceny paramagnetickými částicemi. Částice se s navázanými nukleovými kyselinami vloží do zásobníku NeuMoDx™ Cartridge, kde se nenasázané složky, jiné než DNA, dále vymyjí promývací reagensy NeuMoDx™ Wash Reagent a navázaná DNA se eluuje pomocí uvolňovací reagensie NeuMoDx™ Release Reagent. Soustavy NeuMoDx™ System potom eluovanou DNA využijí k rehydrataci lyofilizovaných, patentově chráněných amplifikačních reagensů Sentinel CH. (STAT-NAT® technology), které obsahují všechny prvky nezbytné k PCR amplifikaci cílů specifických pro AdV a SPC1. Po rekonstituci lyofilizovaných reagensů 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 ampikon po PCR v reálném čase, čímž se prakticky eliminuje riziko kontaminace po amplifikaci.

Amplifikované cíle jsou detekovány v reálném čase pomocí chemizmu hydrolyzační sondy (běžně označovaný jako chemizmus TaqMan®) za použití fluorogenních oligonukleotidových molekul sondy, specifických pro ampikony jejich příslušných cílů. Sonden TaqMan 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 v termocykleru soustavy NeuMoDx™ System s kvantitativní PCR je přímo úměrný uvolněnému fluoroforu a lze jej korelovat s množstvím přítomné cílové DNA.³

K detekci DNA AdV a DNA SPC1 se používají sondy TaqMan® značené fluorofory na 5' konci a zhášedly na 3' konci. Software soustavy NeuMoDx™ System monitoruje fluorescenční signál vydávaný sondami TaqMan na konci každého amplifikačního cyklu. Když je amplifikace hotova, software soustavy NeuMoDx™ System údaje analyzuje a podá zprávu o 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 také poskytuje kvantitativní hodnotu spojenou se vzorkem.

REAGENCIE / SPOTŘEBNÍ MATERIÁL

Dodaný materiál

REF.	Obsah	Počet testů na jednotku	Počet testů v balení
200700	NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip <i>Lyofilizované reagensie PCR obsahující TaqMan® sondy a primery specifické pro AdV 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>
800801	NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit <i>Jednorázové sady suchých kalibrátorů HAdV vysokých a nízkých hodnot pro stanovení validity standardní křivky</i>
900801	NeuMoDx™ HAdV External Control Kit <i>Jednorázové sady suchých kontrol pozitivních na HAdV a negativních kontrol pro stanovení každodenní validity analýzy NeuMoDx HAdV Quant Assay</i>
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400500	NeuMoDx™ Lysis Buffer 2
400900	NeuMoDx™ Lysis Buffer 5
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

Potřebné přístrojové vybavení

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

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Testovací proužek NeuMoDx™ HAdV 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 rozbítý.
- Nemíchejte reagentie pro amplifikaci z jiných komerčních souprav.
- Všechny testovací proužky NeuMoDx™ HAdV 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 kalibrační soupravy NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit, REF 800801) předtím, než lze výsledky testu generovat pro klinické vzorky.
- Souprava pro externí kontrolu NeuMoDx™ HAdV External Control Kit (REF 900801) musí být během testování pomocí analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay zpracována každých 24 hodin.
- Minimální objem vzorku závisí na velikosti zkumavky, stojanu se vzorky a postupu zpracování objemu vzorku v ml, jak je definován níže. Objem menší, než je specifikované minimum, může vést k chybě „Quantity Not Sufficient“ (Nedostatečné množství).
- Provádění analýzy HAdV na vzorcích skladovaných při nevhodných teplotách nebo po určené době skladování může za použití testovacího proužku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip přinést neplatné nebo chybné výsledky.
- 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. Na 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 zabraňoval.
- V případě, že laboratoř provádí také testy PCR s otevřenými zkumavkami, musí být zajištěno, že testovací proužky NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, doplňkový spotřební materiál a reagentie nezbytné k testování, ochranné osobní prostředky, jako například rukavice a laboratorní pláště, a soustava NeuMoDx™ System nebudou 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 horního povrchu zásobníku NeuMoDx™ Cartridge, fóliového těsnění testovacího proužku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip ani extrakční destičky NeuMoDx™ Extraction Plate, případně horního povrchu nádob s lyzačními pufrů NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, 2 a 5; 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.
- Po provedení testu si důkladně umyjte ruce.
- Nepipetujte ústy. Nekuřte, nepijte ani nejzte v oblastech, kde se manipuluje se vzorky nebo reagentiemi.
- Se vzorky vždy zacházejte tak, jako by byly infekční, a v souladu s bezpečnými laboratorními postupy, které jsou například popsány dle normy OSHA pro krevní patogeny⁴, úroveň biologické bezpečnosti²⁻⁵, anebo v souladu s jinými vhodnými postupy biologické bezpečnosti^{6,7}, určené pro materiály, které obsahují nebo u nichž panuje podezření, že obsahují infekční agens.
- Nepoužité reagentie a odpad likvidujte podle státních, federálních, oblastních a místních předpisů.
- Výsledky analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay by měly být interpretovány ve spojení s ostatními klinickými a laboratorními nálezy.
- Stejně jako u jiných testů negativní výsledky neznamenají vyloučení infekce AdV.
- Svislá čára v okraji textu označuje změny ve srovnání s předchozí verzí návodu k použití.
- Nepoužívejte opakovaně.

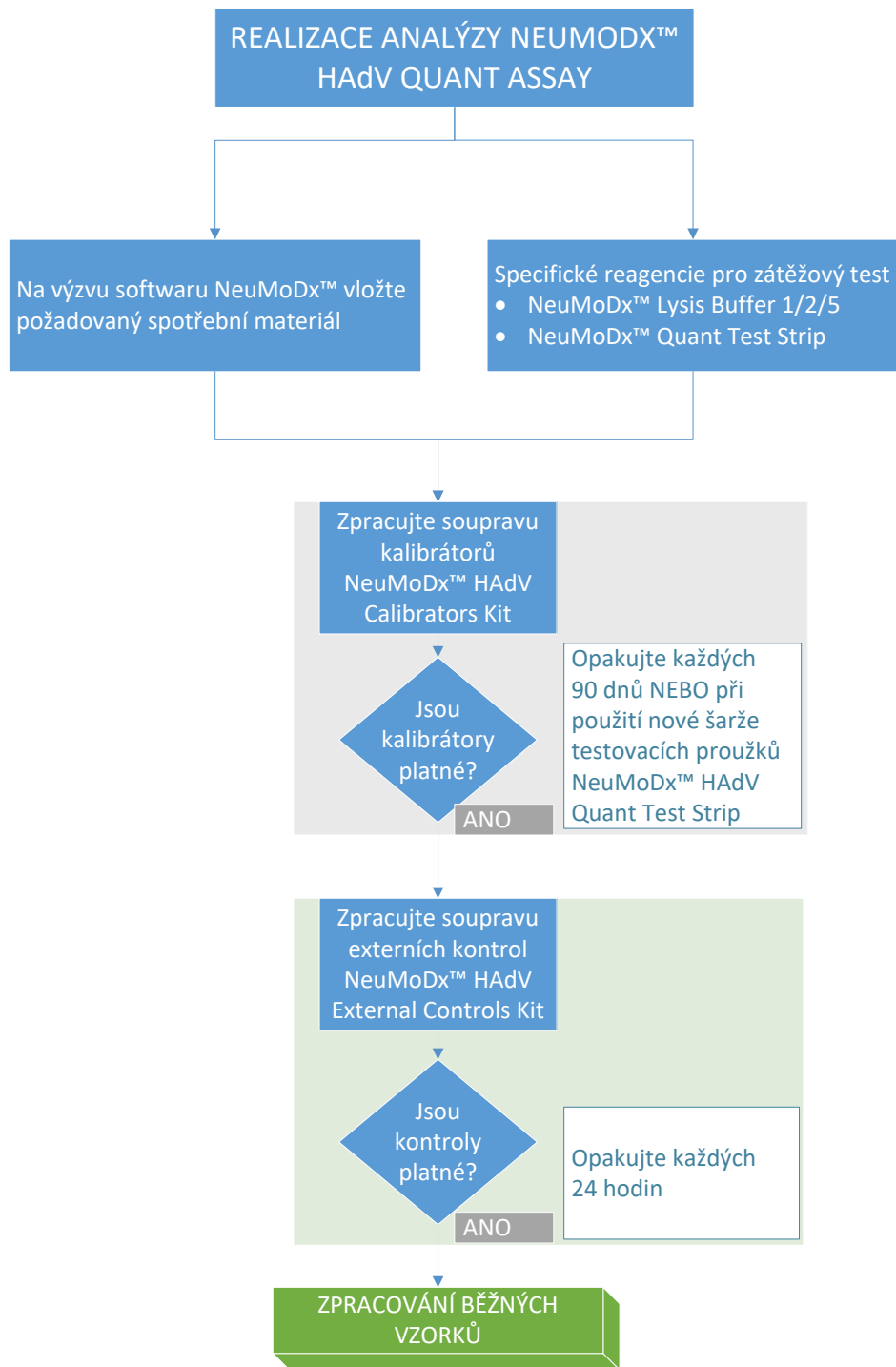
UCHOVÁVÁNÍ, MANIPULACE A STABILITA PRODUKTU

- Testovací proužky NeuMoDx™ HAdV 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™ HAdV Quant Test Strip vložený do soustavy NeuMoDx™ System je stabilní po dobu 28 dní; software soustavy NeuMoDx™ System vyvezve k vyjmutí testovacích proužků, které byly v soustavě NeuMoDx™ System používány déle než 28 dnů a bude třeba otevřít a do soustavy NeuMoDx™ System vložit nové testovací proužky NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip. Během vkládání do soustavy NeuMoDx™ System neodstraňujte z proužku hliníkovou fólii.
- Kalibrátory a kontroly NeuMoDx™ jsou neinfekční, ale po použití by měly být zlikvidovány 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/séra skladované v primárních zkumavkách nezmrazujte.
3. Pro přípravu vzorků plazmy by měla být plná krev odebrána do sterilních zkumavek za použití EDTA jako antikoagulantu. Vzorky séra by měly být připraveny ve zkumavkách pro separaci séra. Vzorky moči by měly být odebírány do sterilních zkumavek nebo pohárků. Postupujte podle pokynů výrobce zkumavek pro odběr vzorků.
4. Plná krev odebraná v zařízeních vyjmenovaných výše může být před přípravou plazmy/séra 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. Skladování čerstvé, nezpracované moči při okolní teplotě by mělo být minimalizováno, protože nízké pH a vysoký obsah močoviny DNA rychle denaturují, zejména při teplotě 25 °C a vyšší.
6. Připravené vzorky plazmy/séra lze v soustavě NeuMoDx™ System uchovávat až 24 hodin před zpracováním; připravené vzorky moči lze v soustavě NeuMoDx™ System uchovávat až 16 hodin před zpracováním. Pokud je třeba delší doby skladování, doporučujeme vzorky buď zchladit, nebo zmrazit jako sekundární alikvotní podíly.
7. Připravené vzorky plazmy/séra a moči by při teplotě 2 až 8 °C neměly být před testováním skladovány déle než 8 dnů a maximálně 24 hodin (plazma/sérum) nebo 16 hodin (moč) při teplotě místnosti.
8. Připravené vzorky mohou být před zpracováním skladovány při teplotě < -20 °C po dobu až 8 týdnů v případě plazmy a 2 týdny v případě séra; jak vzorky plazmy, tak vzorky séra by před použitím neměly být vystaveny více než 2 cyklům zmrazení/rozmrazení:
 - a. Pokud jsou vzorky zmrazené, nechte je úplně rozmrazit při teplotě místnosti (15–30 °C); pro vytvoření rovnoměrně rozloženého vzorku vzorek promíchejte protřepáním.
 - b. Jakmile jsou zmrazené vzorky rozmrazeny, testování by mělo proběhnout do 24 hodin.
 - c. Zmrazení plazmy/séra v primárních odběrových zkumavkách se nedoporučuje.
9. Po zpracování mohou být vzorky moči skladovány při teplotě 2 až 8 °C.
10. Pokud jsou vzorky přepravovány, měly by být zabaleny a označeny v souladu s platnými předpisy země a/nebo mezinárodními předpisy.
11. Zřetelně vzorky označte a uveďte, že se jedná o vzorky k testování AdV.
12. Přejděte k části *Příprava testu*.

Celý proces realizace analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay je shrnut *na obrázku 1*.



Obrázek 1: Pracovní postup při realizaci analýzy NeuMoDx HAdV Quant Assay

NÁVOD K POUŽITÍ

Příprava testu

V případě vzorků plazmy/séra může analýza NeuMoDx™ HAdV Quant Assay proběhnout přímo v primárních odběrových zkumavkách pro krev, případně z alikvotních podílů vzorků v sekundárních zkumavkách. Zpracování lze spustit pomocí jednoho ze dvou pracovních postupů zpracování objemů vzorků – pracovní postup pro zpracování vzorku o objemu 550 µl nebo pracovní postup pro zpracování vzorku o objemu 100 µl. Vzorky moči jsou zpracovány pouze pomocí pracovního postupu pro zpracování vzorku o objemu 550 µl.

1. Na zkumavku se vzorkem, kompatibilní se soustavou NeuMoDx™ System, nalepte štítek s čárovým kódem na vzorky. Primární odběrová zkumavka na krev může být označena a po odstředění umístěna přímo do 32místného stojanu na zkumavky se vzorkem; viz pokyny výrobce.
2. Pokud testujete vzorek plazmy/séra 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.

Odběr krve Typ zkumavky	Minimální požadovaný objem vzorku	
	Pracovní postup pro 550 µl	Pracovní postup pro 100 µl
SST – 3,5 ml	1 550 µl	1150 µl
PPT/SST – 5,0 ml	1800 µl	1400 µl
PPT/SST – 8,5 ml	2500 µl	2150 µl
K ₂ EDTA/sérum – 4,0 ml	1050 µl	650 µl
K ₂ EDTA/sérum – 6,0 ml	1250 µl	850 µl
K ₂ EDTA/sérum – 10,0 ml	1600 µl	1 200 µl

3. V případě vzorků moči anebo v případě vzorků plazmy/séra 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	
		Pracovní postup pro 550 µl	Pracovní postup pro 100 µl (pouze plazma/sérum)
32-Tube Specimen Tube Carrier (32místný stojan na zkumavky se vzorkem)	Průměr 11–14 mm a výška 60–120 mm	700 µl	350 µl
24-Tube Specimen Tube Carrier (24místný stojan na zkumavky se vzorkem)	Průměr 14,5–18 mm a výška 60–120 mm	1100 µl	750 µl
Low Volume Specimen Tube Carrier (Stojan na zkumavky se vzorkem o malém objemu)	1,5ml mikrocentrifugační zkumavka s kónickým dnem	650 µl	250 µl

Obsluha soustavy NeuMoDx System

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

1. Podle požadovaného typu zkumavky a vzorku načtete do soustavy NeuMoDx System objednávku testu:
 - Objem vzorku 550 µl je testován definováním typu vzorku jako „Plasma“ (Plazma), „Serum“ (Sérum) nebo „Urine“ (Moč).
 - Objem vzorku 100 µl je testován definováním typu vzorku jako „Plasma2“ (Plazma 2) nebo „Serum2“ (Sérum 2).
 - Pokud to není v objednávce testu definováno, použijte se jako výchozí typ vzorku Plasma (Plazma) ve zkumavce Secondary Tube (Sekundární zkumavka).

2. Rozstříhnete hliníková pouzdra testovacích proužků NeuMoDx™ HAdV 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, je-li obal nepoškozen.
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 testovacím proužkem (proužky) NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip a k založení stojanu (stojanů) na testovací proužky do soustavy NeuMoDx™ System použijte dotykovou obrazovku.
7. Pokud vás software soustavy NeuMoDx™ System vyzve, přidejte do stojanu na spotřební materiál soustavy NeuMoDx™ System nezbytný spotřební materiál a k založení nosiče (nosičů) 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, vyprázdněte odpadní reagentie 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), případně koš na nebezpečný biologický odpad (pouze molekulární soustava NeuMoDx 96 Molecular System).
9. Pokud vás software soustavy NeuMoDx™ System vyzve, zpracujte dle nutnosti kalibrátory calibrators (REF 800801) a/nebo externí kontroly external controls (REF 900801). Další informace, týkající se kalibrátorů a kontrol, lze najít v části Zpracování výsledků.
10. Zkumavku (zkumavky) se vzorky/kalibrátory/kontrolami vložte do běžného 32místného stojanu na zkumavky a ujistěte se, že jsou ze všech zkumavek odstraněna víčka.
11. Nosič na zkumavky se vzorky umístěte do jakékoli otevřené pozice na přihrádce automatického podavače a k založení nosiče 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™ HAdV Quant Test Strip lze použít pouze na soustavách NeuMoDx™ System.
- Účinnost testovacího proužku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip byla stanovena pro vzorky plazmy a séra, připravenými z plně krve, odebranými do EDTA jako antikoagulantu, i pro vzorky moči; použití testovacího proužku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip nebylo u jiných typů klinických vzorků vyhodnoceno a výkonové charakteristiky tohoto testu jsou u jiných typů vzorků neznámé.
- Při použití pracovního postupu pro objem vzorku 100 µl bylo pozorováno malé zvýšení meze detekce a dolní meze stanovitelnosti analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay.
- Analýza NeuMoDx™ HAdV Quant Assay se nesmí používat se vzorky od osob užívajících heparin.
- Protože detekce AdV závisí na množství organismů přítomných ve vzorku, závisí spolehlivost výsledků na správném odběru vzorků, zacházení s nimi a jejich skladování.
- Kalibrátory a externí kontroly musí být zpracovány podle doporučení vložených do balení, a pokud zpracování běžných klinických vzorků předchází výzva softwaru soustavy NeuMoDx™ System.
- K chybným výsledkům testů může dojít kvůli nesprávnému odběru vzorků, zacházení s nimi, jejich nevhodnému skladování, technické chybě nebo nesprávné identifikaci zkumavek se vzorkem. Kromě toho by se mohly objevit falešně negativní výsledky kvůli tomu, že množství virových částic ve vzorku je pod mezí detekce analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay.
- Obsluha soustavy NeuMoDx™ System je omezena pouze na personál vyškolený v používání soustavy NeuMoDx™ System.
- Pokud se ani cílový AdV, ani cílová SPC1 neamplifikují, bude oznámen neplatný výsledek (Indeterminate (Neurčitý), No Result (Bez výsledku) nebo Unresolved (Nerozlišeno)) a test by měl být zopakován.
- Pokud je výsledek analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay Positive (Pozitivní), ale hodnota stanovitelnosti je mimo meze stanovitelnosti, soustava NeuMoDx™ System oznámí, zda byl detekovaný AdV pod dolní mezí stanovitelnosti (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) nebo nad horní mezí stanovitelnosti (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- V případě, že detekovaný AdV byl pod LLoQ, může být analýza NeuMoDx™ HAdV Quant Assay zopakována (podle přání) s jiným alikvotním podílem vzorku.
- V případě, že detekovaný AdV byl nad ULoQ, může být analýza NeuMoDx™ HAdV Quant Assay zopakována se zředěným alikvotním podílem původního vzorku. Doporučujeme ředění 1 : 1 000 v plazmě negativní na AdV nebo diluentu Basematrix 53 Diluent (Basematrix; SeraCare, Milford, MA). Koncentraci původního vzorku lze vypočítat takto:

$$\text{Původní koncentrace vzorku} = \log_{10} (\text{faktor ředění}) + \text{ohlášená koncentrace zředěného vzorku}.$$
- Důsledkem občasně přítomnosti PCR inhibitorů v plazmě/séru nebo moči může být chyba stanovitelnosti v soustavě; 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. Avšak pozitivní výsledek je pro přítomnost DNA viru AdV presumptivní.
- Delece nebo mutace v konzervovaných oblastech zacílených analýzou NeuMoDx™ HAdV Quant Assay může za použití testovacího proužku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip ovlivnit detekci nebo vést k chybnému výsledku.

- Výsledky z analýzy NeuMoDx™ HAdV 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 odtud vytisknout.

Výsledky analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay automaticky generuje software soustavy NeuMoDx™ System používající algoritmus rozhodování a parametry zpracování výsledků popsané v souboru definic analýzy NeuMoDx™ HAdV Assay Definition File (HAdV ADF). Výsledek analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay může být ohlášen jako Negative (Negativní), Positive (Pozitivní) s ohlášením koncentrace AdV, 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, shrnutého v *tabulce 1*.

Tabulka 1: Shrnutí rozhodovacího algoritmu pro analýzu NeuMoDx™ HAdV Quant Assay

Výsledek	AdV	Kontrola zpracování vzorků (Sample Process Control, SPC1)	Interpretace výsledků
Positive (Pozitivní) s ohlášenou koncentrací	Amplified (Amplifikováno) $2 \leq [ADV] \leq 8,0 \log_{10}$ kopií/ml (pracovní postup pro 550 µl)* $2,88 \leq [ADV] \leq 8,0 \log_{10}$ kopií/ml (pracovní postup pro 100 µl)*	Amplified (Amplifikováno) nebo Not Amplified (Není amplifikováno)	DNA viru HAdV detekována v kvantitativním rozmezí
Positive (Pozitivní), nad horní mezí stanovitelnosti [Upper Limit of Quantitation, ULoQ]	Amplified (Amplifikováno) [ADV] > 8,0 log ₁₀ kopií/ml	Amplified (Amplifikováno) nebo Not Amplified (Není amplifikováno)	DNA viru HAdV detekována nad kvantitativním rozmezím
Positive (Pozitivní), pod dolní mezí stanovitelnosti [Lower Limit of Quantitation, LLoQ]	Amplified (Amplifikováno) [ADV] < 2 log ₁₀ kopií/ml (pracovní postup pro 550 µl)* [ADV] < 2,88 log ₁₀ kopií/ml (pracovní postup pro 100 µl)*	Amplified (Amplifikováno) nebo Not Amplified (Není amplifikováno)	DNA viru HAdV detekována pod kvantitativním rozmezím
Negative (Negativní)	Not Amplified (Není amplifikováno)	Amplified (Amplifikováno)	DNA viru HAdV 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†

* Pracovní postup pro objem 550 µl se používá pro vzorky plazmy/séra a moči. Pracovní postup pro objem 100 µl se používá pouze pro vzorky plazmy/séra.

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

Výpočet testu

- U vzorků v mezích stanovitelnosti analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay se koncentrace DNA viru AdV ve vzorcích počítá za pomoci uložené standardní křivky ve spojení s koeficientem kalibrace a objemem vzorku.
 - Koeficient kalibrace se vypočítá na základě výsledků kalibrační soupravy NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit zpracované tak, aby byla stanovena validita standardní křivky pro konkrétní šarži testovacího proužku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip na konkrétní soustavě NeuMoDx™ System.
 - Koeficient kalibrace je zahrnut do konečného stanovení koncentrace DNA viru AdV.
 - Software NeuMoDx™ zohledňuje při stanovování koncentrace DNA viru AdV v jednom ml vzorku vstupní objem vzorku.

2. Výsledky analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay se udávají jako \log_{10} kopií/ml.
3. Výsledná kvantifikace neznámých vzorků je sledovatelná podle komerčního kvantifikovaného panelu pro ověřování adenovirů, vyjádřeného v kopiích/ml pomocí kapkové digitální PCR (ddPCR).

Kalibrace testu

Platná kalibrace na základě standardní křivky je pro kvantitativní vyjádření DNA viru AdV ve vzorcích nezbytná. Pro získání platných výsledků musí být kalibrace testu provedena za použití kalibrátorů dodaných společností NeuMoDx™ Molecular, Inc.

Kalibrátory

1. Kalibrátory NeuMoDx™ HAdV Calibrator jsou dodávány v soupravě (REF 800801) a jsou složeny ze sušené pelety ze syntetické DNA viru AdV.
2. Sada kalibrátorů pro AdV musí být zpracována s každou novou šarží testovacích proužků NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, nebo pokud je do soustavy NeuMoDx™ System nahrán nový soubor definic analýzy AdV 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 nebyly kalibrátory úspěšně zpracovány.
4. Pokud je třeba zpracovat novou sadu kalibrátorů pro AdV, před provedením testu si prostudujte všechny pokyny obsažené v příbalové informaci ke kalibrační soupravě NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit.
5. Validita kalibrace je zajištěna následovně:
 - a) Pro zajištění validity je třeba zpracovat sadu se dvěma kalibrátory – pro vysokou a nízkou hodnotu.
 - 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 \log_{10} kopií/ml a nominální cíl kalibrátoru pro vysokou hladinu je 5 \log_{10} kopií/ml.
 - c) Koeficient kalibrace se vypočítá tak, aby zohledňoval očekávanou variaci mezi šaržemi testovacích proužků; tento koeficient kalibrace se používá ke stanovení finální koncentrace AdV.
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.

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 pro HAdV poskytuje společnost NeuMoDx Molecular, Inc. v soupravě externích kontrol HAdV External Control Kit (REF 900801). Pozitivní kontroly obsahují sušenou peletu syntetické DNA viru AdV.
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 k provedení těchto kontrol dříve, 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 soupravě pro externí kontrolu NeuMoDx™ HAdV External Control Kit.
4. Za použití dotykové obrazovky a stojanu zkumavek se vzorkem umístěného na přihrádce automatického podavače vložte ampulky s pozitivní a negativní kontrolou do soustavy NeuMoDx™ System. Soustava NeuMoDx™ System rozpozná čárový kód a začne zpracovávat zkumavky se vzorkem, pokud jsou reagencie či spotřební materiál nezbytný k testování k dispozici.
5. Validita externích kontrol bude vyhodnocena soustavou NeuMoDx™ System na základě očekávaného výsledku. Pozitivní kontrola by měla přinést výsledek AdV Positive (Pozitivní) a negativní kontrola by měla přinést výsledek AdV Negative (Negativní).
6. S neshodným výsledkem externích kontrol by mělo být zacházeno následovně:
 - a) Výsledek testu Positive (Pozitivní), ohlášený u negativní kontroly vzorku, ukazuje na problém s kontaminací vzorku.
 - b) Výsledek testu Negative (Negativní) u pozitivního kontrolního vzorku může naznačovat problém související s reagií nebo přístrojem.
 - c) V každém výše uvedeném případě anebo v případě výsledku Indeterminate (IND; Neurčitý) či No Result (NR; Bez výsledku) externí kontrolu NeuMoDx™ HAdV External Control zopakujte s novými ampulkami kontroly/kontrol, které testem validity neprošly.
 - d) Pokud pozitivní externí kontrola NeuMoDx™ HAdV External Control nepřestává hlásit výsledek Negative (Negativní), kontaktujte zákaznický servis společnosti NeuMoDx™.
 - e) Pokud negativní externí kontrola NeuMoDx™ HAdV External Control nepřestává hlásit výsledek Positive (Pozitivní), pokuste se eliminovat všechny zdroje možné kontaminace, včetně výměny VŠECH reagií, dříve než kontaktujete zákaznický servis společnosti NeuMoDx™.

Kontroly (interní) zpracování vzorků

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

Neplatné výsledky

Pokud se analýze NeuMoDx™ HAdV 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).

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

Pokud nebude detekována žádná validní amplifikace DNA AdV nebo SPC1, bude oznámen výsledek UNR (Nevyřešený), který ukazuje na možné selhání reagentie nebo na přítomnost inhibitorů. V případě oznámení výsledku UNR (Nevyřešený) můžete jako první krok test opakovat. Pokud opakovaný test není úspěšný, lze použít zředěný vzorek pro snížení účinků jakékoli inhibice vzorku.

Pokud analýza NeuMoDx™ HAdV Quant Assay provedená na soustavě NeuMoDx System nedokáže přinést platný výsledek a zpracování vzorku se před dokončením přeruší, bude ohlášen výsledek No Result (NR; Bez výsledku). V případě ohlášení výsledku NR doporučujeme test zopakovat.

VÝKONOVÁ CHARAKTERISTIKA

Analytická citlivost – mez detekce¹²

Analytická citlivost analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay byla charakterizována testováním série ředění ověřovacího panelu EDX HAdV (Exact Diagnostics) ve vzorcích plazmy/séra a moči negativních na AdV s cílem stanovit mez detekce (Limit of Detection; LoD) na soustavách NeuMoDx System. Pro plazmu/sérum (550 µl) a moč byla LoD definována jako experimentálně stanovená nejbližší hladina cíle nad koncentrací stanovenou probitovou analýzou s 95% intervalem spolehlivosti (Confidence Interval; CI). Pro plazmu/sérum (100 µl) byla pomocí analýzy míry shody zkoumána koncentrace jednoho vzorku 750 kopií/ml a byla validována pro LoD, pokud byla míra detekce vyšší než 95%. Měření bylo prováděno po dobu 3 dnů napříč několika soustavami s několika šaržemi reagentie NeuMoDx™. Denně bylo pro každou hladinu ředění zpracováno 42 replikátů (pozitivní vzorky) a 8 replikátů pro negativní vzorky. Míry detekce jsou uvedeny v *tabulce 2 a 3*.

Tabulka 2: Míry pozitivní detekce pro stanovení LoD analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay (plazma/sérum 550 µl a moč).

Cílová koncentrace [kopie/ml]	Cílový koncentrace [\log_{10} kopií/ml]	PLAZMA/SÉRUM, pracovní postup pro objem 550 µl			MOČ		
		Počet platných testů	Počet pozitivních vzorků	Míra detekce	Počet platných testů	Počet pozitivních vzorků	Míra detekce
200	2,30	42	42	100 %	42	42	100 %
100	2,00	42	41	97,62 %	42	41	97,62 %
70	1,85	42	39	92,86 %	42	29	69,05 %
50	1,48	42	20	47,62 %	42	14	33,33 %
NEG	0,00	24	0	0 %	24	0	0 %

Tabulka 3: Míry pozitivní detekce pro stanovení LoD analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay (plazma/sérum 100 µl).

Cílová koncentrace [kopie/ml]	Cílový koncentrace [\log_{10} kopií/ml]	PLAZMA/SÉRUM, pracovní postup pro objem 100 µl		
		Počet platných testů	Počet pozitivních vzorků	Míra detekce
750	2,88	89	87	97,75 %

LoD analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay v plazmě/séru (pracovní postup pro objem 550 µl) byla stanovena na 100 kopií/ml ($2 \log_{10}$ kopií/ml) s 95% intervalem spolehlivosti (Confidence Interval; CI) 82,85 kopií/ml; v moči byla LoD stanovena na 100 kopií/ml ($2 \log_{10}$ kopií/ml) s 95% intervalem spolehlivosti (Confidence Interval; CI) 98,27 kopií/ml; v plazmě/séru (pracovní postup pro objem 100 µl) byla LoD stanovena na 750 kopií/ml ($2,88 \log_{10}$ kopií/ml).

Analytická citlivost – dolní mez stanovitelnosti (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) a horní mez stanovitelnosti (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)¹¹

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 $\leq 1,0$. Za účelem stanovení LLoQ a ULoQ byla pro každou z cílových hladin AdV, které vykazovaly detekci > 95 %, spočítána celková analytická chyba (Total Analytical Error, TAE). TAE je stanovena následovně:

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

Odchylka je druhá odmocnina ze součtu směrodatné odchylky a součtu odchylek, obojí umocněné na druhou.

Zpracované výsledky pro 5 hladin vzorků plazmy/séra nebo moči s HAdV, použitých při měření LLoQ/ULoQ naleznete v tabulce 4 a 5. Na základě tohoto souboru dat a dříve stanovené LoD byla pro plazmu/sérum a pracovní postup pro objem vzorku 550 µl a pro moč stanovena LLoQ 100 kopií/ml ($2 \log_{10}$ kopií/ml) a ULoQ 8 kopií/ml; pro plazmu/sérum a pracovní postup pro objem vzorku 100 µl byla stanovena hodnota 750 kopií/ml ($2,88 \log_{10}$ kopií/ml).

Tabulka 4: ULoQ a LLoQ pro testovací proužek NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, s odchylkou a TAE (plazma/sérum, 550 µl, a moč)

Cílová konc. [kopie/ml]	Cílová konc. [log ₁₀ kopii/ml]	Plazma/sérum, 550 µl					Moč				
		Průměrná konc. [log ₁₀ kopii/ml]	Detekce (%)	SD	Odc hylk a	TAE	Průměrná konc. [log ₁₀ kopii/ml]	Detekce (%)	SD	Odc hylk a	TAE
3,23 × 10 ⁸	8,5	9,11	100	0,16	0,61	0,93	8,98	100	0,20	0,48	0,89
200	2,30	2,46	100	0,15	0,16	0,46	2,47	100	0,22	0,17	0,61
100	2,00	2,23	97,62	0,26	0,23	0,75	2,34	97,62	0,21	0,34	0,75
70	1,85	2,13	92,86	0,31	0,28	0,91	2,32	69,05	0,33	0,47	1,14
30	1,48	2,08	47,62	0,22	0,61	1,04	2,05	33,33	0,26	0,58	1,10

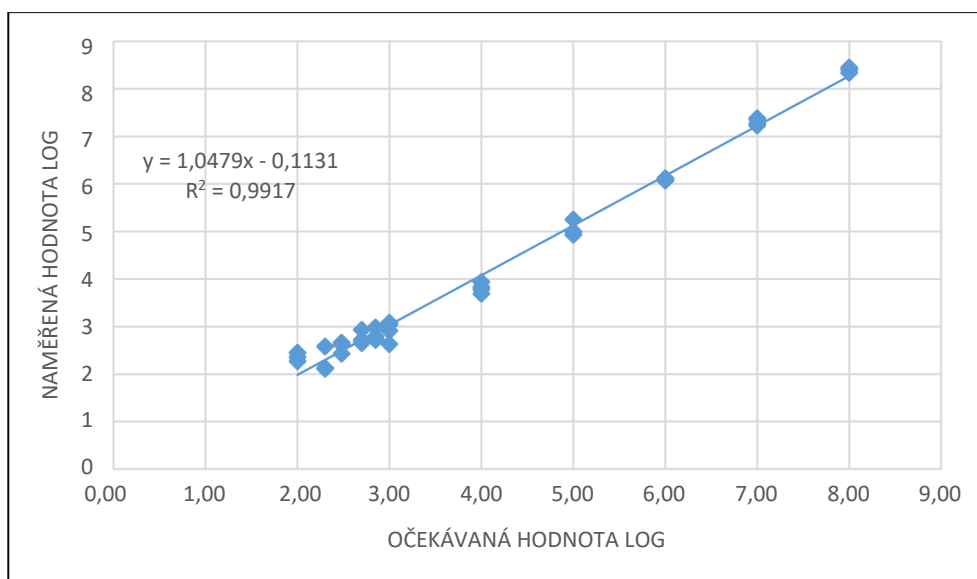
Tabulka 5: ULoQ a LLoQ pro testovací proužek NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, s odchylkou a TAE (plazma/sérum, 100 µl)

Cílová konc. [kopie/ml]	Cílová konc. [log ₁₀ kopii/ml]	Plazma/sérum, 100 µl				
		Průměrná konc. [log ₁₀ kopii/ml]	Detekce (%)	SD	Odchylka	TAE
3,23 × 10 ⁸	8,5	8,81	100	0,20	0,62	0,72
750	2,88	2,96	97,75	0,30	0,08	0,69

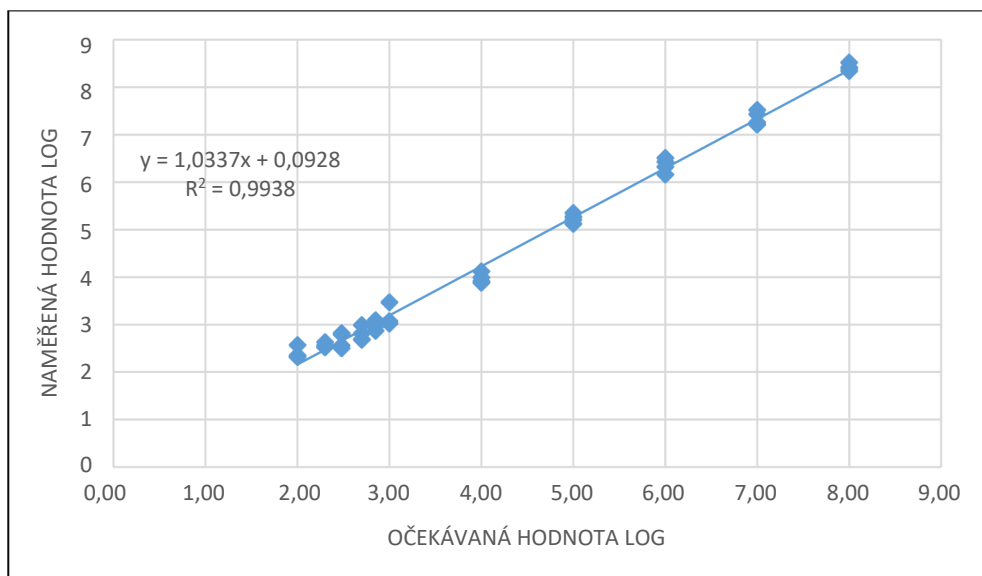
Na základě výsledku těchto studií byly obě hodnoty LoD a LLoQ analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay stanoveny jako 100 kopii/ml (2 log₁₀ kopii/ml) pro plazmu/sérum a moč s pracovním postupem pro objem vzorku 550 µl a jako 750 kopii/ml (2,88 log₁₀ kopii/ml) pro plazmu/sérum při použití pracovního postupu pro objem vzorku 100 µl. ULoQ je pro všechny typy vzorků 3,23 × 10⁸ kopii/ml (zde omezeno na 8 log₁₀ kopii/ml).

Linearita¹²

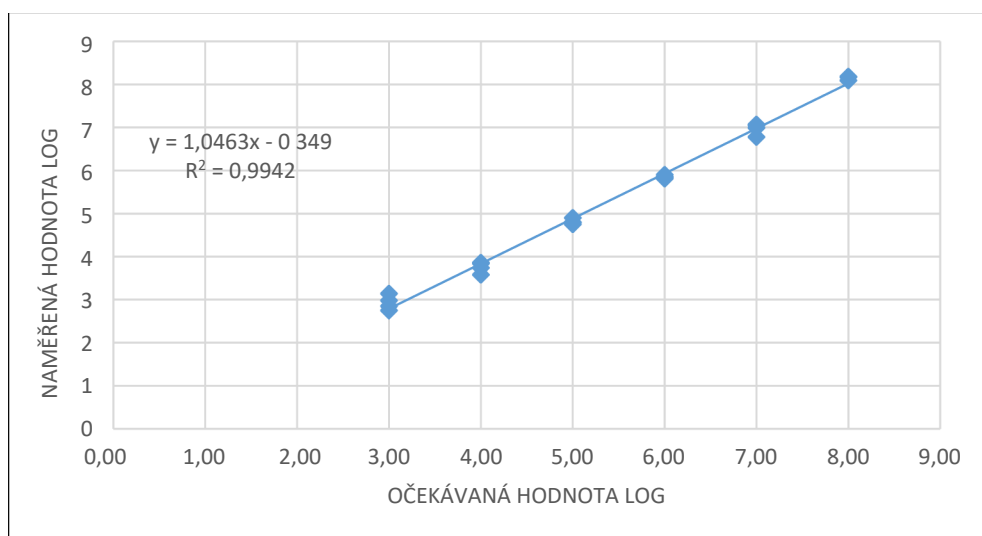
Linearita analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay byla stanovena v plazmě/séru a moči přípravou série ředění s použitím 11 sériových ředění syntetického plazmidu AdV (Integrated DNA Technologies), připraveného v diluentu Basematrix 53 negativním na HAdV nebo ve směsné lidské moči negativní na HAdV, zahrnující koncentrační rozsah 8–2 log₁₀ kopii/ml pro plazmu/sérum, pracovní postup pro objem vzorku 550 µl, a moč. Bylo připraveno šest sériových ředění syntetického plazmidu HAdV s rozsahem koncentrací 8–3 log₁₀ kopii/ml pro plazmu/sérum (100 µl). Koncentrace analýzy HAdV ohlášené soustavou NeuMoDx™ System ve srovnání s očekávanými hodnotami jsou uvedeny na *obrázcích 2, 3 a 4*.



Obrázek 2: Linearita analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay pro plazmu/sérum (pracovní postup pro objem vzorku 550 µl)



Obrázek 3: Linearita testovacího proužku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip pro vzorky moči



Obrázek 4: Linearita testovacího proužku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip pro plazmu/sérum (pracovní postup pro objem vzorku 100 µl)

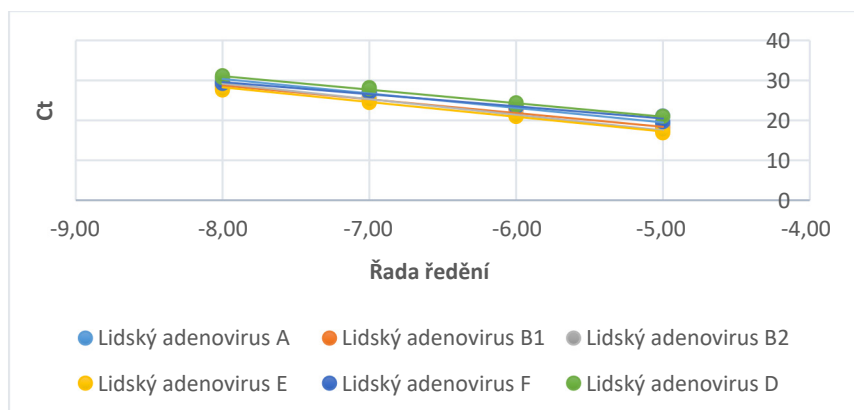
Linearita napříč genotypy¹²

Linearita analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay pro sedm genotypů HAdV (lidský adenovirus A, lidský adenovirus B1, lidský adenovirus B2, lidský adenovirus C, lidský adenovirus D, lidský adenovirus E a lidský adenovirus F) byla charakterizována testováním pěti různých koncentrací každého genotypu AdV připraveného v diluentu Basematrix 53 negativním na AdV. Genotyp lidského adenovirus C nepředstavuje polymorfismy v cílové oblasti genu pokryté testovacím proužkem NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip.

Měření proběhlo u každého ze 6 genotypů při 5 koncentracích za použití 2 replikátů (řada 10násobného ředění). Linearita napříč šesti genotypy viru AdV je znázorněna v tabulce 6 a na obrázku 5.

Tabulka 6: Linearita testovacího proužku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip napříč genotypy

Genotyp	Rovnice linearity y = NeuMoDx HAdV Assay Ct x = řada ředění	R ²
Referenční sekvence	y = -3,529x - 0,7881	0,99
HAdV A	y = -3,626x + 1,348	0,99
HAdV B1	y = -3,449x + 1,1285	0,97
HAdV B2	y = -3,911x - 2,079	0,99
HAdV D	y = -3,384x + 3,9873	0,99
HAdV E	y = -3,687x - 1,2335	0,99
HAdV F	y = -3,036x + 5,28965	0,98



Obrázek 5: Linearita testovacího proužku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip napříč genotypy

Analytická specifičnost – zkřížená reaktivita^{9,10}

Analytická specifičnost byla prokázána screeningem zkřížené reaktivity 23 organismů, které se ve vzorcích plazmy/séra nebo moči běžně nacházejí, a také druhů, které se AdV fylogeneticky podobají. Organismy byly připraveny ve směsích skládajících se z 5/6 organismů testovaných při vysoké koncentraci. Testované organismy jsou uvedeny v tabulce 7. Pomocí přístupu *in silico* byly analyzovány dva organismy (E. coli a HCV). U žádného z testovaných organismů nebyla pozorována žádná zkřížená reaktivita, což potvrzuje 100% analytickou specifičnost analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay.

Tabulka 7: Patogeny použité k prokázání analytické specifičnosti

Necílové organismy					
HTLV-1/2	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Virus hepatitidy B	BK virus	Virus Epstein-Barrové	Varicella zoster virus
<i>Cytomegalovirus</i>	Virus hepatitidy C	Herpes simplex virus 1	Herpes simplex virus 2	Lidský herpesvirus 6	Lidský herpesvirus 7
Lidský herpesvirus 8	Virus lidské imunitní nedostatečnosti – 1	Virus lidské imunitní nedostatečnosti – 2	JC virus	SV40	

Analytická specifčnost – interferující látky, komezálóvé^{9,10}

Interference u analýzy NeuMoDx™ HAdV 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 7*. Plazma negativní na HAdV byla obohacena o organismy smíšené do skupin po 5/6 a při koncentraci 2,5 log₁₀ kopií/ml takto obohacena o cílový virus HAdV. Jak naznačila minimální odchylka stanovitelnosti z kontrolních vzorků, které neobsahovaly žádný interferující přípravek, nebyla za přítomnosti těchto komezálů pozorována žádná významná interference.

Analytická specifčnost – interferující látky, endogenní a exogenní látky^{9,10}

Analýza NeuMoDx™ HAdV Quant Assay byla hodnocena za přítomnosti typických exogenních a endogenních interferujících látek, které se v klinických HAdV vzorcích plazmy/séra či moči objevily. Mezi tyto látky patřily neobvykle vysoké hladiny složek v krvi nebo moči a také běžné antivirové léky, které byly zařazeny do *tabulky 8*. Každá látka byla přidána k vyšetřenému diluentu Basematrix 53 nebo lidské moči, negativní na HAdV, obohacenému o 2,5 log₁₀ kopií/ml HAdV a u vzorků byla analyzována interference.

Průměrná koncentrace a odchylka u všech testovaných látek ve srovnání s kontrolními vzorky uměle obohacenými o stejnou hladinu HAdV jsou uvedeny v *tabulce 9*. Žádná z exogenních a endogenních látek specifčnost analýzy NeuMoDx™ HAdV Quant Assay neovlivnila.

Tabulka 8: 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 9: Testování interference – exogenní a endogenní přípravky

Endogenní (plazma/sérum)	Průměrná konc.	Odchylka (absolutní)
	log ₁₀ kopií/ml	log ₁₀ kopií/ml
Triglyceridy 500 mg/dl	2,03	0,46
Konjugovaný bilirubin (0,25 g/l)	2,21	0,28
Nekonjugovaný bilirubin (0,25 g/l)	2,71	0,22
Albumin (58,7 g/l)	2,74	0,25
Hemoglobin (2,9 g/l)	2,67	0,18
Endogenní (moč)	Průměrná konc.	Odchylka (absolutní)
	log ₁₀ kopií/ml	log ₁₀ kopií/ml
Urobilirubin (> 2 mg/dl)	2,65	0,30
Glukóza (1 000 mg/dl)	3,17	0,28
Moč, pH 4	2,67	0,22
Moč, pH 10	2,78	0,11
Leukocyty (1E6 buněk/ml)	2,72	0,22
Krev, 5%	2,62	0,29
Protein (albumin > 100 mg/dl)	3,07	0,18
Mastkový prášek	2,89	0,00
Exogenní (přípravky)	Průměrná konc.	Odchylka (absolutní)
	log ₁₀ kopií/ml	log ₁₀ kopií/ml
Směs 1: Valganciclovir, Prednison, Cidofovir, Cefotaxim, Mycophenolate mofetil	2,83	0,08
Směs 2: Vankomycin, Takrolimus, Famotidin, Valaciclovir, Leflunomid	2,52	0,23

Opakovatelnost a vnitřní laboratorní preciznost¹³

Preciznost testovacího proužku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip byla stanovena testováním 2 replikátů 5prvkového panelu se vzorky AdV, připravovanými s plazmidem HAdV dvakrát denně, za použití jedné soustavy NeuMoDx™ 96 System po dobu 20 dnů. Preciznost byla charakterizována v rámci jednoho cyklu, mezi různými cykly, v rámci jednoho dne a mezi různými dny; (celková) směrodatná odchylka v rámci laboratoře byla stanovena jako $\leq 0,30$ log₁₀ kopií/ml. Napříč dny nebo cykly byla prokázána vynikající preciznost, jak je uvedeno v *tabulce 10*. Preciznost mezi operátory charakterizována nebyla, jelikož obsluha při zpracování vzorků za použití soustavy NeuMoDx™ System nehráje žádnou významnou roli.

Tabulka 10: Vnitřní laboratorní preciznost – analýza NeuMoDx™ HAdV Quant Assay na soustavách NeuMoDx™ System

Vzorek	SD v rámci dne (log ₁₀ kopií/ml)	SD mezi různými dny (log ₁₀ kopií/ml)	SD v rámci cyklu (log ₁₀ kopií/ml)	SD mezi různými cykly (log ₁₀ kopií/ml)	Celková SD (v rámci laboratoře) (log ₁₀ kopií/ml)
Vzorek plazmy/séra (550 µl)					
5,51 log ₁₀ kopií/ml	0,15	0,13	0,15	0,01	0,19
4,51 log ₁₀ kopií/ml	0,17	0,10	0,17	0,05	0,20
3,51 log ₁₀ kopií/ml	0,18	0,00	0,12	0,14	0,19
2,51 log ₁₀ kopií/ml	0,16	0,07	0,15	0,03	0,17
0 log ₁₀ kopií/ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Vzorek moči (550 µl)					
5,51 log ₁₀ kopií/ml	0,19	0,14	0,16	0,1	0,23
4,51 log ₁₀ kopií/ml	0,17	0,09	0,11	0,13	0,18
3,51 log ₁₀ kopií/ml	0,16	0,11	0,16	0,00	0,20
2,51 log ₁₀ kopií/ml	0,17	0,09	0,14	0,10	0,19
0 log ₁₀ kopií/ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Reprodukovatelnost mezi šaržemi¹³

Reprodukovatelnost mezi šaržemi byla u testovacího proužku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip stanovena za použití tří různých šarží proužků NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip. K hodnocení výkonu na jedné molekulární soustavě NeuMoDx™ 96 Molecular System ve 3 samostatných cyklech byl použit Sprvkový panel HAdV připravený s plazmidem HAdV. Byla analyzována odchylka v rámci šarže i mezi různými šaržemi a výsledky byly vyjádřeny jako absolutní odchylka kvantifikace mezi šaržemi; výsledky jsou uvedeny v *tabulce 11*. Maximální celková odchylka byla 0,39 log₁₀ kopií/ml. Ekvivalentní účinnost byla prokázána napříč šaržemi, jelikož stanovitelnost všech prvků panelu byla v mezích stanovené tolerance.

Tabulka 11: Reprodukovatelnost mezi šaržemi – analýza NeuMoDx™ HAdV Quant Assay

Vzorek	Absolutní odchylka mezi šarží 1 a šarží 2 (log ₁₀ kopií/ml)	Absolutní odchylka mezi šarží 1 a šarží 3 (log ₁₀ kopií/ml)	Absolutní odchylka mezi šarží 2 a šarží 3 (log ₁₀ kopií/ml)
Vzorek plazmy/séra (550 µl)			
5,51 log ₁₀ kopií/ml	0,26	0,28	0,02
4,51 log ₁₀ kopií/ml	0,00	0,17	0,17
3,51 log ₁₀ kopií/ml	0,27	0,17	0,10
2,51 log ₁₀ kopií/ml	0,39	0,08	0,31
0 log ₁₀ kopií/ml	0,00	0,00	0,00
Vzorek moči (550 µl)			
5,51 log ₁₀ kopií/ml	0,27	0,12	0,39
4,51 log ₁₀ kopií/ml	0,23	0,17	0,06
3,51 log ₁₀ kopií/ml	0,22	0,06	0,16
2,51 log ₁₀ kopií/ml	0,22	0,09	0,13
0 log ₁₀ kopií/ml	0,00	0,00	0,00

Reprodukovatelnost mezi přístroji¹³

Reprodukovatelnost testovacího proužku NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip mezi přístroji byla stanovena pomocí tří různých soustav (dvě molekulární soustavy NeuMoDx™ 288 Molecular System a jedna molekulární soustava NeuMoDx™ 96 Molecular System). K hodnocení účinnosti byl použit Sprvkový panel HAdV připravený s plazmidem HAdV. Testování bylo prováděno na soustavách paralelně 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 (*Table 12*).

Tabulka 12: Reprodukovatelnost mezi přístroji – testovací proužek NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip

Vzorek	SD v rámci dne (log ₁₀ kopií/ml)	SD mezi různými dny (log ₁₀ kopií/ml)	SD v rámci soustavy (log ₁₀ kopií/ml)	Mezi různými soustavami (log ₁₀ kopií/ml)	SD reprodukovatelnosti (log ₁₀ kopií/ml)
Vzorek plazmy/séra (550 µl)					
5,51 log ₁₀ kopií/ml	0,13	0,04	0,14	0,05	0,14
4,51 log ₁₀ kopií/ml	0,12	0,00	0,14	0,04	0,15
3,51 log ₁₀ kopií/ml	0,14	0,00	0,14	0,10	0,17
2,51 log ₁₀ kopií/ml	0,18	0,00	0,18	0,08	0,19
0 log ₁₀ kopií/ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Vzorek moči (550 µl)					
5,51 log ₁₀ kopií/ml	0,12	0,03	0,12	0,07	0,14
4,51 log ₁₀ kopií/ml	0,10	0,06	0,12	0,04	0,12
3,51 log ₁₀ kopií/ml	0,14	0,04	0,15	0,03	0,15
2,51 log ₁₀ kopií/ml	0,18	0,00	0,18	0,06	0,19
0 log ₁₀ kopií/ml	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

REFERENCE

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

OCHRANÉ ZNÁMKY















NeuMoDx™ je ochranná známka společnosti NeuMoDx Molecular, Inc.

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

STAT-NAT® je registrovaná ochranná značka společnosti SENTINEL CH. S.p.A.

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)
techsupport@neumodx.com

Vigilanční hlášení: www.neumodx.com/contact-us

Patent: www.neumodx.com/patents