



200700 NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip

ВНИМАНИЕ: Само за износ в САЩ



За *инвитро* диагностика с NeuMoDx™ 288 и NeuMoDx™ 96 Molecular Systems

Тази листовка в опаковката трябва да бъде прочетена внимателно преди употреба на продукта. Листовката в опаковката съдържа инструкции, които трябва стриктно да се спазват.



При отклонения от инструкциите в тази листовка, надеждността на резултатите от анализа не може да бъде гарантирана.

Подробни указания ще намерите в Ръководството за оператора на NeuMoDx™ 288 Molecular System; ном. № 40600108

Подробни указания ще намерите в Ръководството за оператора на NeuMoDx™ 96 Molecular System; ном. № 40600317



ПРЕДВИДЕНА УПОТРЕБА

NeuMoDx™ HAdV Quant Assay представлява автоматизиран, *инвитро* тест за амплификация на нуклеинови киселини за идентификация и количествено определяне на ДНК на човешки аденовирус (Adenovirus, AdV) в аликвотни части, извлечени от човешка плазма/серум и урина. NeuMoDx™ HAdV Quant Assay се изпълнява на NeuMoDx™ 288 Molecular System и NeuMoDx™ 96 Molecular System (NeuMoDx™ System(s)) и включва автоматизирано извличане на ДНК за изолиране на прицелната нуклеинова киселина от пробата и полимеразна верижна реакция (Polymerase Chain Reaction, PCR) в реално време с прицелване към секвенции в генома на AdV.

NeuMoDx™ HAdV Quant Assay е предназначен да служи като помощно средство за диагностика и проследяване на AdV инфекция заедно с други клинични и лабораторни находки.

РЕЗЮМЕ И ОПИСАНИЕ

Човешка цяла кръв, взета в стерилни епруветки за взимане на кръв, които съдържат EDTA като антикоагулант или в епруветки за подготовка на плазма (Plasma Preparation Tubes, PPT), може да се използва за подготовката на плазма, докато серумът трябва да се взема в епруветки за взимане на серум или епруветки със серумен сепаратор (Serum Separation Tubes, SST). За тестване на проба от урина се взема аликвотна част от урина в стандартна чашка за взимане на урина без консерванти или добавки. При подготовката за тестването, за започване на автоматизирано тестване, плазма/серум или урина, в първична или вторична епруветка за проби, съвместима с NeuMoDx™ System, се зареждат в NeuMoDx™ System като се използва определен за целта носач за епруветки с проби.

За проби от плазма/серум, 550 µL аликвотна част от пробата се смесва с NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 от апарата, или като алтернатива 100 µL аликвотна част от пробата плазма/серум се смесват с NeuMoDx™ Lysis Buffer 5. За аликвотни части от урина, 550 µL аликвотна част се смесва с NeuMoDx™ Lysis Buffer 2 от апарата.

NeuMoDx™ System автоматично извършва всички необходими стъпки за извличането на прицелната нуклеинова киселина, подготовката на изолираната ДНК за амплификация с PCR в реално време и ако е налице, амплифицирането и откриването на продуктите на амплификацията. NeuMoDx™ HAdV Quant Assay включва контрол за обработка на ДНК аликвотни части (Sample Process Control, SPC1), който помага при следенето за наличието на потенциално инхибиторни вещества и проблеми в NeuMoDx™ System или реактивите, евентуално възникнали по време на процедурата за извличане и амплификация.

Аденовирусите (Adenoviruses, AdVs) са вируси без обвивка, с двойноверижна ДНК, които принадлежат към род Mastadenovirus, семейство *Adenoviridae* и се свързват с широк спектър от клинични синдроми при хората. Човешките аденовируси (Human Adenovirus, HAdV) и техните генотипове са познати и класифицирани в седем вида (A-G).¹ Благодарение на генетичната им хетерогенност тропизмът на видовете HAdV е особено разнообразен, което води до инфекции на най-различни органи и тъкани. AdVs могат да причиняват епидемии от фебрилно респираторно заболяване, фарингоконюнктивална треска, кератоконюнктивит или гастроентерит и диарийно заболяване.¹ Инфекциите могат да бъдат причинени от контакт с инфектирани лица (инхалация на аерозолни капчици, конюнктивална инокулация, по фекално-орален път), прием от екзогенни източници (напр. възглавници, спално бельо, шкафчета, оръжия) или реактивация. Инкубационният период е между 2 и 14 дни. Латентен AdV може да пребивава в лимфоидната тъкан, бъбречния паренхим или други тъкани в продължение на години; реактивацията може да настъпи в силно имunosупресирани пациенти.¹

Важността на правилното диагностично проследяване на HAdV е подчертана от факта, че заболяемостта и смъртността при имунокомпрометирани пациенти с инвазивни инфекции могат да бъдат много високи както при деца, така и при възрастни.² Количествените измервания на вирусното натоварване могат да допринесат за диагностицирането на инфекция и да действат като заместител, който корелира с клиничния отговор на лечение. PCR може да бъде ефективна скринингова модалност за идентифицирането на асимптоматични пациенти в риск от прогресивно заболяване, обвързано с аденовирус.²

ПРИНЦИПИ НА ПРОЦЕДУРАТА

За извършване на анализ NeuMoDx™ HAdV Quant Assay на система NeuMoDx™ System се използват NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit, NeuMoDx™ HAdV External Control Kit, NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, NeuMoDx™ Lysis Buffer 2, NeuMoDx™ Lysis Buffer 5 и NeuMoDx™ реактиви за обща употреба. Температурата на съхранение на реактивите е +15 °C/+30 °C.

Анализът NeuMoDx™ HAdV Quant Assay съчетава автоматизирано извличане, амплификация и откриване на ДНК с PCR в реално време. Проба от плазма/серум или урина в първична или вторична епруветка за проби, съвместима с NeuMoDx™ System, се поставя в носач за епруветки с проби, който след това се зарежда на NeuMoDx™ System за обработка. Друга намеса на оператора не е необходима.

NeuMoDx™ Systems използва комбинация от топлина, литичен ензим и реактиви за извличане, за да извършва автоматично лизиране на клетки, извличане на ДНК и отстраняване на инхибитори. Отделените нуклеинови киселини се улавят от парамагнитни частици. Частиците със свързаните нуклеинови киселини, се зареждат в NeuMoDx™ Cartridge, където несвързаните, несъдържащи ДНК компоненти допълнително се отмиват с NeuMoDx™ Wash Reagent, а свързаната ДНК се елуира с NeuMoDx™ Release Reagent. След това NeuMoDx™ Systems използва елуираната ДНК, за да рехидратира Sentinel CH. патентовани лиофилизирани реактиви за амплификация (технология STAT-NAT®), съдържащи всички елементи, необходими за амплификация с PCR на прицелните AdV-специфични нуклеинови киселини и тези за SPC1. След разтваряне на лиофилизирани реактиви за PCR NeuMoDx™ System накапва подготвената смес за PCR в NeuMoDx™ Cartridge. Амплификацията и откриването на контролната и прицелната секвенци от ДНК (ако има) се извършват в камерата за PCR на NeuMoDx™ Cartridge. NeuMoDx™ Cartridge е проектирана да задържа ампликона след PCR в реално време, с което на практика елиминира риска от контаминация след амплификацията.

Амплифицираните прицелни нуклеинови киселини се откриват в реално време посредством химични процеси с хидролизираща сонда (известна като TaqMan®) с флуорогенни молекули от олигонуклеотидната сонда, специфични за ампликоните на съответните им прицелни нуклеинови киселини. Сондите TaqMan се състоят от флуорофор, ковалентно свързан с край 5' на олигонуклеотидната сонда, и гасител в край 3'. Докато сондата е цяла, флуорофорът и гасителят са близо един до друг, при което молекулата на гасителя гаси флуоресценцията, излъчвана от флуорофора чрез резонансно предаване на енергия на Фьорстер (Förster Resonance Energy Transfer, FRET). Сондите TaqMan са конструирани, така че да хибридизират в определен участък от ДНК, амплифициран със специфичен набор от праймери. Докато Taq ДНК полимеразата изтегля праймера и синтезира новата верига, действието на екзонуклеазата от край 5' до край 3' на Taq ДНК полимеразата разгражда хибридизираната към образа сонда. Разграждането на сондата отделя флуорофора и го отдалечава от гасителя, при което се преодолява гасящото действие поради FRET и се създава възможност за откриване на флуоресценцията на флуорофора. Полученият флуоресцентен сигнал, засечен от NeuMoDx™ System при количествената PCR чрез апарата за циклична топлинна обработка, е право пропорционален на отделения флуорофор и е в корелация с наличното количество прицелна ДНК.³

За откриване на ДНК на AdV и ДНК на SPC1 се използват сонди TaqMan®, белязани с флуорофори в край 5' и гасител в край 3'. Софтуерът на NeuMoDx™ System следи флуоресцентния сигнал, излъчван от сондите TaqMan в края на всеки амплификационен цикъл. След приключване на амплификацията, софтуерът на NeuMoDx™ System анализира данните и съобщава окончателен резултат (POSITIVE (ПОЛОЖИТЕЛЕН)/ NEGATIVE (ОТРИЦАТЕЛЕН)/ INDETERMINATE (НЕОПРЕДЕЛЕН)/ UNRESOLVED (НЕПОЛУЧЕН)/NO RESULT (НЯМА РЕЗУЛТАТ)). Ако резултатът е положителен и изчислената концентрация е в границите на количественото определяне, софтуерът на NeuMoDx™ System дава също така количествена стойност за аликвотната част.

РЕАКТИВИ/КОНСУМАТИВИ

Доставени материали

№	Съдържание	Брой тестове на единица	Брой тестове на опаковка
200700	NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip <i>Леофилизирани реактиви за PCR, съдържащи AdV-специфични сонди TaqMan® и праймери и SPC1-специфични сонда TaqMan® и праймери.</i>	16	96

Реактиви и консумативи необходими, но непредоставени материали (предлагат се отделно от NeuMoDx)

№	Съдържание
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Сухи парамагнитни частици, литичен ензим и контроли за обработка на аликвотни части</i>
800801	NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit <i>Набори за еднократна употреба от високи и ниски сухи калибратори за HAdV за установяване на валидността на стандартната крива</i>
900801	NeuMoDx™ HAdV External Control Kit <i>Набори за еднократна употреба от положителни и отрицателни сухи контроли HAdV за всекидневно установяване на валидността на 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	Hamilton CO-RE връхчета (300 µL) с филтри
235905	Hamilton CO-RE връхчета (1000 µL) с филтри

Необходима апаратура

NeuMoDx™ 288 Molecular System [№ 500100] или NeuMoDx™ 96 Molecular System [№ 500200]

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

- NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip е само за инвитро диагностика с NeuMoDx™ Systems.
- Преди да извършите теста, прочетете всички инструкции, съдържащи се в комплекта.
- Не използвайте реактивите и консумативите след посочения срок на годност.
- Не използвайте реактиви, ако са разпечатани или опаковката им е повредена при получаването.
- Не използвайте консумативи или реактиви, ако защитната торбичка е отворена или повредена при доставката им.
- Не смесвайте реактиви за амплификация от други набори, предлагани в търговската мрежа.
- Съхранявайте всички NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strips защитени от светлина и влага в техните алуминиеви пликове.
- Преди да могат да се генерират резултати от тестовете за клинични аликвотни части, трябва да е извършена валидна калибрация на теста (генерирана от обработка на високи и ниски калибратори от NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit № 800801).
- По време на тестване с NeuMoDx™ HAdV Quant Assay, на всеки 24 часа трябва да се обработва NeuMoDx™ HAdV External Control Kit (№ 900801).
- Минималният обем от пробата зависи от размера на епруветката, носача за епруветки с проби и процедурата за обработка на обема от пробата в mL, както е описано по-долу. Обем, по-малък от посочения минимум, може да доведе до грешка „Quantity Not Sufficient“ (Недостатъчно количество).
- Извършването на анализ за AdV на проби, съхранявани при неподходящи температури или след указаните срокове за съхранение, може да доведе до невалидни или грешни резултати при използване на NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip.
- Контаминация с микроорганизми и дезоксирибонуклеаза (Deoxyribonuclease, ДНКаза) на всички реактиви и консумативи трябва да се предотвратява. Ако се използват вторични епруветки за проби, се препоръчва да се ползват стерилни преносни пипети, несъдържащи дезоксирибонуклеаза (ДНКаза). За всяка проба използвайте нова пипета.
- За да предотвратите контаминация, не боравете и не разкъсвайте някоя от NeuMoDx™ Cartridge след амплификацията. В никакъв случай не изваждайте касети NeuMoDx™ Cartridges от съда за биорискови отпадъци (NeuMoDx™ 288 Molecular System) или от кошчето за биорискови отпадъци (NeuMoDx™ 96 Molecular System). NeuMoDx™ Cartridge е конструирана за предотвратяване на контаминация.
- В лабораториите, в които се извършват и тестове с PCR с отворени епруветки, трябва да се вземат мерки NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, допълнителните консумативи и реактиви, необходими за тестването, личните предпазни средства като ръкавиците и лабораторните престилки и NeuMoDx™ System да не се замърсяват.
- При работа с реактиви и консумативи NeuMoDx™ трябва да се носят чисти ръкавици от нитрилен каучук, без талк. Трябва да се вземат мерки да не се докосва горната повърхност на NeuMoDx™ Cartridge, повърхността на запечатващото фолио на NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip или NeuMoDx™ Extraction Plate, или горната повърхност на контейнери 1, 2 и 5 с NeuMoDx™ Lysis Buffer; при боравенето с консумативите и реактивите могат да се докосват само страничните повърхности.
- Информационни листове за безопасност (Safety Data Sheets, SDS) са предоставени за всеки реактив (ако е необходимо) на www.neumodx.com/client-resources.
- След извършване на теста измивайте грижливо ръцете си.
- Не пипетирайте с уста. Не пушете, не пийте и не се хранете на места, на които се борави с проби или реактиви.
- При работа с проби винаги ги считайте за заразни и спазвайте процедурите за безопасна работа в лаборатория, като описаните в стандарта OSHA за патогени, пренасяни в кръвта⁴, биологична защита ниво 2²⁻⁵ или други подходящи практики за биологична защита^{6,7}, прилагани при работа с материали, които съдържат или се предполага, че съдържат заразни агенти.
- Извърляйте неизползваните реактиви и отпадъците в съответствие с националните, федералните, регионалните, държавните и местните правила.
- Резултатите от анализа NeuMoDx™ HAdV Quant Assay трябва да се интерпретират в контекста на всички други клинични и лабораторни заключения.
- Както при другите тестове, отрицателните резултати не изключват AdV инфекция.
- Вертикална лента в текстовото поле, е индикация за промени в сравнение с предходната версия на инструкциите за употреба.
- Само за еднократна употреба.

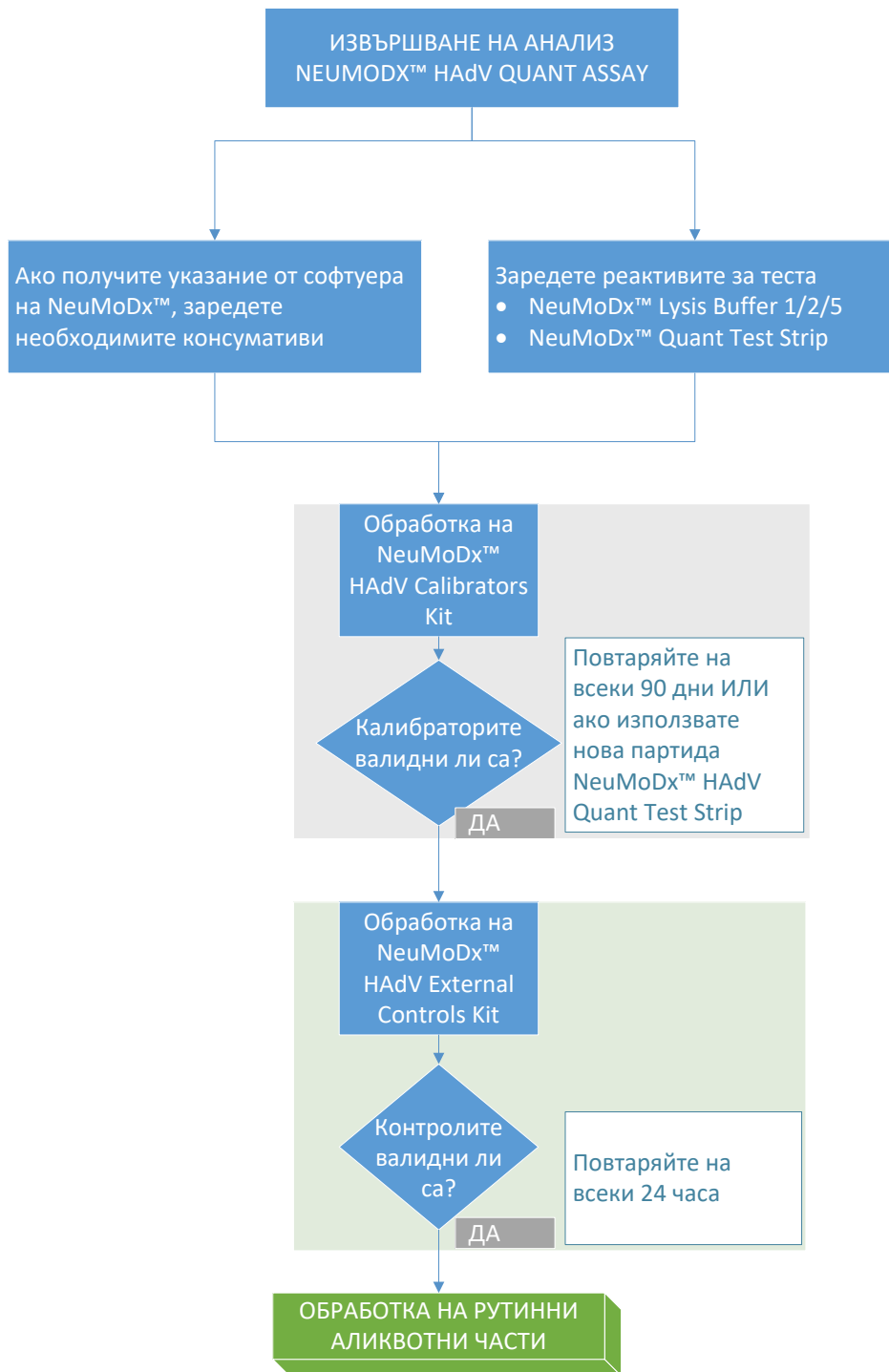
СЪХРАНЕНИЕ, БОРАВЕНЕ И СТАБИЛНОСТ НА ПРОДУКТИТЕ

- NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strips са стабилни в първичната опаковка, при температури от 15 °C до 30 °C, до срока на годност, посочен на фабричния етикет на продукта.
- Една NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, заредена в NeuMoDx™ System, е стабилна в продължение на 28 дни; софтуерът на NeuMoDx™ System ще предупреди, че тест-лентите, останали заредени в NeuMoDx™ System повече от 28 дни, трябва да бъдат извадени и в NeuMoDx System да бъдат отворени (извадете лентите от плика) и заредени нови NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strips. Не отстранявайте алуминиевото фолио от лентата по време на зареждането в NeuMoDx System.
- NeuMoDx™ calibrators и controls са неинфекциозни, но след употреба трябва да бъдат изхвърлени в лабораторните биорискови отпадъци, защото след обработка на системата, ще съдържат прицелния материал, който може да предизвика контаминация при неправилно боравене.

ВЗИМАНЕ, ПРЕНАСЯНЕ И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИ

1. С всички проби трябва да се борави като с материал, който може да предава инфекциозни агенти.
2. Не замразявайте цяла кръв или проби от плазма/серум, съхранявани в първични епруветки.
3. За подготовка на проби от плазма, трябва да се взема цяла кръв в стерилни епруветки с EDTA като антикоагулант. Серумни проби трябва да се подготвят в епруветки със серумен сепаратор. Аликвотните части от урина трябва да се вземат в стерилни епруветки или чаши. Спазвайте инструкциите на производителя на епруветките за взимане на проби.
4. Цяла кръв, взета в изброените по-горе изделия, може да се съхранява и/или пренася до 24 часа при 2 °C до 8 °C преди подготовката на плазмата/серума. Подготовката на аликвотните части трябва да се извършва в съответствие с инструкциите на производителя.
5. Съхранението на прясна необработена урина при стайна температура трябва да бъде сведено до минимум, тъй като ниското pH и високото съдържание на урея бързо денатурират ДНК, особено при температури от 25 °C и повече.
6. Подготвените проби от плазма/серум могат да се съхраняват в NeuMoDx™ System до 24 часа преди обработка; подготвените проби от урина могат да се съхраняват в NeuMoDx™ System до 16 часа преди обработка. При необходимост от по-дълго време за съхранение се препоръчва пробите да бъдат поставени в хладилник или фризер като вторични аликвотни части.
7. Преди тестване подготвените проби от плазма/серум и урина трябва да се съхраняват при температури от 2 °C до 8 °C, за не повече от 8 дни и максимум 24 часа (плазма/серум) или 16 часа (урина) при стайна температура.
8. Преди обработка подготвените проби могат да се съхраняват при < -20 °C до 8 седмици за плазма и 2 седмици за серум; преди употреба аликвотните части от плазма и серум не трябва да се подлагат на повече от 2 цикъла замразяване/размразяване:
 - a. ако аликвотните части са замразени, ги оставете да се размразят напълно при стайна температура (15 °C – 30 °C); след което разбъркайте аликвотната част с вортекс, за да се разпредели равномерно.
 - b. след като замразените аликвотни части се размразят, трябва да се тестват в рамките на 24 часа.
 - c. замразяване на плазма/серум в първични епруветки за взимане на проби не е препоръчително.
9. Веднъж обработени, аликвотните части от урина могат да се съхраняват при 2 °C до 8 °C.
10. Ако се налага транспортиране на проби, те трябва да бъдат опаковани и етикетирани в съответствие с действащите държавни и/или международни разпоредби.
11. Поставяйте ясни и четливи етикети на пробите, като посочите, че те са за тестване за AdV.
12. Преминете към раздел *Подготовка на теста*.

Общата процедура за извършване на NeuMoDx™ HAdV Quant Assay е резюмирана във *Фигура 1*.



Фигура 1: Процедура за извършване на NeuMoDx HAdV Quant Assay

ИНСТРУКЦИИ ЗА УПОТРЕБА

Подготовка на теста

За аликвотни части от плазма/серум NeuMoDx™ HAdV Quant Assay може да се извърши директно от първични епруветки за вземане на кръв или аликвотни части от пробата във вторични епруветки. Обработката може да се извърши с една от двете процедури за обработка на обеми на проба – процедура за обработка на обем 550 µL или процедура за обработка на обем 100 µL. Аликвотните части от урина се обработват, като се използва само процедурата за 550 µL обем на пробата.

1. Поставете етикет с баркод за проба към епруветка за проби, съвместима с NeuMoDx™ System. Първичната епруветка за вземане на кръв може да се етикетира и постави директно в носач за 32 епруветки за проби, след центрофугиране, съгласно указанията на производителя.
2. Ако тествате проба от плазма/серум в първична епруветка, поставете епруветката с баркода в носача за епруветки с проби и извадете запушалката преди зареждане в NeuMoDx System. Минималните обеми над гела/левкоцитния слой са дадени по-долу и ще бъдат спазени, ако пробите се взимат и обработват по инструкциите на производителя на епруветката. Работните характеристики не се гарантирани при неправилно взети проби.

Взимане на кръв Вид епруветка	Минимален необходим обем проба	
	Процедура за обем 550 µL	Процедура за обем 100 µL
SST – 3,5 mL	1550 µL	1150 µL
PPT/SST – 5,0 mL	1800 µL	1400 µL
PPT/SST – 8,5 mL	2500 µL	2150 µL
K ₂ EDTA/серум – 4,0 mL	1050 µL	650 µL
K ₂ EDTA/серум – 6,0 mL	1250 µL	850 µL
K ₂ EDTA/серум – 10,0 mL	1600 µL	1200 µL

3. За аликвотни части от урина или плазма/серум във вторична епруветка, прехвърлете аликвотна част от пробата в епруветка с баркод, съвместима с NeuMoDx System, като спазвате посочените по-долу обеми:

Носач за епруветки с проби	Размер на епруветката	Минимален необходим обем проба	
		Процедура за обем 550 µL	Процедура за обем 100 µL (само плазма/серум)
32-Tube Specimen Tube Carrier (Носач за епруветки с проби за 32 епруветки)	11 – 14 mm диаметър на 60 – 120 mm височина	700 µL	350 µL
24-Tube Specimen Tube Carrier (Носач за епруветки с проби за 24 епруветки)	14,5 – 18 mm диаметър на 60 – 120 mm височина	1100 µL	750 µL
Low Volume Specimen Tube Carrier (Носач за епруветки с проби с малък обем)	1,5-mL епруветка с конично дъно за микроцентрофуга	650 µL	250 µL

Работа с NeuMoDx System

Подробни указания ще намерите в Ръководствата за оператора на NeuMoDx™ 288 и 96 Molecular Systems (ном. № 40600108 и 40600317)

1. Заредете заявката за теста в NeuMoDx System в зависимост от избраната проба и тип епруветка:
 - 550 µL обем от пробата се тества, когато видът на пробата е дефиниран като „Plasma“ (Плазма), „Serum“ (Серум), или „Urine“ (Урина)
 - 100 µL обем от пробата се тества, когато видът на пробата е дефиниран като „Plasma2“ (Плазма2) или „Serum2“ (Серум2)
 - Ако не е дефиниран в заявката за теста, по подразбиране ще се използва вид проба Plasma (Плазма) в Secondary Tube (Вторична епруветка).

2. Срежете алуминиевите пликосе с NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip в точката, обозначена със странични прорези.
3. Извадете лентите от пликосете непосредствено преди употреба.
4. Преди да използвате пликосете, винаги проверявайте дали са запечатани добре и пакетчето със сикатив е все още вътре. Използвайте само неповредени опаковки.
5. Изхвърлете алуминиевите пликосе и тяхното съдържание, ако пакетчето със сикатив промени цвета си от оранжево в зелено.
6. Заредете един или повече носачи за тест-ленти NeuMoDx™ System с тест-ленти NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip(s) и използвайте сензорния екран, за да заредите носачите с тест-лентите в NeuMoDx™ System.
7. Ако получите инструкция от софтуера на NeuMoDx™ System, добавете необходимите консумативи в носачите за консумативи на NeuMoDx™ System и използвайте сензорния екран, за да заредите носачите в NeuMoDx™ System.
8. Ако получите инструкция от софтуера на NeuMoDx™ System, заменете NeuMoDx™ Wash Reagent, NeuMoDx™ Release Reagent, изпразнете бутилката с отпадъци от запълването, съда за биорискови отпадъци (само за NeuMoDx 288 Molecular System), кошчето за отпадъци от връхчето (само за NeuMoDx 96 Molecular System), или кошчето за биорискови отпадъци (само за NeuMoDx 96 Molecular System).
9. Ако получите инструкция от софтуера на NeuMoDx™ System, обработете калибраторите (№ 800801) и/или външните контроли (№ 900801) съгласно изискванията. Допълнителна информация за калибраторите и контролите ще намерите в раздела „Обработка на резултатите“.
10. Заредете епруветките с проби/калибратори/контроли в стандартен носач за 32 епруветки и извадете запушалките на всички епруветки.
11. Поставете носача за епруветки с проби в някое от свободните места на полицата на автоматичното зареждащо устройство и използвайте сензорния екран, за да заредите носача в NeuMoDx™ System. Това ще стартира обработката на заредените проби за посочения(те) тест(ове), при положение, че в системата да има валидна заявка за тестване.

ОГРАНИЧЕНИЯ

- NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip може да се използва само на NeuMoDx™ Systems.
- Работните характеристики на NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip са установени за проби от плазма и серум, приготвени от цяла кръв, взета с EDTA като антикоагулант, и проби от урина; употребата на NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip с други видове клинични проби не е оценявана, а за други видове проби работните характеристики на теста не са известни.
- Леко повишаване на границата на откриване и долната граница на количествено определяне на NeuMoDx™ HAdV Quant Assay е наблюдавано при използване на процедура за 100 µL обем от пробата.
- NeuMoDx™ HAdV Quant Assay не трябва да се използва с алиquotни части от хепаринизирани човешки проби.
- Тъй като откриването на AdV зависи от броя на организмите в алиquotната част, надеждните резултати зависят от правилното взимане, боравене и съхранение на пробите.
- Калибраторите и външните контроли трябва да се обработват съгласно препоръките в листовките в опаковките и ако получите указание от софтуера на NeuMoDx™ System преди обработката на рутинни клинични алиquotни части.
- Грешни резултати от тестовите могат да се получат при неправилно взимане, боравене и съхранение на проби, техническа грешка или объркване на епруветки с проби. Освен това грешни отрицателни резултати може да се получат и когато броят на вирусните частици в алиquotната част е под границата на откриване на NeuMoDx™ HAdV Quant Assay.
- С NeuMoDx™ System може да работи само персонал, обучен в употребата на NeuMoDx™ System.
- Ако не се амплифицират прицелните нуклеинови киселини както за AdV, така и за SPC1, ще бъде съобщен невалиден резултат (Indeterminate (Неопределен), No Result (Няма резултат) или Unresolved (Неполучен)) и тестът трябва да бъде повторен.
- Ако резултатът от NeuMoDx™ HAdV Quant Assay е Positive (положителен), но стойността на количественото определяне е извън границите, NeuMoDx™ System ще съобщи дали откритият AdV е бил под долната граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) или над горната граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- В случай че откритият AdV е под LLoQ, NeuMoDx™ HAdV Quant Assay може да бъде повторен (ако е необходимо) с друга алиquotна част от пробата.
- В случай че откритият AdV е над ULoQ, NeuMoDx™ HAdV Quant Assay трябва да се повтори с разреждана алиquotна част от първоначалната проба. Препоръчителното разреждане е 1:1000 в AdV-отрицателна плазма или Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Концентрацията на първоначалната проба може да се изчисли по следния начин:
$$\text{Концентрация на първоначалната проба} = \text{Log}_{10}(\text{фактор на разреждане}) + \text{съобщена концентрация на разрежданата алиquotна част}.$$
- Инцидентното наличие на инхибитори на PCR в плазма/серум или урина може да доведе до грешка в количественото определяне на системата; в този случай се препоръчва тестът да бъде повторен със същата проба, разреждана в Basematrix при съотношение 1:10 или 1:100.
- Положителен резултат не означава непременно наличие на жизнеспособни организми. Положителен резултат обаче говори за вероятно наличие на ДНК на AdV.

- Делеция или мутации в консервирани региони, прицелни за NeuMoDx™ HAdV Quant Assay, може да повлияят на откриването или да доведат до грешен резултат с NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip.
- Резултатите от NeuMoDx™ HAdV Quant Assay трябва да се използват в допълнение към клиничните наблюдения и другата информация, с която лекарят разполага; тестът не е предвиден за диагностика на инфекция.
- Препоръчва се спазване на добрата лабораторна практика – включително смяната на ръкавиците при боравенето с всяка следваща проба от пациент, – за да се предотврати контаминация.

ОБРАБОТКА НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Наличните резултати могат да бъдат прегледани и разпечатани от раздела „Results“ (Резултати) в прозореца Results (Резултати) на сензорния екран на NeuMoDx™ System.

Резултатите от NeuMoDx™ HAdV Quant Assay се генерират автоматично от софтуера на NeuMoDx™ System с алгоритъм за взимане на решение и параметри за обработка на резултатите, посочени във файла с дефиниция за анализа HAdV в NeuMoDx™ (Assay Definition File, ADF). В зависимост от състоянието на амплификацията на прицелната нуклеинова киселина и контрола за обработката на аликвотните части, резултатът от NeuMoDx™ HAdV Quant Assay може да бъде съобщен като Negative (Отрицателен), Positive (Положителен) със съобщена концентрация на AdV, Positive (Положителен) над ULoQ, Positive (Положителен) под LLoQ, Indeterminate (Неопределен) (IND), Unresolved (Неполучен) (UNR) или No Result (Няма резултат) (NR). Резултати се съобщават според алгоритъма за взимане, резюмиран по-долу в Таблица 1.

Таблица 1: Обобщение на алгоритъма за взимане на решение (Decision Algorithm) за NeuMoDx™ HAdV Quant Assay

Резултат	AdV	Контрол за обработката на аликвотни части (Sample Process Control, SPC1)	Интерпретация на резултатите
Positive (Положителен) със съобщена концентрация	Amplified (Има амплификация) $2 \leq [ADV] \leq 8,0 \text{ Log}_{10} \text{ копия/mL}$ (процедура 550 μL)* $2,88 \leq [ADV] \leq 8,0 \text{ Log}_{10} \text{ копия/mL}$ (процедура 100 μL)*	Amplified (Има амплификация) или Not Amplified (Няма амплификация)	ДНК на HAdV е открита в количествения диапазон
Positive (Положителен), над горната граница на количествено определяне [Upper Limit of Quantitation, ULoQ]	Amplified (Има амплификация) $[ADV] > 8,0 \text{ Log}_{10} \text{ копия/mL}$	Amplified (Има амплификация) или Not Amplified (Няма амплификация)	ДНК на HAdV е открита над количествения диапазон
Positive (Положителен), под долната граница на количествено определяне [Lower Limit of Quantitation, LLoQ]	Amplified (Има амплификация) $[ADV] < 2 \text{ Log}_{10} \text{ копия/mL}$ (процедура 550 μL)* $[ADV] < 2,88 \text{ Log}_{10} \text{ копия/mL}$ (процедура 100 μL)*	Amplified (Има амплификация) или Not Amplified (Няма амплификация)	ДНК на HAdV е открита под количествения диапазон
Negative (Отрицателен)	Not Amplified (Няма амплификация)	Amplified (Има амплификация)	ДНК на HAdV не е открита
Indeterminate (Неопределен)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Няма амплификация, Установена е грешка в системата, Обработката на аликвотни части е приключена)		Всички резултати за прицелната нуклеинова киселина са невалидни; тествайте аликвотната част отново†
No Result (Няма резултат)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Няма амплификация, Установена е грешка в системата, Обработката на аликвотни части е прекратена)		Обработката на аликвотните части е прекратена; тествайте аликвотната част отново†
Unresolved (Неполучен)	Not Amplified, No System Error Detected (Няма амплификация, Не е установена грешка в системата)		Всички резултати за прицелната нуклеинова киселина са невалидни; тествайте аликвотната част отново†

* Процедура за обем 550 μL се използва с проби от плазма/серум и урина. Процедура за обем 100 μL се използва само с проби от плазма/серум.

† NeuMoDx System има възможност за автоматично изпълнение на Rerun (Повторна обработка)/Repeat (Повторение), която крайният потребител може да избере, за да бъде сигурно, че при IND (Неопределен)/NR (Неполучен)/UNR (Няма резултат) автоматично ще се извърши повторна обработка за минимално забавяне на съобщаването на резултатите.

Изчисляване на теста

1. За аликвотни части в рамките на диапазона на количествено определяне на NeuMoDx™ HAdV Quant Assay концентрацията на ДНК на AdV в аликвотните части се изчислява със съхранената стандартна крива заедно с коефициента на калибрация и обема от пробата.
 - a. Коефициент на калибрация се изчислява на базата на резултатите от обработката на комплект за калибрация NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit, за да се установи валидността на стандартната крива за конкретна партида NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip на дадена NeuMoDx™ System.
 - b. Коефициентът на калибрация се включва в окончателното определяне на концентрацията на ДНК на AdV.
 - c. Софтуерът на NeuMoDx™ отчита входния обем от пробата при определянето на концентрацията на ДНК на AdV на един mL проба.
2. Резултатите от NeuMoDx™ HAdV Quant Assay се съобщават в Log₁₀ копия/mL.
3. Полученото количествено определяне на неизвестните аликвотни части е проследимо по количествения Панел за верификация на аденовирус (Adenovirus Verification Panel), изразени в копия/mL чрез цифрово-капков PCR (digital droplet PCR, ddPCR).

Калибрация на теста

Валидна калибрация според стандартната крива е необходима за количественото определяне на ДНК на AdV в пробите. За генерирането на валидни резултати трябва да се извърши калибрация на теста с калибратори, предоставени от NeuMoDx™ Molecular, Inc.

Калибратори

1. Калибраторите NeuMoDx™ HAdV Calibrator се предлагат в комплект (№ 800801) и са съставени от изсушена гранула от синтетична AdV ДНК.
2. При зареждане на нов файл с дефиниция за анализа AdV в NeuMoDx™ System, ако текущият набор калибратори е с изтекъл срок на валидност (за момента – 90 дни), или ако софтуерът на NeuMoDx™ System бъде променен, с всяка нова партида NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strips трябва да бъде обработен набор калибратори AdV.
3. Софтуерът на NeuMoDx™ System ще уведоми потребителя кога трябва да бъдат обработени калибраторите; докато калибраторите не бъдат успешно обработени, не може да се използва нова партида тест-ленти за тестването.
4. При необходимост от обработка на нов набор от AdV калибратори, прочетете всички инструкции, съдържащи се в листовката на NeuMoDx™ HAdV Calibrator Kit, преди да извършите теста.
5. Валидността на калибрацията се установява по следния начин:
 - a) набор от два калибратора – висок и нисък – трябва да се обработи, за да се установи валидността.
 - b) за генерирането на валидни резултати поне 2 от 3-те репликата трябва да дадат резултати в рамките на предварително дефинирани параметри. Номиналната прицелна стойност на нисък калибратор е 3 Log₁₀ копия/mL, а тази на висок калибратор – 5 Log₁₀ копия/mL.
 - c) коефициент на калибрация се изчислява за отчитане на очакваната вариация между партидите тест-ленти; този коефициент на калибрация се използва при определянето на окончателната концентрация на AdV.
6. Ако единият или и двата калибратора не издържат проверката за валидност, обработката на неиздържалите проверката калибратори трябва да се повтори с ново шише. В случай че единият калибратор не издържи проверката за валидност, може да се повтори само неиздържаният калибратор – системата не изисква от потребителя да обработва повторно и двата калибратора.

Контрол на качеството

В местните разпоредби обикновено се посочва, че лабораторията отговаря за процедурите за вътрешен качествен контрол, чрез които се следи точността и прецизността на цялостния аналитичен процес, и трябва да установи броя, вида и честотата на тестването на контролните материали с проверени спецификации за работни характеристики за немодифицирана одобрена тестова система.

Външни контроли

1. Външни контроли HAdV се предоставят от NeuMoDx Molecular, Inc. в HAdV External Control Kit (№ 900801). Положителните контроли съдържат изсушена гранула от синтетична AdV ДНК.
2. Положителни и отрицателни външни контроли трябва да се обработват веднъж на всеки 24 часа. Ако не съществува набор валидни външни контроли, софтуерът на NeuMoDx™ System ще уведоми потребителя, че тези контроли трябва да се обработят, преди да могат да се съобщават резултати за аликвотните части.
3. Ако се изискват външни контроли, подгответе положителните и отрицателните контроли, както е посочено в листовката за NeuMoDx™ HAdV External Control Kit, преди да извършите теста.
4. Като използвате сензорния екран и носача за епруветки с проби, поставен на полицата на автоматичното зареждащо устройство, заредете шишетата с положителните и отрицателните контроли в NeuMoDx™ System. NeuMoDx™ System ще разпознае баркода и ще започне обработката на епруветките за проби, освен ако няма достатъчно от необходимите за тестването реактиви или консумативи.
5. Валидността на външните контроли ще бъде оценена от NeuMoDx™ System според очаквания резултат. Положителният контрол трябва да даде Positive (положителен) резултат за AdV, а отрицателният контрол трябва да даде Negative (отрицателен) резултат за AdV.

6. Обработката на несъответстващи резултати за външни контроли трябва да се извърши по следния начин:
- Positive (Положителен) резултат от теста, съобщен за алиquotна част с отрицателен контрол, означава проблем с контаминация на пробата.
 - Negative (отрицателен) резултат от теста, съобщен за алиquotна част с положителен контрол, може да означава проблем с реактив или апарата.
 - във всеки от описаните по-горе случаи или ако резултатът е Indeterminate (Неопределен) (IND) или No Result (Няма резултат) (NR), обработката на външни контроли NeuMoDx™ HAdV External Control трябва да се повтори с пресни шишета от контролата(те), които не са издържали проверката за валидност.
 - ако положителен външен контрол NeuMoDx™ HAdV External Control продължава да дава резултат Negative (Отрицателен), се обърнете към отдела за обслужване на клиенти на NeuMoDx™.
 - ако отрицателен външен контрол NeuMoDx™ HAdV External Control продължава да дава резултат Positive (Положителен), се опитайте да отстраните всички потенциални източници на контаминация, включително като смените ВСИЧКИ реактиви, преди да се обърнете към отдела за обслужване на клиенти на NeuMoDx™.

(Вътрешни) контроли за обработка на алиquotни части

В NeuMoDx™ Extraction Plate е включен екзогенен контрол за обработка на алиquotни части (Sample Process Control, SPC1), преминаващ по целия процес за извличане и амплификация на нуклеинови киселини с PCR в реално време с всяка алиquotна част. Във всяка NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip са включени също и праймери и сонда, специфични за SPC1, позволяващи откриване на наличие на SPC1 заедно с прицелната ДНК на HAdV (ако има) чрез мултиплексна PCR в реално време. Откриването на амплификация на SPC1 позволява на софтуера на NeuMoDx™ System да следи ефективността на процедурите за извличане на ДНК и амплификация с PCR.

Невалидни резултати

Ако NeuMoDx™ HAdV Quant Assay, извършен на NeuMoDx™ System, не даде валиден резултат, резултатът ще бъде съобщен като Indeterminate (Неопределен) (IND), No Result (Няма резултат) (NR) или Unresolved (Неполучен) (UNR) според вида на възникналата грешка.

Ако по време на обработката на алиquotната част, бъде установена грешка в NeuMoDx™ System, ще бъде съобщен резултат IND. Ако бъде съобщен резултат IND, се препоръчва повторно тестване.

Резултат UNR ще бъде съобщен, ако не бъде открита валидна амплификация на ДНК на AdV или SPC1, което означава евентуален проблем в реактивите или наличие на инхибитори. Ако бъде съобщен резултат UNR, като първа стъпка може да се извърши повторно тестване. Ако и повторното тестване е неуспешно, разреждана проба може да се използва за смекчаване на ефектите от евентуално инхибиране на алиquotната част.

Ако NeuMoDx™ HAdV Quant Assay, извършен на NeuMoDx System, не даде валиден резултат и обработката на алиquotни части бъде прекратена преждевременно, резултатът ще се съобщи като No Result (Няма резултат) (NR). Ако бъде съобщен резултат NR, се препоръчва повторно тестване.

РАБОТНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Аналитична чувствителност – граница на откриване¹²

Аналитичната чувствителност на NeuMoDx™ HAdV Quant Assay се характеризира с тестване на серия от разреждания на EDX AdV Verification Panel (Exact Diagnostics), в AdV-отрицателни алиquotни части от плазма/серум и урина, за определяне на границата на откриване (Limit of Detection, LoD) на NeuMoDx Systems. За алиquotни части от плазма/серум (550 µL) и урина, LoD се определя като най-близкото прицелно ниво, определено експериментално, над концентрацията, определена чрез анализ тип Probit с 95% доверителен интервал (Confidence Interval, CI). За алиquotни части от плазма/серум (100 µL) е изследвана концентрация на единична алиquotна част от 750 копия/mL чрез анализ на процента на съвпаденията и валидирана за LoD, ако процента на откриване е над 95%. Изследванията са извършени в продължение на 3 дни с различни партиди реактиви NeuMoDx™. При всяко ниво на разреждане са обработени 42 репликати (положителни алиquotни части) и 8 повторения за отрицателни алиquotни части на ден. Процентите на откриване са представени в *таблица 2* и *3*.

Таблица 2: Проценти на откриване на положителен резултат за определяне на LoD на NeuMoDx™ HAdV Quant Assay (плазма/серум 550 µL и урина).

Прицелна концентрация [копия/mL]	Прицелна концентрация [Log ₁₀ копия/mL]	Процедура ПЛАЗМА/СЕРУМ 550 µL			УРИНА		
		Брой валидни тестове	Брой положителни	Процент откриване	Брой валидни тестове	Брой положителни	Процент откриване
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%
Отрицателни	0,00	24	0	0%	24	0	0%

Таблица 3: Проценти на откриване на положителен резултат за определяне на LoD на NeuMoDx™ HAdV Quant Assay (плазма/серум 100 µL).

Прицелна концентрация [копия/mL]	Прицелна концентрация [Log ₁₀ копия/mL]	Процедура ПЛАЗМА/СЕРУМ 100 µL		
		Брой валидни тестове	Брой положителни	Процент откриване
750	2,88	89	87	97,75%

LoD на количествения анализ NeuMoDx™ HAdV Quant Assay в плазма/серум (процедура за 550 µL) се определя на 100 копия/mL (2 Log₁₀ копия/mL) с 95% доверителен интервал (Confidence Interval, CI) от 82,85 cps/mL; в урина LoD беше определено на 100 копия/mL (2 Log₁₀ копия/mL) с 95% доверителен интервал (Confidence Interval, CI) от 98,27 копия/mL в плазма/серум (процедура за 100 µL) LoD беше определено на 750 копия/mL (2,88 Log₁₀ копия/mL).

Аналитична чувствителност – долна граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) и горна граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)¹¹

Долната граница на количествено определяне (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) и горната граница на количествено определяне (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) се дефинират като най-ниското и най-високото целево ниво, при което е постигнато откриване > 95% И TAE ≤ 1,0. За определяне на LLoQ и ULoQ, беше изчислена общата аналитична грешка (Total Analytical Error, TAE) за всяко от целевите нива на AdV, за които е установено, че отчетат процент на откриване > 95%. TAE се дефинира по следния начин:

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

Отклонението е квадратен корен от сумата от стандартното отклонение и сумата от отклонението, повдигнати на квадрат.

Съкупните резултати за 5 нива на HAdV проби от плазма/серум или урина, използвани в изследването за LLoQ/ULoQ, са представени в таблици 4 и 5. Въз основа на този набор от данни и предварително определената LoD, бяха определени LLoQ и ULoQ като 100 копия/mL (2 Log₁₀ копия/mL) и 8 копия/mL, съответно за плазма/серум 550 µL и урина и 750 копия/mL (2,88 Log₁₀ копия/mL) за плазма/серум 100 µL.

Таблица 4: ULoQ и LLoQ за NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, с отклонение и TAE (плазма/серум 550 µL и урина)

Прицелна концентрация [копия/mL]	Прицелна концентрация [Log ₁₀ копия/mL]	Плазма/серум 550 µL					Урина				
		Средна концентрация [Log ₁₀ копия/mL]	Откриване (%)	SD	Отклонение	TAE	Средна концентрация [Log ₁₀ копия/mL]	Откриване (%)	SD	Отклонение	TAE
3,23x10 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

Таблица 5: ULoQ и LLoQ за NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip, с отклонение и TAE (плазма/серум 100 µL)

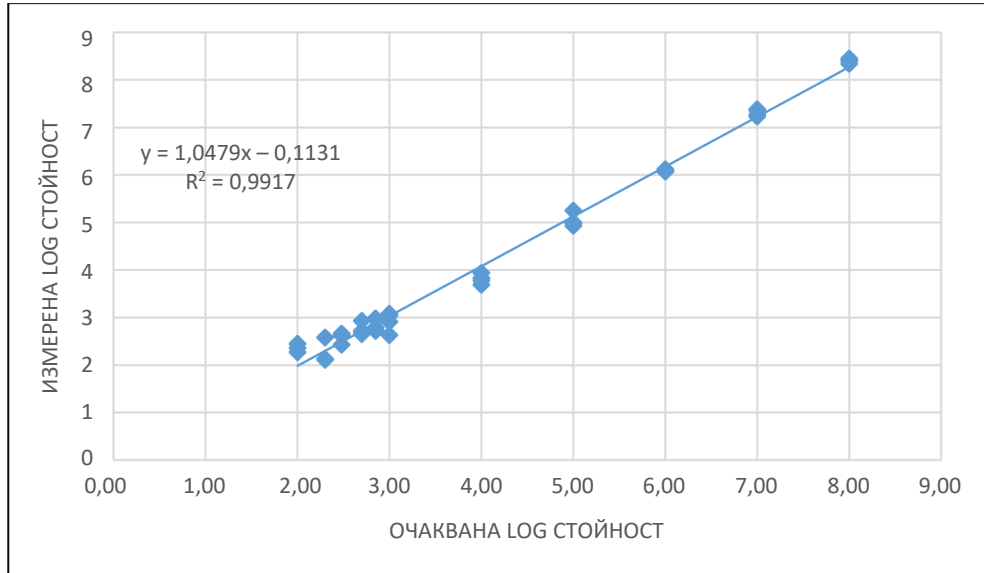
Прицелна концентрация [копия/mL]	Прицелна концентрация [Log ₁₀ копия/mL]	Плазма/серум 100 µL				
		Средна концентрация [Log ₁₀ копия/mL]	Откриване (%)	SD	Отклонение	TAE
3,23x10 ⁸	8,5	8,81	100	0,20	0,62	0,72
750	2,88	2,96	97,75	0,30	0,08	0,69

Въз основа на резултатите от тези проучвания, LoD и LLoQ на количествения анализ NeuMoDx™ HAdV Quant Assay бяха определени като 100 копия/mL (2 Log₁₀ копия/mL) за плазма/серум и урина с процедура за 550 µL и 750 копия/mL (2,88 Log₁₀ копия/mL) за плазма/серум при използване на процедура за 100 µL. ULoQ за всички видове проби е 3,23x10⁸ копия/mL (тук ограничен до 8 Log₁₀ копия/mL).

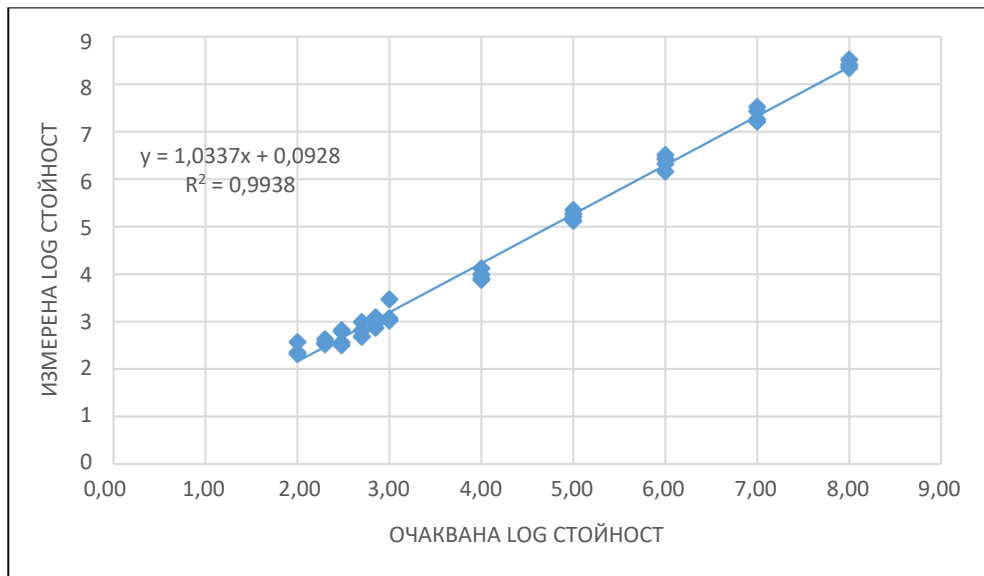
Линейност¹²

Линейността на NeuMoDx™ HAdV Quant Assay за плазма/серум и урина бе установена чрез подготвяне на серия от разреждания, използвайки 11 серийни разреждания от AdV синтетичен плазмид (AdV Synthetic Plasmid) (Integrated DNA Technologies), подготвен в HAdV отрицателен Basematrix 53 или сбор от HAdV отрицателна човешка урина, с концентрационен диапазон от 8 – 2 Log₁₀ копия/mL за плазма/серум 550 µL и урина. Шест серийни разреждания на HAdV синтетичен плазмид бяха подготвени с концентрационен диапазон от 8 – 3 Log₁₀ копия/mL за плазма/серум 100 µL.

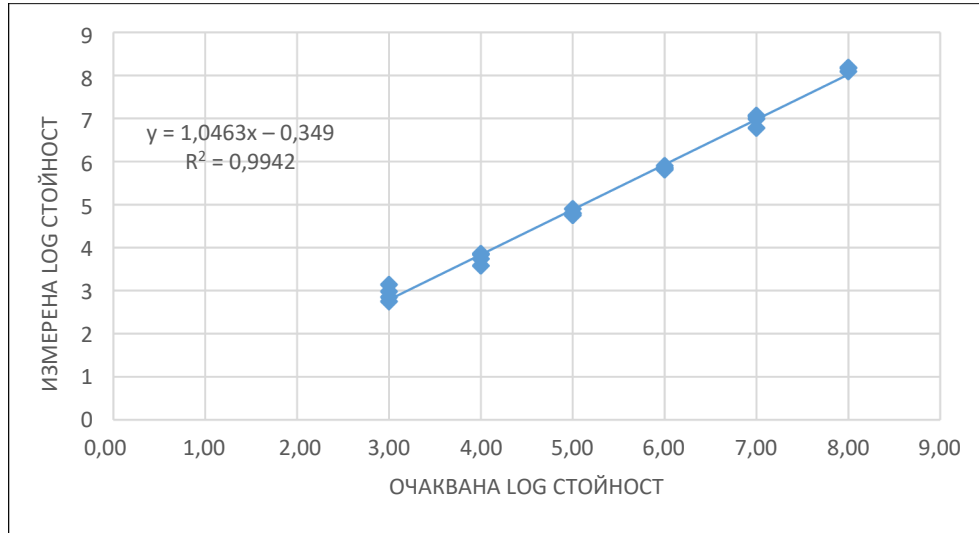
Концентрациите от анализа за HAdV, отчетени от NeuMoDx™ System, сравнени с очакваните стойности са представени на *Фигури 2, 3 и 4*.



Фигура 2: Линейност на количествения анализ на NeuMoDx™ HAdV Quant Assay за плазма/серум (процедура за 550 µL).



Фигура 3: Линейност на NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip за проби от урина.



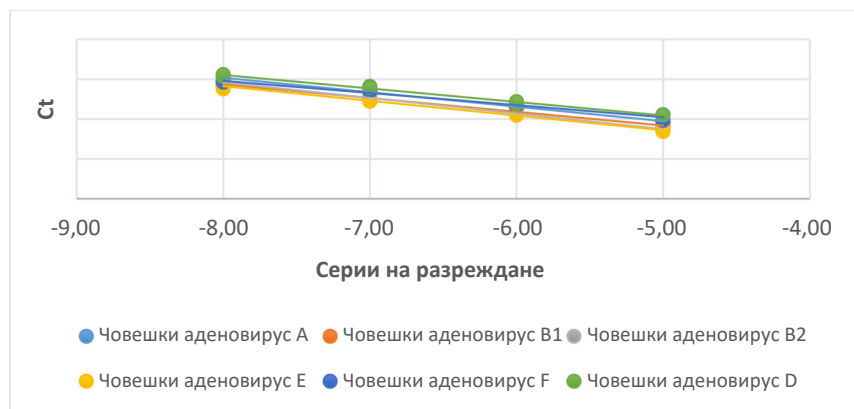
Фигура 4: Линейност на NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip за плазма/серум (процедура за 100 µL)

Линейност по всички генотипове¹²

Линейността на NeuMoDx™ HAdV Quant Assay по седем HAdV генотипа (човешки аденовирус А, човешки аденовирус В1, човешки аденовирус В2, човешки аденовирус С, човешки аденовирус D, човешки аденовирус Е и човешки аденовирус F) се характеризира с тестване на пет различни концентрации от всеки генотип на AdV, подготвен в AdV отрицателен Basematrix 53. Генотипът човешки аденовирус С не показва присъствие на полиморфизми в целевата област на гена, покрита от NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip. Изследването е извършено с тестване на 2 репликата на всеки от 6-те генотипа при 5 концентрации (сери с 10кратно разреждане). Линейността по всички шест генотипове на AdV е представена в *таблица 6* и на *фигура 5*.

Таблица 6: Линейност на NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip по всички генотипове

Генотип	Уравнение за линейност y = NeuMoDx HAdV Assay Ct x = серии на разреждане	R ²
Еталонна секвенция	$y = -3,529x - 0,7881$	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



Фигура 5: Линейност на NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip по всички генотипове

Аналитична специфичност – кръстосана реактивност^{9,10}

Аналитичната специфичност е демонстрирана със скрининг на 23 организма, често срещани в проби от плазма/серум или урина, както и видове, филогенетично сходни с AdV, за кръстосана реактивност. Организмите са подготвени в групи по 5/6 организма и са тествани при висока концентрация. Тестваните организми са дадени в *таблица 7*. Два организма (E. coli и HCV) бяха анализирани по *in silico* метод. Не се наблюдава кръстосана реактивност с нито един от тестваните организми, което потвърждава 100% аналитична специфичност на NeuMoDx™ HAdV Quant Assay.

Таблица 7: Патогени, използвани за демонстриране на аналитична специфичност

Неприцелни организми					
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>	Вирус на хепатит В	ВК вирус	Вирус на Epstein-Barr	Вирус на варицела зостер
<i>Cytomegalovirus</i>	Вирус на хепатит С	Вирус херпес симплекс тип 1	Вирус херпес симплекс тип 2	Човешки вирус херпес тип 6	Човешки вирус херпес тип 7
Човешки вирус херпес тип 8	Човешки имунодефицитен вирус-1	Човешки имунодефицитен вирус-2	JC вирус	SV40	

Аналитична специфичност – интерфериращи вещества, коменсални организми^{9,10}

NeuMoDx™ HAdV Quant Assay е проверен за интерференция в присъствието на неприцелни организми със същите групи организми като подготвените за тестването на кръстосаната реактивност, изброени по-горе в *таблица 7*. В HAdV отрицателна плазма са добавени организмите, групирани по 5/6, и също така е добавена прицелна концентрация на HAdV, от 2,5 Log₁₀ копия/mL. Не се наблюдава съществена интерференция в присъствието на тези коменсални организми, за което свидетелства минималното отклонение на количественото определяне от контролните проби, които не съдържат интерфериращ агент.

Аналитична специфичност – интерфериращи вещества, ендогенни и екзогенни вещества^{9,10}

NeuMoDx™ HAdV Quant Assay е проверен в присъствието на типични екзогенни и ендогенни интерфериращи вещества, срещани в клинични проби от плазма/серум или урина с HAdV. Те включват абнормно високи нива на компоненти от кръв и урина, както и обичайни антивирусни лекарства, класифицирани в *таблица 8*. Всяко вещество е добавено към подбрана HAdV -отрицателна Basematrix 53 или човешка урина с добавени 2,5 Log₁₀ копия/mL HAdV и аликвотните части са анализирани за интерференция.

Средната концентрация и отклонението на всички тествани вещества в сравнение с контролните аликвотни части с добавено същото ниво на HAdV са дадени в *таблица 9*. Нито едно от екзогенните и ендогенните вещества не се отразява на специфичността на NeuMoDx™ HAdV Quant Assay.

Таблица 8: Тестване за интерференция – екзогенни агенти (класификации на лекарствата)

Група	Име на лекарството	Класифициране
Група 1	Валганцикловир	АНТИВИРУСНО ЛЕКАРСТВО
	Преднизон	ИМУНОСУПРЕСИВНО ЛЕКАРСТВО
	Цидофовир	АНТИВИРУСНО ЛЕКАРСТВО
	Цефотаксим	АНТИБИОТИК
	Микофенолат мофетил	ИМУНОСУПРЕСИВНО ЛЕКАРСТВО
Група 2	Ванкомицин	АНТИБИОТИК
	Такролимус	ИМУНОСУПРЕСИВНО ЛЕКАРСТВО
	Фамотидин	ХИСТАМИН – АНТАГОНИСТ
	Валацикловир	АНТИВИРУСНО ЛЕКАРСТВО
	Лефлуномид	ИМУНОСУПРЕСИВНО ЛЕКАРСТВО

Таблица 9: Тестване за интерференция – екзогенни и ендогенни агенти

Ендогенно вещество (плазма/серум)	Средна концентрация	Отклонение (абсолютна стойност)
	Log ₁₀ копия/mL	Log ₁₀ копия/mL
Триглицериди 500 mg/dL	2,03	0,46
Конюгиран билирубин (0,25 g/L)	2,21	0,28
Неконюгиран билирубин (0,25 g/L)	2,71	0,22
Албумин (58,7 g/L)	2,74	0,25
Хемоглобин (2,9 g/L)	2,67	0,18
Ендогенно вещество (урина)	Средна концентрация	Отклонение (абсолютна стойност)
	Log ₁₀ копия/mL	Log ₁₀ копия/mL
Уробилирубин (> 2 mg/dL)	2,65	0,30
Глюкоза (1000 mg/dL)	3,17	0,28
Урина pH 4	2,67	0,22
Урина pH 10	2,78	0,11
Левкоцити (1Е6 клетки/mL)	2,72	0,22
Кръв 5%	2,62	0,29
Протеин (албумин > 100 mg/dL)	3,07	0,18
Талк, прахообразен	2,89	0,00
Екзогенни (лекарства)	Средна концентрация	Отклонение (абсолютна стойност)
	Log ₁₀ копия/mL	Log ₁₀ копия/mL
Група 1: Валганцикловир, преднизон, цидофовир, цефотаксим, микофенолат мофетил	2,83	0,08
Група 2: Ванкомицин, такролимус, фамотидин, валацикловир, лефлуноמיד	2,52	0,23

Възпроизводимост и в рамките на лабораторната прецизност¹³

Прецизността на NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip е определена с тестване на 2 репликата от панел от 5 проби с AdV, приготвян с HAdV плазмид два пъти дневно, с използване на NeuMoDx™ 96 System в продължение на 20 дни. Характеризирани са прецизността на системата в рамките на обработка, между обработките, в рамките един ден и междудневната прецизност, както и (общото) стандартно отклонение в рамките на лабораторията, определено като $\leq 0,30$ Log₁₀ копия/mL. Демонстрирана е отлична прецизност в различните дни или обработки, както се вижда от *таблица 10*. Прецизността между различните оператори не е характеризирана, защото операторът не играе съществена роля при обработката на алиquotни части с NeuMoDx™ System.

Таблица 10: Вътрешнолабораторна прецизност – NeuMoDx™ HAdV Quant Assay на NeuMoDx™ Systems

Алиquotна част	SD в рамките на деня (Log ₁₀ копия/mL)	SD между дните (Log ₁₀ копия/mL)	SD в рамките на обработката (Log ₁₀ копия/mL)	SD между обработките (Log ₁₀ копия/mL)	Общо SD (вътрешнолабораторно) (Log ₁₀ копия/mL)
Проби от плазма/серум (550 µL)					
5,51 Log ₁₀ копия/mL	0,15	0,13	0,15	0,01	0,19
4,51 Log ₁₀ копия/mL	0,17	0,10	0,17	0,05	0,20
3,51 Log ₁₀ копия/mL	0,18	0,00	0,12	0,14	0,19
2,51 Log ₁₀ копия/mL	0,16	0,07	0,15	0,03	0,17
0 Log ₁₀ копия/mL	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Проби от урина (550 µL)					
5,51 Log ₁₀ копия/mL	0,19	0,14	0,16	0,1	0,23
4,51 Log ₁₀ копия/mL	0,17	0,09	0,11	0,13	0,18
3,51 Log ₁₀ копия/mL	0,16	0,11	0,16	0,00	0,20
2,51 Log ₁₀ копия/mL	0,17	0,09	0,14	0,10	0,19
0 Log ₁₀ копия/mL	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Възпроизводимост на резултатите от различни партии¹³

Възпроизводимост от партида до партида на NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip е определена с използване на три различни партии ленти NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strips. За оценка на ефективността на една NeuMoDx™ 96 Molecular System в 3 отделни цикъла на обработка беше използван 5-членен панел от HAdV, приготвен с HAdV плазмид. Анализирани е вариацията в рамките на една партида и между различните партии, представена като абсолютно количествено определяне в *таблица 11*. Максималното цялостно отклонение е 0,39 Log₁₀ копия/mL. Равностойността на работните характеристики между различните партии е демонстрирана, като количественото определяне на всички елементи от панела е в рамките на допустимото отклонение по спецификация.

Таблица 11: Възпроизводимост на резултатите от различни партии – NeuMoDx™ HAdV Quant Assay

Аликвотна част	Абсолютно отклонение между партида 1 и партида 2 (Log ₁₀ копия/mL)	Абсолютно отклонение между партида 1 и партида 3 (Log ₁₀ копия/mL)	Абсолютно отклонение между партида 2 и партида 3 (Log ₁₀ копия/mL)
Проби от плазма/серум (550 µL)			
5,51 Log ₁₀ копия/mL	0,26	0,28	0,02
4,51 Log ₁₀ копия/mL	0,00	0,17	0,17
3,51 Log ₁₀ копия/mL	0,27	0,17	0,10
2,51 Log ₁₀ копия/mL	0,39	0,08	0,31
0 Log ₁₀ копия/mL	0,00	0,00	0,00
Проби от урина (550 µL)			
5,51 Log ₁₀ копия/mL	0,27	0,12	0,39
4,51 Log ₁₀ копия/mL	0,23	0,17	0,06
3,51 Log ₁₀ копия/mL	0,22	0,06	0,16
2,51 Log ₁₀ копия/mL	0,22	0,09	0,13
0 Log ₁₀ копия/mL	0,00	0,00	0,00

Възпроизводимост между отделни апарати¹³

Възпроизводимостта на NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip между отделни апарати бе определена с използване на три различни системи (две NeuMoDx™ 288 Molecular System и една NeuMoDx™ 96 Molecular System). За оценка на ефективността беше използван 5-членен панел от HAdV, приготвен с HAdV плазмид. Тестването е извършено на паралелни системи в продължение на 5 дни. Характеризирани са отклоненията в рамките на деня и между системите, като общото стандартно отклонение бе определено като ≤ 0,30 Log₁₀ копия/mL. Равностойността на работните характеристики между различните партии е демонстрирана, като стандартното отклонение (Standard Deviation, SD) в количественото определяне на всички елементи от панела е в рамките на допустимото отклонение по спецификация (*таблица 12*).

Таблица 12: Възпроизводимост на резултатите от различни апарати – NeuMoDx™ HAdV Quant Test Strip

Аликвотна част	SD в рамките на деня (Log ₁₀ копия/mL)	SD между дните (Log ₁₀ копия/mL)	SD в рамките на системата (Log ₁₀ копия/mL)	Между системите (Log ₁₀ копия/mL)	SD възпроизводимост (Log ₁₀ копия/mL)
Проби от плазма/серум (550 µL)					
5,51 Log ₁₀ копия/mL	0,13	0,04	0,14	0,05	0,14
4,51 Log ₁₀ копия/mL	0,12	0,00	0,14	0,04	0,15
3,51 Log ₁₀ копия/mL	0,14	0,00	0,14	0,10	0,17
2,51 Log ₁₀ копия/mL	0,18	0,00	0,18	0,08	0,19
0 Log ₁₀ копия/mL	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Проби от урина (550 µL)					
5,51 Log ₁₀ копия/mL	0,12	0,03	0,12	0,07	0,14
4,51 Log ₁₀ копия/mL	0,10	0,06	0,12	0,04	0,12
3,51 Log ₁₀ копия/mL	0,14	0,04	0,15	0,03	0,15
2,51 Log ₁₀ копия/mL	0,18	0,00	0,18	0,06	0,19
0 Log ₁₀ копия/mL	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

ЦИТИРАНИ ИЗТОЧНИЦИ

- 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.

ТЪРГОВСКИ МАРКИ















NeuMoDx™ е търговска марка на NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® е регистрирана търговска марка на Roche Molecular Systems, Inc.

STAT-NAT® е регистрирана търговска марка на SENTINEL CH. S.p.A.

Всички останали наименования на продукти, търговски марки и регистрирани търговски марки, фигуриращи в настоящия документ, са собственост на съответните им притежатели.

СИМВОЛИ

СИМВОЛ	ЗНАЧЕНИЕ
	За употреба само по лекарско предписание
	Производител
	Дистрибутор
	Медицинско изделие за <i>in vitro</i> диагностика
	Каталожен номер
	Код на партида
	Направете справка с инструкциите за употреба
	Внимание, консултирайте се с придружаващите документи
	Ограничение за температура
	Да се поддържа суха
	Само за еднократна употреба
	Да не се излага на светлина
	Съдържанието е достатъчно за <n> теста
	Срок на годност



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

www.sentineldiagnostics.com



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

+1 888 301 NMDX (6639)
techsupport@neumodx.com

Докладване на бдителност: www.neumodx.com/contact-us

Патент: www.neumodx.com/patents