REF 202500 NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip

Rx Only

ATTENTION : Pour exportation aux États-Unis uniquement

IVD Pour une utilisation *In Vitro* Diagnostic avec les NeuMoDx™ 288 et NeuMoDx™ 96 Molecular Systems

Il convient de lire attentivement cette notice avant d'utiliser le produit, et d'en suivre les instructions.
La fiabilité des résultats du test ne peut être garantie si l'on ne respecte pas les instructions contenues dans cette notice.
Pour obtenir des instructions détaillées, consultez le Manuel de l'opérateur du NeuMoDx™ 288 Molecular System ; Référence 40600108
Pour obtenir des instructions détaillées, consultez le Manuel de l'opérateur du NeuMoDx™ 96 Molecular System ; Référence 40600317

CE

UTILISATION PRÉVUE

Le NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay est un test automatisé d'amplification de l'acide nucléique *in vitro* pour la quantification et la différenciation de l'ADN du Human betaherpesvirus 6A (HHV-6A) et/ou de l'ADN du Human betaherpesvirus 6B (HHV-6B) dans du plasma EDTA prélevé sur des patients greffés et immunodéprimés[1,2].

Le NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay mis en application sur le NeuMoDx™ 288 Molecular System et le NeuMoDx™ 96 Molecular System comprend l'extraction automatisée de l'ADN afin d'isoler les acides nucléiques cibles du spécimen et la real-time PCR afin de cibler deux régions à haute conservation des génomes du HHV-6A et du HHV-6B.

L'essai est destiné à aider à la surveillance des concentrations de HHV-6A et/ou HHV-6B DNA dans le plasma EDTA. Cet essai est destiné à être utilisé en association avec une présentation clinique et d'autres marqueurs biologiques de progression de la maladie pour la gestion clinique et la surveillance des infections par HHV-6A et/ou HHV-6B.

Le NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay n'est pas destiné à être utilisé comme test de dépistage de la présence d'ADN du HHV-6A et/ou du HHV-6B dans le sang ou les produits sanguins.

Le NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay est destiné à être utilisé par du personnel de laboratoire clinique dûment qualifié et formé aux techniques de real-time PCR et aux procédures de diagnostic in vitro et/ou aux NeuMoDx™ Molecular Systems. Le NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay n'est pas destiné à être utilisé comme un autotest ni sur le lieu des soins.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Le sang total humain collecté dans des tubes de prélèvement de sang stériles contenant de l'EDTA comme agent de coagulation ou dans des tubes de préparation de plasma (PPT) peut être utilisé pour la préparation de plasma. Afin d'initier le test, le plasma dans un tube de spécimen primaire ou secondaire compatible avec le NeuMoDx™ System est chargé sur le NeuMoDx™ System à l'aide d'un support de tubes de spécimen désigné pour commencer le traitement automatisé.

Une aliquote de 550 µL de spécimen de plasma est mélangée avec le NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, et le NeuMoDx™ System effectue automatiquement toutes les étapes requises pour extraire l'acide nucléique cible, préparer l'ADN isolé pour une amplification par real-time PCR, et le cas échéant, amplifier et détecter les produits d'amplification. Le NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay inclut un contrôle des processus d'échantillon d'ADN (SPC1) pour aider à contrôler la présence de substances inhibitrices potentielles ainsi que des défaillances du NeuMoDx™ System ou d'un réactif qui peuvent se rencontrer pendant le processus d'extraction et d'amplification.

L'herpèsvirus humain de type 6 (HHV-6) appartient à la sous-famille des Betaherpesvirus et comprend deux espèces différentes, HHV-6A et HHV-6B[2]. Il s'agit d'un virus à ADN qui présente un tropisme pour les tissus du système nerveux central, les amygdales, les glandes salivaires, les reins, le foie, les ganglions lymphatiques, les cellules endothéliales et les monocytes/macrophages[4]. Le principal syndrome associé à l'infection par HHV-6 est l'exanthème subit (roséole ou 6e maladie)[1,2,3,4]. Cette maladie est presque exclusivement infantile et représente 10 à 30 % des consultations aux urgences concernant les enfants âgés de moins de 2 ans[1]. Comme tous les herpèsvirus, le HHV-6 peut présenter une longue latence à la suite de l'infection initiale, dans les cellules souches hématopoïétiques et les cellules germinales entre autres, permettant ainsi la transmission horizontale et la transmission verticale[2]. Ce phénomène a été décrit dans 0.2 à 1 % de la population générale[4]. Chez l'hôte immunodéprimé, le virus latent peut se réactiver et provoquer une maladie grave, notamment une pneumonie, une atteinte du système nerveux central, et une prise de greffe de moelle osseuse retardée ou maladie/réaction du greffon contre l'hôte. L'incidence de la réactivation du HHV-6 varie de 0 à 80 % environ (30 à 50 % en moyenne) chez les patients ayant subi une greffe d'organe solide ou de moelle osseuse, avec une incidence légèrement supérieure chez les greffés de moelle osseuse[1]. La réactivation du HHV-6A est rarement identifiée après transplantation, contrairement à celle du HHV-6B. La réactivation du HHV-6B affecte environ 40 % des greffés au cours des quelques mois suivant l'intervention. Elle représente la cause infectieuse d'encéphalite la plus fréquente après la greffe de cellules souches hématopoïétiques (1 % des cas). Les patients qui développent une encéphalite liée au HHV-6B présentent généralement une charge virale plasmatique de HHV-6B ≥ 10 000 copies/mL concomitante[3].

PRINCIPES DE LA PROCÉDURE

Le NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay chargé sur le NeuMoDx™ System utilise la NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, les NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators, les NeuMoDx™ HHV-6 External Controls, le NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 et les réactifs généraux NeuMoDx™ pour effectuer l'analyse. Le NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay combine l'extraction, l'amplification et la détection automatisées d'ADN par real-time PCR. Des spécimens de plasma dans des tubes de spécimen primaires ou secondaires compatibles avec le NeuMoDx™ System sont placés dans un support de tubes de spécimen qui est ensuite chargé sur le NeuMoDx™ System en vue de leur traitement. Aucune autre intervention de l'opérateur n'est nécessaire.

Les NeuMoDx™ Systems utilisent une combinaison de chaleur, d'enzyme lytique et de réactifs d'extraction afin de réaliser automatiquement une lyse cellulaire, l'extraction d'ADN et l'élimination des inhibiteurs. Les acides nucléiques libérés sont capturés par des microsphères d'affinité magnétique. Les microsphères, avec les acides nucléiques liés, sont chargées dans la NeuMoDx™ Cartridge lorsque les composants non-ADN non liés sont ultérieurement rincés avec un NeuMoDx™ Wash Reagent et l'ADN lié est élué à l'aide d'un NeuMoDx™ Release Reagent. Les NeuMoDx™

Systems utilisent ensuite l'ADN élué pour réhydrater les réactifs d'amplification lyophilisés SENTINEL CH. S.p.A. brevetés contenant tous les éléments nécessaires à l'amplification par PCR des cibles spécifiques au HHV-6-et de la cible du SPC1. Lors de la reconstitution des réactifs de PCR lyophilisés, le NeuMoDx™ System distribue le mélange prêt pour PCR préparé dans la NeuMoDx™ Cartridge. L'amplification et la détection des séquences d'ADN de contrôle et cibles (le cas échéant) sont réalisées dans la zone de chambre de PCR de la NeuMoDx™ Cartridge. La NeuMoDx™ Cartridge est également conçue pour contenir l'amplicon après la real-time PCR, essentiellement en éliminant le risque de contamination par post-amplification.

Les cibles génomiques pour NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip sont les gènes U31 et U67 des génomes du HHV-6A et du HHV-6B. Ces cibles amplifiées sont détectées en temps réel en utilisant une chimie de sonde d'hydrolyse (communément appelée chimie TaqMan®) en utilisant des molécules de sonde oligonucléotidique fluorogène spécifiques aux amplicons pour leurs cibles respectives. Les sondes TaqMan® sont constituées d'un fluorophore fixé de manière covalente à l'extrémité 5' de la sonde oligonucléotidique et d'un quencher à l'extrémité 3'. Tandis que la sonde est intacte, le fluorophore et le quencher sont à proximité, ce qui permet à la molécule quencher de supprimer la fluorescence émise par le fluorophore par le biais d'un FRET (Förster Resonance Energy Transfer). Les sondes TaqMan® sont conçues de façon à procéder au recuit dans une région d'ADN amplifiée par un ensemble spécifique d'amorces. Alors que la polymérase d'ADN Taq étend l'amorce et synthétise le nouveau brin, l'activité d'exonucléase 5' à 3' de la polymérase d'ADN Taq dégrade la sonde qui a subi le recuit selon le modèle. La dégradation de la sonde libère le fluorophore et rompt l'étroite proximité du quencher, en surmontant ainsi l'effet de suppression dû au FRET et en permettant la détection de la fluorescence du fluorophore. Le signal fluorescent obtenu détecté dans le cycleur thermique par PCR quantitative du NeuMoDx™ System est directement proportionnel au fluorophore libéré et il peut être lié à la quantité d'ADN cible présente[5].

Des sondes TaqMan® marquées avec des fluorophores à l'extrémité 5' et des quenchers à l'extrémité 3', sont utilisées pour détecter le HHV-6A DNA, le HHV-6B DNA et le SPC1 DNA. Le logiciel du NeuMoDx™ System contrôle le signal fluorescent émis par les sondes TaqMan® à la fin de chaque cycle d'amplification. Lorsque l'amplification est terminée, le logiciel du NeuMoDx™ System analyse les données et rend compte d'un résultat (POSITIVE [POSITIF] / NEGATIVE [NÉGATIF] / INDETERMINATE [INDÉTERMINÉ] / UNRESOLVED [NON RÉSOLU] / NO RESULT [PAS DE RÉSULTAT]). Si un résultat est positif et que la concentration calculée est dans les limites de quantification, le logiciel du NeuMoDx™ System fournit également une valeur quantitative associée à l'échantillon ou des rapports si la concentration calculée est en dehors de la plage linéaire.

RÉACTIFS/CONSOMMABLES

Matériels fournis

REF	Contenu	Tests par unité	Tests par emballage
202500	NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip *Réactifs de PCR lyophilisés contenant des sondes et des amorces TaqMan® spécifiques au HHV-6A, des sondes et des amorces TaqMan® spécifiques au HHV-6B, ainsi que des sondes et des amorces TaqMan® spécifiques au SPC1.*	16	96

Réactifs et consommables requis mais non fournis (disponibles séparément du NeuMoDx)

REF	Contenu
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate *Particules paramagnétiques déshydratées, enzyme lytique et contrôles des processus d'échantillon.*
801000	NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators *Ensembles à usage unique d'étalons haut et bas déshydratés HHV-6A et HHV-6B pour établir une courbe standard.*
901000	NeuMoDx™ HHV-6 External Controls *Ensembles à usage unique de contrôles déshydratés positifs HHV-6A et HHV-6B et de contrôles négatifs pour établir une validité quotidienne du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay*
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Pointes CO-RE Hamilton (300 µL) avec filtres
235905	Pointes CO-RE Hamilton (1000 µL) avec filtres

Pour plus de détails sur les réactifs et les consommables, veuillez consulter la notice associée

Instrumentation requise

NeuMoDx™ 288 Molecular System (REF 500100) ou NeuMoDx™ 96 Molecular System (REF 500200).
NeuMoDx System Software version 1.9.2.6 ou ultérieure.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- La NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip est destinée à une utilisation diagnostique in vitro avec des NeuMoDx™ Systems uniquement.
- Lire toutes les instructions contenues dans la notice du kit avant d'effectuer le test.
- Ne pas utiliser les réactifs ou consommables après la date d'expiration indiquée.
- Ne pas utiliser de réactifs si le joint de sécurité est cassé ou si l'emballage est endommagé à l'arrivée.

- Ne pas utiliser de consommables ou de réactifs si l'enveloppe de protection est ouverte ou cassée à l'arrivée.
- Ne pas mélanger de réactifs pour l'amplification provenant d'autres kits du commerce.
- Ne pas réutiliser.
- Maintenir toutes les NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips protégées de la lumière et de l'humidité dans leurs enveloppes en aluminium.
- Un étalonnage de test valable, généré en traitant des étalons haut et bas provenant des NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators (REF 801000) doit être disponible avant que les résultats de test puissent être générés pour des échantillons cliniques.
- Les NeuMoDx™ HHV-6 External Controls (REF 901000) doivent être traités toutes les 24 heures tout au long du test avec la NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip.
- Le volume de spécimen minimum dépend de la taille du tube, du support spécimen, et du volume de spécimen tel que défini ci-dessous. Un volume inférieur au minimum spécifié peut donner lieu à une erreur « Quantity Not Sufficient » (Quantité insuffisante).
- L'utilisation de spécimens conservés à des températures inadéquates ou plus longtemps que spécifié peut entraîner des résultats erronés ou non valables.
- Éviter la contamination microbienne et de désoxyribunucléase (DNase) de tous les réactifs et consommables. L'utilisation de pipettes de transfert jetables stériles sans DNase-est recommandée en cas d'utilisation de tubes de spécimen secondaires. Utiliser une nouvelle pipette pour chaque spécimen.
- Afin d'éviter la contamination, ne pas manipuler ni casser une NeuMoDx™ Cartridge après l'amplification. Ne pas récupérer les NeuMoDx™ Cartridges dans le récipient à déchets présentant un risque biologique (NeuMoDx™ 288 Molecular System) ou la poubelle à déchets présentant un risque biologique (NeuMoDx™ 96 Molecular System) quelles que soient les circonstances. La NeuMoDx™ Cartridge est conçue pour éviter la contamination.
- Dans des cas où des tests de PCR à tube ouvert sont également réalisés par le laboratoire, il convient de veiller à s'assurer que la NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, les consommables et réactifs supplémentaires requis pour les tests, l'équipement de protection individuelle comme les gants et les blouses de laboratoires, ainsi que le NeuMoDx™ System ne sont pas contaminés.
- Il convient de porter des gants en nitrile, non poudrés et propres lors de la manipulation de réactifs et consommables NeuMoDx™. Il convient de veiller à ne pas toucher la surface supérieure de la NeuMoDx™ Cartridge, la surface du film d'étanchéité de la NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip ou de la NeuMoDx™ Extraction Plate, ou la surface supérieure du récipient de NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 ; la manipulation des consommables et réactifs doit être effectuée en touchant uniquement les surfaces latérales.
- Les fiches de données de sécurité (FDS) sont fournies pour chaque réactif (le cas échéant) sur www.neumodx.com/client-resources.
- Une barre verticale dans la marge du texte indique des modifications par rapport à la version précédente de la notice.
- Se laver minutieusement les mains après avoir effectué le test.
- Ne pas utiliser la pipette avec la bouche. Ne pas fumer, boire, ou manger dans les zones où des échantillons ou réactifs sont manipulés.
- Toujours manipuler les spécimens comme s'ils étaient infectieux et conformément aux procédures de sécurité du laboratoire, telles que décrites dans la Norme OSHA relative aux pathogènes hématogènes[6]. Le Niveau de biosécurité 2[7] ou d'autres pratiques de biosécurité appropriées[8,9] doivent être utilisés pour les matériaux qui contiennent ou sont suspectés de contenir des agents infectieux.
- Jeter les réactifs et déchets inutilisés conformément aux réglementations nationales, fédérales, provinciales, de l'État et locales. Suivre les recommandations de la Fiche de données de sécurité (FDS).

STOCKAGE, MANIPULATION ET STABILITÉ DU PRODUIT

- Les NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips sont stables dans l'emballage primaire à une température comprise entre 15 °C et 30 °C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette de produit immédiate.
- Une NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip chargée dans le NeuMoDx™ System est stable pendant 32 jours ; le logiciel du NeuMoDx™ System demandera la suppression des bandes de test qui ont été utilisées à bord du NeuMoDx™ System pendant plus de 32 jours et de nouvelles NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips devront être ouvertes (extraire les bandes de l'enveloppe) puis chargées sur le NeuMoDx™ System. Ne pas enlever le film d'aluminium de la bande pendant le chargement sur le support de bandes de test.
- Les étalons et contrôles NeuMoDx™ HHV-6 sont non infectieux, mais ils doivent être jetés dans les déchets de laboratoire présentant un risque biologique après l'utilisation, car ils contiendront un matériel cible qui peut provoquer une contamination s'il n'est pas manipulé correctement.

COLLECTE, TRANSPORT ET STOCKAGE DE SPÉCIMENS

1. Manipuler tous les spécimens comme s'ils étaient capables de transmettre des agents infectieux.
2. Ne pas congeler les spécimens de sang total ou de plasma stockés dans des tubes primaires.
3. Pour préparer des spécimens de plasma, du sang total doit être collecté dans des tubes stériles en utilisant de l'EDTA comme anticoagulant. Il convient de suivre les instructions du fabricant du tube de prélèvement.
4. Le sang total collecté dans les dispositifs indiqués ci-dessus peut être stocké et/ou transporté pendant un maximum de 24 heures à une température comprise entre 2 °C et 8 °C avant la préparation du plasma. La préparation d'échantillons doit être effectuée selon les instructions du fabricant.
5. Le plasma préparé peut être stocké sur le NeuMoDx™ System pendant un maximum de 24 heures avant le traitement. Si un temps de stockage supplémentaire est nécessaire, il est recommandé que les spécimens soient réfrigérés ou congelés comme des aliquotes secondaires.
6. Les spécimens de plasma préparés ne doivent pas être stockés plus de 8 jours avant le test entre 2 °C et 8 °C et pas plus de 24 heures à température ambiante.
7. Les spécimens préparés peuvent être stockés à < -20 °C jusqu'à 8 semaines avant le traitement ; les échantillons ne doivent pas être soumis à plus de 2 cycles de congélation/décongélation avant l'utilisation :
    a. Si les échantillons sont congelés, les laisser décongeler totalement à température ambiante (entre 15 °C et 30 °C) avant le test ; passer au vortex pour générer un échantillon uniformément réparti.

b. Une fois que les échantillons congelés sont décongelés, le test doit avoir lieu dans les 24 heures.

8. Si des spécimens sont expédiés, ils doivent être emballés et marqués conformément aux réglementations nationales et/ou internationales applicables.
9. Étiqueter clairement les spécimens et indiquer lesquels sont destinés à un test HHV-6A et/ou HHV-6B.
10. Passer à la section *Préparation du test*.

Le processus total pour la mise en application du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay est résumé dans la *Figure 1*.

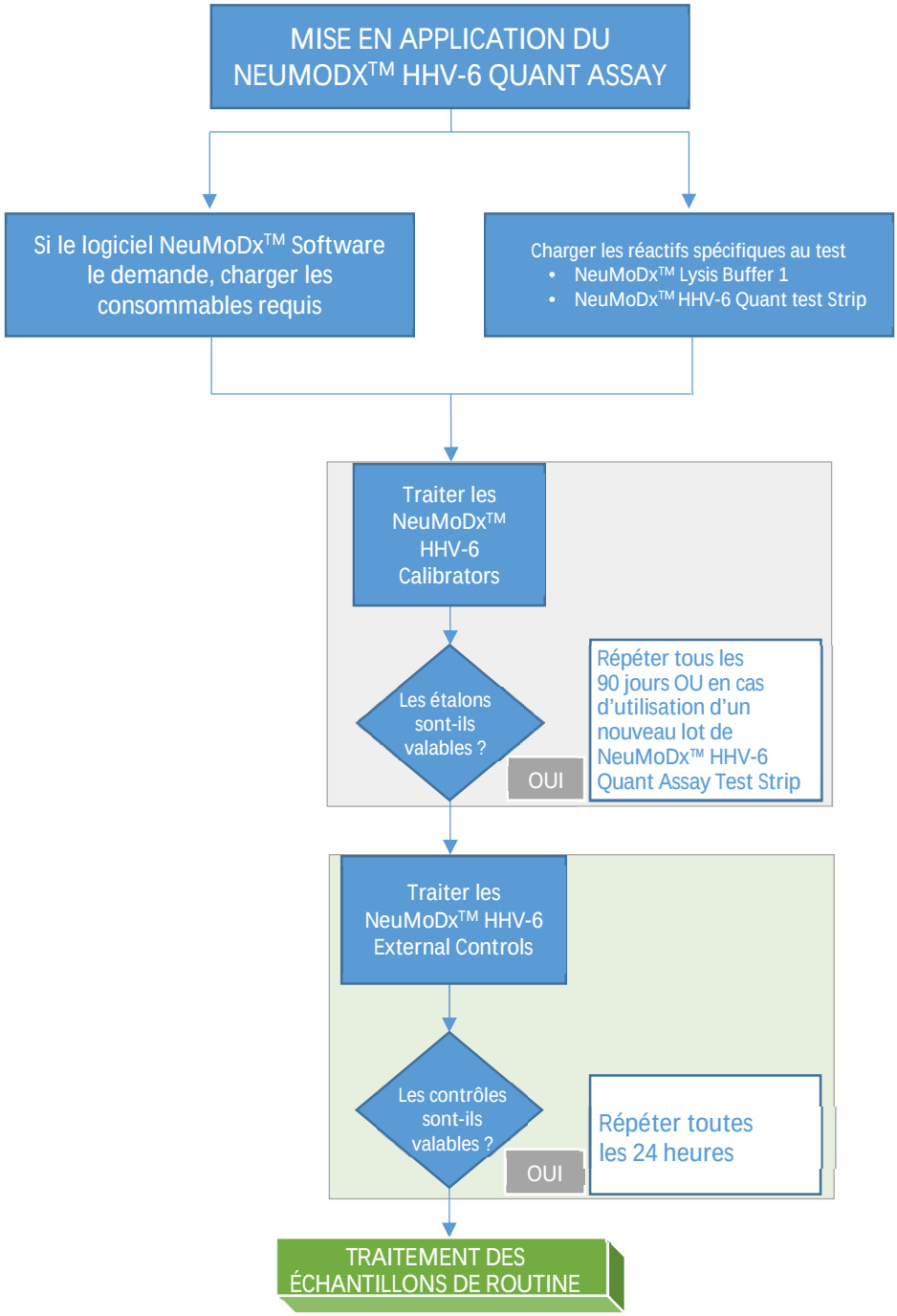

Figure 1 : Organigramme de mise en application du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.

NOTICE D'UTILISATION

Préparation de test

Pour les échantillons de plasma, le NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay peut être traité directement à partir de tubes de prélèvement de sang primaires ou à partir d'aliquotes de spécimen dans des tubes secondaires.

1. Appliquer une étiquette à code-barres sur un tube de spécimen compatible avec le NeuMoDx™ System. Le tube de prélèvement de sang primaire peut être étiqueté et placé directement dans un support de tubes de spécimen approprié, après une centrifugation conforme aux instructions du fabricant.
2. En cas de test des spécimens de plasma dans le tube de prélèvement primaire, placer le tube à code-barres dans un support de tubes de spécimen et s'assurer que le bouchon est retiré avant le chargement sur le NeuMoDx™ System. Les volumes minimum *au-dessus* de la couche de gel/leucoplaquettaire sont définis ci-dessous et seront respectés si des spécimens sont prélevés et traités selon les instructions du fabricant de tubes. Les performances ne sont pas garanties pour les spécimens qui ne sont pas prélevés correctement.
3. Pour les échantillons de plasma dans un tube secondaire, transférer une aliquote du spécimen dans le tube de spécimen à code-barres compatible avec le NeuMoDx™ System selon les volumes définis ci-dessous :

Support de tube de spécimen	Taille de tube	Volume de spécimen minimum requis
Support de tubes de spécimen à 32 tubes	Diamètre de 11–14 mm par hauteur de 60–120 mm	750 µL
Support de tubes de spécimen à 24 tubes	Diamètre de 14.5–18 mm par hauteur de 60–120 mm	1 100 µL
Support de tubes de spécimen à faible volume	Tube de microcentrifugation à fond conique 1.5 mL	650 µL

Fonctionnement du NeuMoDx™ System

Pour obtenir des instructions détaillées, consultez le manuel de l'opérateur des NeuMoDx™ 288 et 96 Molecular Systems (Références 40600108 et 40600317)

1. Charger la demande de test sur le NeuMoDx™ System selon le type de tube souhaité.
2. Couper les enveloppes en aluminium des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips à l'endroit indiqué par les encoches latérales.
3. Retirer les bandes des enveloppes juste avant utilisation.
4. Avant d'utiliser les enveloppes, toujours s'assurer que l'enveloppe soit bien fermée et qu'elle contienne le sachet de produit déshydratant. Utiliser uniquement les produits dont les enveloppes sont intactes.
5. Jeter les enveloppes en aluminium et leur contenu si les sachets de produit déshydratant passent de orange à vert.
6. Remplir un ou plusieurs supports de NeuMoDx™ System Test Strips avec une ou plusieurs NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips et utiliser l'écran tactile pour charger le(s) support(s) de bandes de test dans le NeuMoDx™ System.
7. À l'invite du logiciel du NeuMoDx™ System, ajouter les consommables nécessaires sur les supports de consommables du NeuMoDx™ System et utiliser l'écran tactile pour charger le(s) support(s) dans le NeuMoDx™ System.
8. À l'invite du logiciel du NeuMoDx™ System, remplacer le NeuMoDx™ Wash Reagent et le NeuMoDx™ Release Reagent, vider la poubelle à amorces, le récipient à déchets présentant un risque biologique (NeuMoDx 288 Molecular System uniquement), la poubelle à pointes (NeuMoDx™ 96 Molecular System uniquement) ou la poubelle à déchets représentant un risque biologique (NeuMoDx™ 96 Molecular System uniquement), le cas échéant.
9. À l'invite du logiciel du NeuMoDx™ System, traiter les étalons (REF 801000) et/ou les contrôles externes (REF 901000) selon le cas. Vous trouverez d'autres informations concernant les étalons et contrôles dans la section Traitement des résultats.
10. Charger le(s) tube(s) d'étalon/contrôle dans un support à 32 tubes standard et s'assurer que les bouchons sont retirés de tous les tubes.
11. Placer le(s) support(s) de tubes de spécimen sur l'étagère de l'Autochargeur et utiliser l'écran tactile pour charger le(s) support(s) dans le NeuMoDx™ System. Cela lancera le traitement des spécimens chargés pour le(s) test(s) identifié(s), puisqu'une demande de test valable est présente dans le système.

LIMITATIONS

- La NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip ne peut être utilisée que sur les NeuMoDx™ Systems.
- Les performances de la NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip ont été établies pour les spécimens de plasma préparés à partir de sang total et prélevés avec de l'EDTA en guise d'anticoagulant. L'utilisation de la NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip avec d'autres types de spécimens n'a pas été évaluée et les caractéristiques de performance du test sont inconnues pour les autres types de spécimens.
- Le NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay ne doit pas être utilisé avec des échantillons provenant d'humains héparinisés.
- Puisque la détection de HHV-6A et/ou de HHV-6B DNA dépend du nombre d'organismes présents dans l'échantillon, la fiabilité des résultats dépend du prélèvement, de la manipulation et du stockage corrects des spécimens.
- Des résultats erronés peuvent se produire en cas de prélèvement de spécimens, de manipulation, de stockage erronés, d'erreur technique, ou de mélange de tubes de spécimen. En outre, des résultats faux négatifs peuvent se produire si le nombre de particules virales dans l'échantillon est inférieur à la limite de détection du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.
- Le fonctionnement du NeuMoDx™ System est limité à l'utilisation par un personnel dûment formé à l'utilisation du NeuMoDx™ System.
- Si les cibles du HHV-6A, du HHV-6B et du SPC1 ne s'amplifient pas, un résultat non valable (Indéterminé ou Non résolu) sera rapporté et le test devra être répété.
- En cas d'erreur du système avant la fin du traitement des échantillons, « No Result » (Pas de résultat) sera rapporté et le test devra être répété.
- Si le résultat du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay est Positive (Positif), mais que la valeur de quantification est en dehors des limites de quantification, le NeuMoDx™ System rapportera si le HHV-6A et/ou HHV-6B DNA détecté était inférieur à la limite inférieure de quantification (LLoQ) ou supérieur à la limite supérieure de quantification (ULoQ).
- Si le HHV-6A et/ou HHV-6B DNA détecté est supérieur à l'ULoQ, le NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay peut être répété avec une aliquote diluée du spécimen d'origine. Une dilution de 1:100 ou 1:1000 dans le plasma négatif à le HHV-6A et HHV-6B DNA ou un diluant Basematrix 53 (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA) est recommandée. Le système calculera automatiquement la concentration du spécimen d'origine comme suit : Concentration de spécimen d'origine = log10 (facteur de dilution) + concentration rapportée de l'échantillon dilué, tant que le facteur de dilution a été correctement sélectionné dans le logiciel avant la répétition.
- La présence occasionnelle d'inhibiteurs de PCR dans le plasma peut donner lieu à une erreur de quantification du système ; si cela se produit, il est recommandé de répéter le test avec le même spécimen dilué dans du Basematrix à 1:10 ou 1:100.
- Un résultat positif n'indique pas nécessairement la présence d'organismes viables. Cependant, un résultat positif indique la présence de HHV-6A et/ou de HHV-6B DNA.
- La suppression ou les mutations dans les régions conservées ciblées par le NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay peuvent affecter la détection ou pourraient donner lieu à un résultat erroné lors de l'utilisation de la NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip.
- Les résultats du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay doivent être utilisés comme complément aux observations cliniques et autres informations à la disposition du médecin ; le test n'est pas destiné à diagnostiquer l'infection.
- Les bonnes pratiques de laboratoire, y compris les changements de gants entre les manipulations de spécimens de patients, sont recommandées afin d'éviter toute contamination.

TRAITEMENT DES RÉSULTATS

Les résultats disponibles peuvent être visualisés ou imprimés à partir de l'onglet « Results » (Résultats) dans la fenêtre Results (Résultats) sur l'écran tactile du NeuMoDx™ System. Les résultats du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay sont automatiquement générés par le logiciel du NeuMoDx™ System à l'aide de l'algorithme de décision et des paramètres de traitement des résultats spécifiés dans le NeuMoDx™ HHV-6 Assay Definition File. Un résultat du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay peut être rapporté comme Négatif, Positif avec une concentration de HHV-6A et/ou de HHV-6B rapportée, Positif au-dessus de l'ULoQ, Positif en deçà de la LLoQ, Indéterminé (IND), Non résolu (UNR), ou Pas de résultat (NR) sur la base de l'état d'amplification du contrôle de traitement d'échantillon et de la cible. Les résultats sont rapportés d'après l'algorithme de traitement des résultats de l'ADF, récapitulés ci-dessous dans le *Tableau 1.*

Les résultats obtenus avec la NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip doivent être interprétés en conjonction avec d'autres résultats cliniques et de laboratoire.

Tableau 1 : Récapitulatif de l'interprétation des résultats du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

Résultat	HHV-6A/HHV-6B	Contrôle de processus d'échantillon (SPC1)	Interprétation du résultat
Positif avec concentration rapportée	Amplifié 2.30 ≤ [HHV-6A] ≤ 6.0 $\log_{10}$ copies/mL	Amplifié ou Non amplifié	HHV-6A DNA détecté dans la plage quantitative
	Amplifié 2.30 ≤ [HHV-6B] ≤ 6.0 $\log_{10}$ IU/mL	Amplifié ou Non amplifié	HHV-6B DNA détecté dans la plage quantitative
Positif, au-dessus de la limite supérieure de quantification [ULoQ]	Amplifié [HHV-6A] > 6.0 $\log_{10}$ copies/mL	Amplifié ou Non amplifié	HHV-6A DNA détecté au-dessus de la plage quantitative
	Amplifié [HHV-6B] > 6.0 $\log_{10}$ IU/mL	Amplifié ou Non amplifié	HHV-6B DNA détecté au-dessus de la plage quantitative
Positif, en deçà de la limite inférieure de quantification [LLoQ]	Amplifié [HHV-6A] < 2.30 $\log_{10}$ copies/mL	Amplifié ou Non amplifié	HHV-6A DNA détecté en deçà de la plage quantitative

Résultat	HHV-6A/HHV-6B	Contrôle de processus d'échantillon (SPC1)	Interprétation du résultat
	Amplifié [HHV-6B]< 2.30 log_{10} IU/mL	Amplifié ou Non amplifié	HHV-6B DNA détecté en deçà de la plage quantitative
Négatif*	Non amplifié	Amplifié	HHV-6A/HHV-6B DNA non détecté
Indéterminé	Non Amplifié, Erreur système détectée, Traitement d'échantillon achevé		Tous les résultats cibles étaient invalides ; retester l'échantillon†
Pas de Résultat	Non Amplifié, Erreur système détectée, Traitement d'échantillon avorté		Le traitement de l'échantillon a été avorté ; retester l'échantillon†
Non résolu	Non amplifié, Aucune erreur système détectée		Tous les résultats cibles étaient invalides ; retester l'échantillon†

*Comme pour d'autres tests, des résultats négatifs n'excluent pas une infection par le HHV-6A et/ou le HHV-6B.

†Le NeuMoDx™ System est équipé d'une fonction de retraitement/répétition automatique que l'utilisateur final peut choisir d'utiliser afin de s'assurer qu'un résultat IND/NR/UNR est automatiquement retraité afin de minimiser les retards dans le compte-rendu de résultats.

Calcul de test

1. Pour les échantillons dans la plage de quantification du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, la concentration de HHV-6A DNA et de HHV-6B DNA dans les échantillons est calculée en utilisant les courbes standard mémorisées en combinaison avec les coefficients d'étalonnage.
   a. Un coefficient d'étalonnage est calculé sur la base des résultats des NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators traités pour établir la validité de la courbe standard, pour un lot particulier de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, sur un NeuMoDx™ System spécifique et pour chaque cible.
   b. Le coefficient d'étalonnage est incorporé dans la détermination finale de la concentration de HHV-6A DNA et de HHV-6B DNA.
2. Les résultats du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay sont rapportés en Log_{10} copies/mL et copies/mL pour la cible du HHV-6A, et en Log_{10} IU/mL et IU/mL pour la cible du HHV-6B.
3. La quantification résultante des échantillons inconnus est traçable selon le panel de vérification EDX HHV-6A (Exact Diagnostics) quantifié par PCR numérique à gouttelettes (ddPCR) et selon le 1st WHO International Standard for HHV-6B virus DNA (National Institute for Biological Standards and Control, code NIBSC : 15/266).

Étalonnage de test

Un étalonnage valable basé sur la courbe standard est requis pour quantifier le HHV-6A DNA et/ou le HHV-6B DNA dans les spécimens. Afin de générer des résultats valables, un étalonnage de test doit être réalisé pour le HHV-6A et le HHV-6B à l'aide des étalons fournis par NeuMoDx™ Molecular, Inc.

Étalons

1. Les NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators sont fournis dans un kit (REF 801000) et se composent d'un culot déshydraté de HHV-6A DNA et de HHV-6B DNA de synthèse, ainsi que d'un tampon spécifique.
2. Un ensemble de HHV-6 calibrators doit être traité avec chaque nouveau lot de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips, si un nouveau HHV-6 Assay Definition File est chargé sur le NeuMoDx™ System, si l'ensemble actuel d'étalons a passé la période de validité (actuellement établie à 90 jours) ou si le logiciel du NeuMoDx™ System a été modifié.
3. Le logiciel du NeuMoDx™ System informera l'utilisateur lorsque les étalons doivent être traités ; un nouveau lot de bandes de test ne pourra pas être utilisé pour tester tant que les étalons n'auront pas été traités avec succès.
4. Si un nouvel ensemble d'étalons HHV-6 doit être traité, il convient de lire toutes les instructions contenues dans la notice des NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators avant de réaliser le test.
5. La validité de l'étalonnage est établie comme suit :
   a. Deux coefficients d'étalonnage doivent être générés, un pour le HHV-6A et un pour le HHV-6B en traitant un ensemble de deux étalons pour chaque cible – haut et bas – afin d'établir la validité de chaque courbe.
   b. Afin de générer des résultats valables, au moins 2 des 3 réplicats doivent donner des résultats dans des paramètres prédéfinis. La cible nominale de l'étalon bas est de 3.0 log10 copies/mL et la cible nominale de l'étalon haut est de 5.0 log10 copies/mL pour l'ensemble d'étalons HHV-6A, tandis que la cible nominale de l'étalon bas est de 3.0 log10 IU/mL et la cible nominale de l'étalon haut est de 5.0 log10 IU/mL pour l'ensemble d'étalons HHV-6B.
   c. Un coefficient d'étalonnage est calculé pour tenir compte de la variation attendue entre les lots de bandes de test ; ce coefficient d'étalonnage est utilisé dans la détermination de la concentration de HHV-6A et/ou de HHV-6B finale.
6. Si un ou les deux étalons échoue(nt) au contrôle de validité, répéter le traitement du (des) étalon(s) échoué(s) en utilisant un nouveau flacon. Si un étalon échoue en matière de validité, il est possible de seulement répéter l'étalon échoué puisque le système ne demande pas à l'utilisateur de réutiliser les deux étalons.
7. Si le(s) étalon(s) échoue(nt) au contrôle de la validité une seconde fois consécutive, contactez l'assistance technique QIAGEN.

Contrôle qualité

Les réglementations locales spécifient généralement que le laboratoire est responsable des procédures de contrôle qui surveillent la précision et l'exactitude du processus analytique complet, et doivent établir le nombre, le type et la fréquence des matériaux de contrôle de test en utilisant des spécifications de performances vérifiées pour un système de test non modifié, approuvé.

Contrôles externes

1. Les HHV-6A et HHV-6B External Controls (REF 901000) sont fournis par NeuMoDx™. Les contrôles positifs contiennent un culot déshydraté de HHV-6A et HHV-6B DNA de synthèse. Le contrôle négatif est un tampon.
2. Des contrôles positifs et négatifs externes doivent être traités une fois toutes les 24 heures. En l'absence d'un ensemble de contrôles externes valables, le logiciel du NeuMoDx™ System invitera l'utilisateur à traiter ces contrôles avant que les résultats des échantillons puissent être rapportés.
3. Si des contrôles externes sont requis, préparer des contrôles positifs et négatifs comme indiqué dans la notice des contrôles externes HHV-6 avant d'effectuer le test.
4. À l'aide de l'écran tactile et d'un support de tubes de spécimen placé sur l'étagère de l'Autochargeur, charger les contrôles positifs et négatifs dans le NeuMoDx™ System. Le NeuMoDx™ System reconnaîtra le code-barres et commencera le traitement des tubes de contrôle externe sauf si les réactifs ou consommables requis pour le test ne sont pas disponibles.
5. La validité des contrôles externes sera évaluée par le NeuMoDx™ System sur la base des résultats attendus. Le contrôle positif doit fournir un résultat Positif au HHV-6A et au HHV-6B, et le contrôle négatif doit fournir un résultat négatif au HHV-6A et au HHV-6B.
6. Un traitement du résultat contradictoire pour les contrôles externes doit être effectué comme suit :
    a. Un résultat de test positif rapporté pour un échantillon de contrôle négatif indique un problème de contamination du spécimen et les procédures de contrôle qualité du laboratoire doivent être examinées afin d'en déterminer la cause. S'assurer d'utiliser des surfaces différentes pour la préparation des échantillons, la manipulation des contrôles et la Real-Time PCR. Veuillez consulter le *Manuel de l'opérateur* du *NeuMoDx 288 ou du 96 Molecular System* pour en savoir plus sur le dépannage.
    b. Un résultat de test négatif rapporté pour un échantillon de contrôle positif peut indiquer un problème lié à un réactif ou à un instrument.
    c. Dans l'un des cas ci-dessus, ou en cas de résultat Pas de Résultat (NR), Non résolu (UNR) ou Indéterminé (IND), répéter le(s) contrôle(s) échoué(s) avec un nouveau flacon fraîchement préparé du (des) contrôle(s) ayant échoué au test de validité.
    d. Si des NeuMoDx™ HHV-6 External Controls positifs continuent de donner un résultat Négatif, contacter l'assistance technique QIAGEN.
    e. Si les NeuMoDx™ HHV-6 External Controls négatifs continuent de donner un résultat Positif, tenter d'éliminer toutes les sources de contamination potentielle, y compris en remplaçant TOUS les réactifs avant de contacter l'assistance technique QIAGEN.
7. Si les contrôles externes ne donnent pas les résultats attendus, il est nécessaire de répéter les contrôles positifs et négatifs. Les échantillons ne seront pas traités tant qu'un ensemble valable de contrôles externes n'aura pas été traité par le système. Dans l'éventualité où les échantillons sont en cours de traitement lorsque les contrôles externes expirent, le système réclamera le traitement d'un ensemble valable de contrôles externes. Si l'ensemble de contrôles externes ne donne pas de résultats valables, les résultats des échantillons ne seront pas rapportés.

Contrôles (internes) des processus d'échantillon

Un contrôle des processus d'échantillon (SPC1) exogène est incorporé dans la NeuMoDx™ Extraction Plate et subit l'intégralité du processus d'extraction de l'acide nucléique et l'amplification par real-time PCR avec chaque échantillon/contrôle/étalon. Les amorces et la sonde spécifiques au SPC1 sont incluses dans chaque NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip permettant la détection de la présence de SPC1 avec HHV-6A et/ou HHV-6B DNA cible (s'il est présent) par le biais d'une real-time PCR multiplex. La détection d'une amplification de SPC1 permet au logiciel du NeuMoDx™ System de contrôler l'efficacité des processus d'extraction d'ADN et d'amplification par PCR.

Résultats non valables

Si un NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay réalisé sur le NeuMoDx™ System échoue à produire un résultat valable, il sera rapporté comme Indéterminé (IND), Pas de résultat (NR) ou Non résolu (UNR) selon le type d'erreur survenue. Le test devra être répété pour obtenir un résultat valable.

Un résultat Indéterminé sera rapporté si une erreur du NeuMoDx™ System est détectée pendant le traitement de l'échantillon. Si un résultat IND est rapporté, un nouveau test est recommandé.

Un résultat Pas de résultat sera rapporté si une erreur du NeuMoDx System est détectée et que le traitement de l'échantillon est interrompu. Si un résultat Pas de résultat est rapporté, un nouveau test est recommandé.

Un résultat UNR sera rapporté si aucune cible ni aucune amplification valable du HHV-6A DNA, du HHV-6B DNA ou du SPC1 ne sont détectées, ce qui indique un échec possible du réactif ou la présence d'inhibiteurs. Si un résultat UNR est rapporté, un nouveau test peut être effectué comme première étape. Si le nouveau test échoue, un spécimen dilué peut être utilisé pour atténuer les effets d'une éventuelle inhibition d'échantillon (voir la rubrique Limitations pour plus d'instructions).

Voir le Manuel de l'opérateur du NeuMoDx 288 Molecular System (Réf. : 40600108) ou le Manuel de l'utilisateur du NeuMoDx 96 Molecular System (Réf. : 40600317) pour consulter la liste des codes d'erreurs pouvant être associés à des résultats non valables.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES[10,11,15]

Sensibilité analytique – Limite de détection[12]

La sensibilité analytique du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay a été caractérisée en testant une série de dilutions du panel de vérification EDX HHV-6A (Exact Diagnostics) et du panel de vérification HHV-6B (Exact Diagnostics, étalonnés selon le 1st WHO International Standard for HHV-6B, 15/266), dans les échantillons de plasma négatifs au HHV-6A/HHV-6B, afin de déterminer la limite de détection (LoD) sur les NeuMoDx™ Systems. La limite de détection se définit comme la concentration minimale détectable avec un taux de détection de 95 %. Elle est calculée au moyen d'un modèle probit appliqué aux données expérimentales, avec un intervalle de confiance (IC) à 95 %. L'étude a été réalisée sur 3 jours sur de multiples systèmes avec de multiples lots de réactifs NeuMoDx™. Chaque système a traité 42 réplicats à chaque niveau de dilution (échantillons positifs) et 8 réplicats pour les échantillons négatifs par jour. Les taux de détection sont représentés dans le *Tableau 2*.

Tableau 2 : Taux de détection de positifs pour la détermination de la LoD du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

HHV-6A					HHV-6B				
Concentration cible [copies/mL]	Concentration cible [log_{10} copies/mL]	Nombre de tests valables	Nombre de positifs	Taux de détection	Concentration cible [IU/mL]	Concentration cible [log_{10} IU/mL]	Nombre de tests valables	Nombre de positifs	Taux de détection
200	2.30	45	44	97.8%	200	2.30	46	44	95.7%
80	1.90	45	32	71.1%	100	2.00	42	24	57.1%
60	1.78	43	26	60.5%	80	1.90	44	19	43.2%
40	1.60	42	10	23.8%	60	1.78	43	14	32.6%
20	1.30	44	1	2.3%	40	1.60	43	5	11.6%
0	0	47	0	0%	0	0	48	0	0%

La LoD du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay a été déterminée au moyen d'une analyse Probit à 123.5 copies/mL (2.05 log_{10} copies/mL) (intervalle de confiance à 95 % : 102.1 à 145.0 copies/mL) pour HHV-6A et à 178.2 IU/mL (2.25 log_{10} IU/mL) (intervalle de confiance à 95 % : 151.3 à 205.0 IU/mL) pour HHV-6B.

Sensibilité analytique – Limite inférieure de quantification (LLoQ) et Limite supérieure de quantification (ULoQ)[12]

La limite inférieure de quantification (LLoQ) et la limite supérieure de quantification (ULoQ) sont définies comme le niveau cible le plus bas et le niveau cible supérieur auxquels > 95 % de détection sont obtenus ET la TAE est ≤ 1.0. Afin de déterminer la LLoQ et l'ULoQ, l'erreur analytique totale (TAE) a été calculée pour chacun des niveaux cibles de HHV-6A et de HHV-6B qui ont rapporté une détection > 95 % au test de la limite de détection. La TAE est définie comme suit :

$$TAE = |Bias| + 2 * SD$$ [Statistiques de Westgard]

Le biais est la valeur absolue de la différence entre la moyenne de concentration calculée et la concentration attendue. SD se réfère à l'écart-type de la valeur quantifiée de l'échantillon.

Les résultats compilés pour les 5 niveaux de spécimens de plasma HHV-6A/HHV-6B utilisés dans l'étude LLoQ/ULoQ sont indiqués dans les Tableaux 3 et 4. Sur la base de ces ensembles de données et de la LoD précédemment déterminée, la LLoQ et l'ULoQ ont été déterminées comme étant de 200 copies/mL (2.30 log_{10} copies/mL) et $1x10^6$ copies/mL pour HHV-6A, et 200 IU/mL (2.30 log^{10} IU/mL) et $1x10^6$ IU/mL pour HHV-6B.

Tableau 3 : NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip ; ULoQ et LLoQ du HHV-6A, avec biais et TAE

Conc. cible [copies/mL]	Conc. cible [log_{10} copies/mL]	Conc. moyenne [log_{10} copies/mL]	Détection (%)	SD	Biais	TAE
10^6	6.00	5.76	100%	0.34	0.24	0.91
200	2.30	2.34	97.8%	0.30	0.03	0.63
80	1.90	2.19	71.1%	0.27	0.28	0.83
60	1.78	2.21	60.5%	0.21	0.43	0.86
40	1.60	2.18	23.8%	0.15	0.57	0.87
20	1.30	2.17	2.3%	N.A.	0.87	N.A.

Tableau 4 : NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip ; ULoQ et LLoQ du HHV-6B, avec biais et TAE

Conc. cible [IU/mL]	Conc. cible [log_{10} IU/mL]	Conc. moyenne [log_{10} IU/mL]	Détection (%)	SD	Biais	TAE
10^6	6.00	6.06	100%	0.32	0.06	0.71
200	2.30	2.12	95.7%	0.22	0.18	0.62
100	2.00	2.04	57.1%	0.24	0.04	0.52
80	1.90	1.99	43.2%	0.26	0.08	0.61
60	1.78	1.92	32.6%	0.26	0.15	0.67
40	1.60	1.79	11.6%	0.22	0.19	0.62

D'après les résultats de ces études, la LoD du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay a été déterminée à 123.5 copies/mL (2.09 log_{10} copies/mL) pour HHV-6A et à 178.2 IU/mL (2.25 log_{10} IU/mL) pour HHV-6B. La LoQ était de 200 copies/mL (2.30 log_{10} copies/mL) pour HHV-6A et de 200 IU/mL (2.30 log_{10} IU/mL) pour HHV-6B. La ULoQ est de $1x10^6$ copies/mL pour HHV-6A et de $1x10^6$ IU/mL pour HHV-6B.

Linéarité[13]

La linéarité de la NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip a été établie dans du plasma en préparant une série de dilutions à l'aide du panel de vérification HHV-6A (Exact Diagnostics) et du panel de vérification EDX HHV-6B (Exact Diagnostics). Huit (8) dilutions en série des panels HHV-6A/HHV-6B, préparées dans du plasma humain négatif au HHV-6A/HHV-6B, ont été créées pour couvrir une plage de concentration de 6–2 log_{10} copies/mL.

Les concentrations d'essai HHV-6A/HHV-6B rapportées par le NeuMoDx™ System par rapport aux valeurs attendues sont présentées dans les Figures 2 et 3.

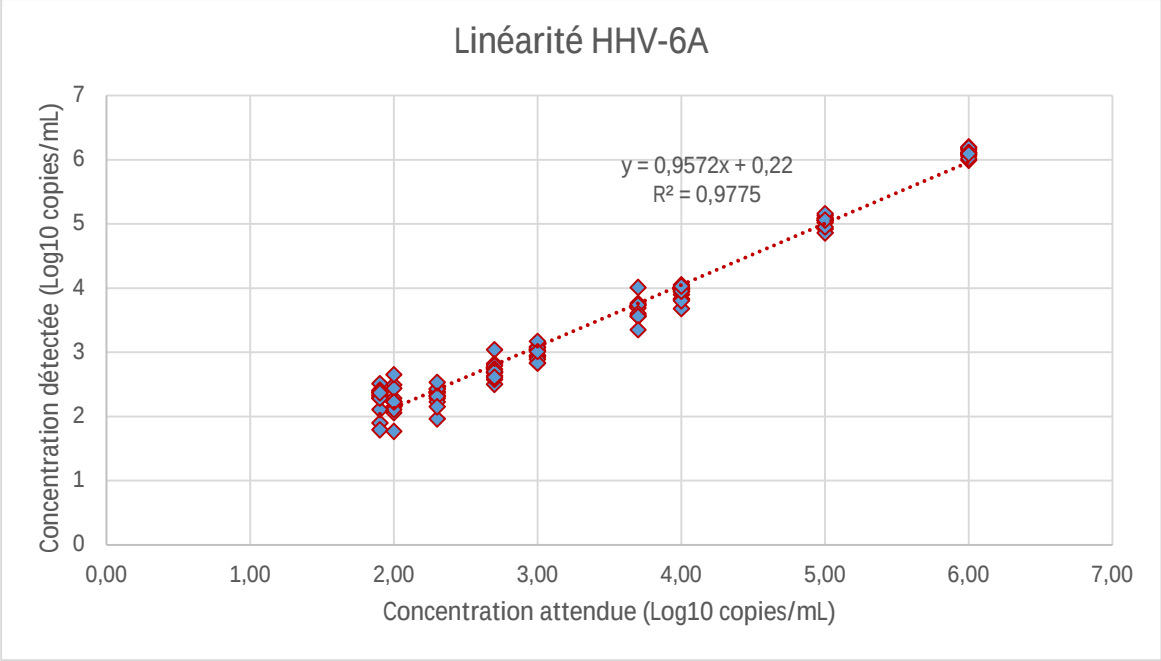

Figure 2 : Linéarité du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay pour HHV-6A

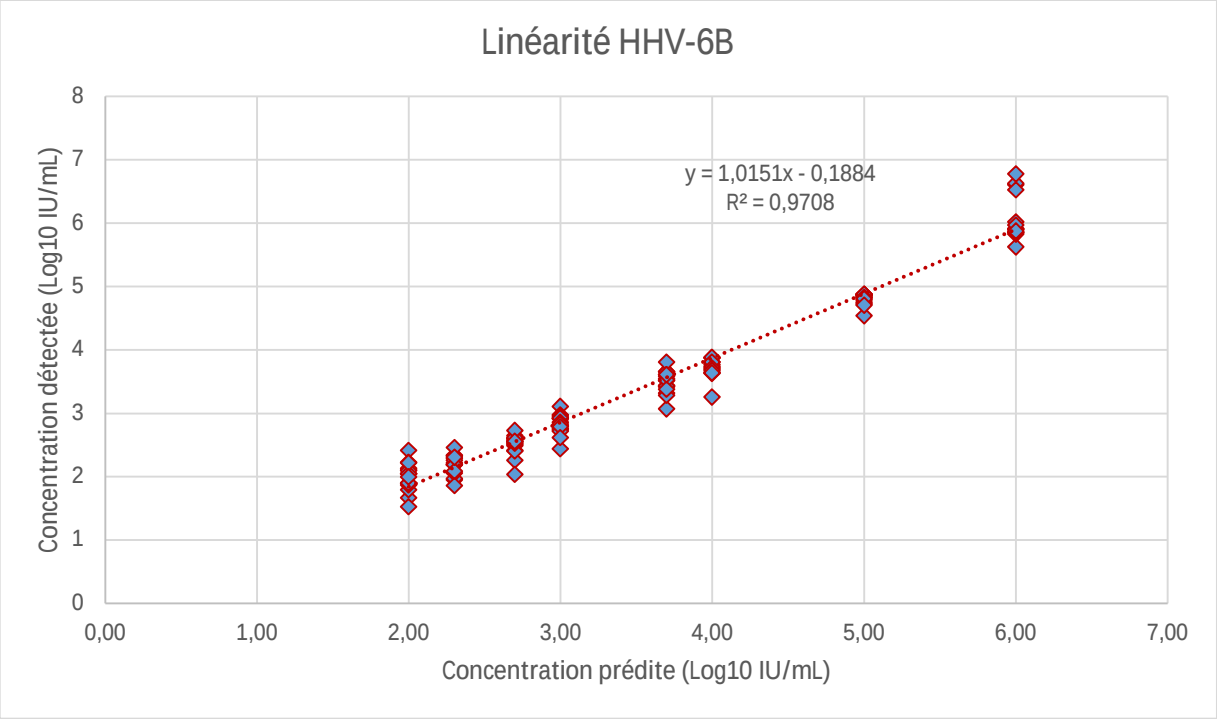

Figure 3 : Linéarité du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay pour HHV-6B

Spécificité analytique – Réactivité croisée[10,11]

La spécificité analytique a été démontrée en dépistant 22 organismes communément trouvés dans les spécimens de plasma ainsi que des espèces phylogénétiquement similaires au HHV-6A et au HHV-6B pour leur réactivité croisée. Des organismes ont été préparés par groupes de 5/6 organismes et testés à une concentration élevée (3.48 log10 copies/mL). Les organismes testés sont indiqués dans le *Tableau 6*. Aucune réactivité croisée n'a été observée avec l'un des organismes testés, confirmant une spécificité analytique à 100 % du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.

Tableau 5 : Pathogènes utilisés pour démontrer une spécificité analytique

Organismes non-cibles					
Klebsiella pneumoniae	*Enterococcus faecalis*	*Staphylococcus aureus*	*Streptococcus pneumoniae*	*Staphylococcus epidermidis*	*Streptococcus pyogenes*
Virus de l'immunodéficience humaine type 1	Virus de l'hépatite B	Adénovirus type 5	Virus Epstein-Barr	Varicella-Zoster Virus	Entérovirus 68
Virus BK	Herpes Simplex Virus 1	Herpes Simplex Virus 2	Human gammaherpesvirus 8	Cytomégalovirus	Human betaherpesvirus 7
HTVL-1	HTVL-2	Virus JC	SV40	Virus de l'immunodéficience humaine type 2	

Spécificité analytique – Substances interférentes, organismes commensaux[10,11]

Le NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay a été évalué pour l'interférence en présence d'organismes non-cibles à l'aide des mêmes groupements d'organismes préparés pour le test de réactivité croisée répertorié ci-dessus dans le Tableau 5. Le plasma négatif au HHV-6A/HHV-6B a été arrosé avec les organismes regroupés par groupes de 4 à 7 ainsi qu'avec un HHV-6A/HHV-6B cible à une concentration de 2.78 $\log_{10}$ IU/mL (600 IU/mL ; 3 x LoD). Aucune interférence significative n'a été observée en présence de ces organismes commensaux comme indiqué par l'écart minimum de la quantification provenant de spécimens de contrôle qui ne contenaient aucun agent interférant.

Spécificité analytique – Substances interférentes, endogènes et exogènes[10,11]

Le NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay a été évalué en présence de substances interférentes exogènes et endogènes typiques rencontrées dans du plasma clinique HHV-6A/HHV-6B. Ils incluaient des niveaux anormalement élevés de composants du sang ainsi que des médicaments antiviraux communs, qui sont classés dans le Tableau 6. Chaque substance a été ajoutée au plasma humain négatif au HHV-6A/HHV-6B dépisté arrosé avec 2.78 $\log_{10}$ IU/mL (600 IU/mL ; 3 x LoD) de HHV-6A/HHV-6B et des échantillons ont été analysés pour vérifier les interférences.

La concentration moyenne et le biais de toutes les substances testées par rapport aux échantillons de contrôle arrosés avec le même niveau de HHV-6A/HHV-6B sont indiqués dans le Tableau 7. Aucune des substances exogènes et endogènes n'a affecté la spécificité du NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.

Tableau 6 : Test d'interférence - Agents exogènes (Classifications des médicaments)

Groupe	Nom du médicament	Classification
Groupe 1	Valganciclovir	ANTIVIRAL
	Prednisone	IMMUNOSUPPRESSEUR
	Cidofovir	ANTIVIRAL
	Céfotaxime	ANTIBIOTIQUE
	Mycophénolate mofétil	IMMUNOSUPPRESSEUR
Groupe 2	Vancomycine	ANTIBIOTIQUE
	Tacrolimus	IMMUNOSUPPRESSEUR
	Famotidine	ANTI-HISTAMINIQUE
	Valacyclovir	ANTIVIRAL
	Léflunomide	IMMUNOSUPPRESSEUR

Tableau 7 : Test d'interférence - Agents exogènes et endogènes

Endogène (plasma)	HHV-6A		HHV-6B	
	Conc. moyenne	Biais	Conc. moyenne	Biais
	log_{10} copies/mL	log_{10} copies/mL	log_{10} IU/mL	log_{10} IU/mL
Triglycérides (500 mg/dL)	1.91	0.24	2.10	-0.13
Bilirubine conjuguée (0.25 g/L)	2.14	0.01	2.07	-0.10
Bilirubine non conjuguée (0.25 g/L)	1.71	0.44	1.61	0.37
Albumine (58.7 g/L)	2.27	-0.13	2.04	-0.06
Hémoglobine (2.9 g/L)	2.23	-0.08	1.98	-0.01
ADN humain (2 mg/mL)	1.74	0.41	1.86	0.12
Exogène (médicaments)	Conc. moyenne	Biais	Conc. moyenne	Biais
	log_{10} copies/mL	log_{10} copies/mL	log_{10} IU/mL	log_{10} IU/mL
Groupe 1 : Valganciclovir, Prednisone, Cidofovir, Céfotaxime, Mycophénolate mofétil	1.65	0.28	2.07	0.06
Groupe 2 : Vancomycine, Tacrolimus, Famotidine, Valacyclovir, Léflunomide	2.18	-0.25	1.97	0.16

Répétabilité et précision au sein du laboratoire[14]

La précision de la NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip a été déterminée en testant 2 réplicats d'un panel de 3 éléments de spécimens de HHV-6A/HHV-6B préparés avec un plasmide de HHV-6A ou de HHV-6B deux fois par jour, à l'aide d'un NeuMoDx™ 96 System sur 20 jours. Les précisions au sein du cycle et dans la journée ont été caractérisées, et l'écart-type global a été déterminé comme étant ≤ 0.25 log_{10} copies/mL pour HHV-6A et ≤ 0.25 log_{10} IU/mL pour HHV-6B. Une excellente précision a été démontrée sur les jours et cycles comme indiqué dans le *Tableau 9*. La précision entre les opérateurs n'a pas été caractérisée car l'opérateur ne joue aucun rôle significatif dans le traitement des échantillons à l'aide du NeuMoDx™ System.

Tableau 8 : Précision interne au laboratoire – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay sur NeuMoDx™ System 96

Échantillon	SD de répétabilité	SD entre les cycles	SD dans la journée	SD entre les journées	SD global (interne au laboratoire)
HHV-6A					
5.67 log10 copies/mL	0.166	0.000	0.166	0.051	0.173
4.67 log10 copies/mL	0.071	0.000	0.071	0.048	0.086
3.67 log10 copies/mL	0.190	0.028	0.192	0.059	0.200
2.48 log10 copies/mL	0.151	0.051	0.159	0.000	0.159
HHV-6B					
5.14 log10 IU/mL	0.217	0.000	0.217	0.070	0.228
4.14 log10 IU/mL	0.155	0.000	0.155	0.056	0.165
3.14 log10 IU/mL	0.141	0.000	0.141	0.038	0.146
2.70 log10 IU/mL	0.225	0.079	0.239	0.000	0.239

Reproductibilité d'un lot à l'autre[14]

La reproductibilité d'un lot à l'autre de la NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip a été déterminée en utilisant trois lots différents de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips. Un panel de 4 éléments de HHV-6A et HHV-6B préparé avec le panel de vérification HHV-6A (Exact Diagnostics) ou le panel de vérification EDX HHV-6B (Exact Diagnostics) a été utilisé pour évaluer les performances sur un NeuMoDx™ 96 Molecular System et 5 cycles distincts. La variation dans les lots et entre les différents lots a été analysée et les résultats exprimés en écart-type entre les lots sont présentés dans le *Tableau 9*. Le plus grand écart-type maximal était de 0.257 copies/mL. Une performance équivalente a été démontrée entre les lots alors que l'écart-type entre tous les éléments du panel était conforme à la spécification de la tolérance (SD de reproductibilité ≤ 0.3 $\log_{10}$ copies/mL).

Tableau 9 : Reproductibilité d'un lot à l'autre – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

Échantillon	SD de répétabilité	SD entre les journées	SD dans les lots	SD entre les lots	SD de reproductibilité
HHV-6A					
4.73 x10^5 copies/mL	0.160	0.061	0.171	0.073	0.186
4.73 x10^3 copies/mL	0.166	0.087	0.188	0.069	0.200
600 copies/mL	0.099	0.088	0.132	0.091	0.160
HHV-6B					
1.38 x10^5 IU/mL	0.199	0.161	0.256	0.025	0.257
1.38 x10^3 IU/mL	0.214	0.068	0.224	0.093	0.243
600 IU/mL	0.120	0.069	0.139	0.062	0.152

Reproductibilité d'un instrument à l'autre[14]

La reproductibilité d'un instrument à l'autre de la NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip a été déterminée en utilisant trois systèmes différents (un NeuMoDx™ 288 Molecular System et deux NeuMoDx™ 96 Molecular System). Un panel de 4 éléments de HHV-6A/HHV-6B préparé avec le panel de vérification HHV-6A (Exact Diagnostics) ou le panel de vérification EDX HHV-6B (Exact Diagnostics) a été utilisé pour évaluer les performances. Un test a été réalisé en parallèle sur les systèmes pendant 5 jours. Les variations dans la journée en entre les systèmes ont été caractérisées, et l'écart-type global a été déterminé comme étant ≤ 0.30 $\log_{10}$ copies/mL pour HHV-6A et ≤ 0.30 $\log_{10}$ IU/mL pour HHV-6B. Une performance équivalente a été démontrée à travers les systèmes alors que l'écart-type dans la quantification de tous les éléments du panel était conforme à la spécification de la tolérance (*Tableau 10*).

Tableau 10 : Reproductibilité d'un instrument à l'autre – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip

Échantillon	SD de répétabilité	SD entre les journées	SD dans les systèmes	SD entre les systèmes	SD de reproductibilité
HHV-6A					
5.67 log10 copies/mL	0.228	0.000	0.228	0.000	0.228
4.67 log10 copies/mL	0.149	0.000	0.149	0.021	0.151
3.67 log10 copies/mL	0.210	0.101	0.233	0.000	0.233
2.48 log10 copies/mL	0.157	0.079	0.176	0.000	0.176
HHV-6B					
5.14 log10 IU/mL	0.215	0.072	0.227	0.000	0.227
4.14 log10 IU/mL	0.259	0.014	0.260	0.023	0.261
3.14 log10 IU/mL	0.178	0.062	0.189	0.000	0.189
2.70 log10 IU/mL	0.149	0.079	0.169	0.000	0.169

RÉFÉRENCES

1. Rifai, N., Horvath, A.R., Wittwer, C.T., Tietz, N.W. (Eds.), 2018. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics, Sixth edition. ed. Elsevier, St. Louis, Missouri.
2. Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections. Clin Microbiol Rev. 2015 Apr;28(2):313-35. doi: 10.1128/CMR.00122-14. PMID: 25762531; PMCID: PMC4402955.
3. Hill JA. Human herpesvirus 6 in transplant recipients: an update on diagnostic and treatment strategies. Curr Opin Infect Dis. 2019 Dec;32(6):584-590. doi: 10.1097/QCO.0000000000000592. PMID: 31567413; PMCID: PMC7141773.
4. Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Human Herpesviruses 6A, 6B, and 7. Microbiol Spectr. 2016 Jun;4(3). doi: 10.1128/microbiolspec.DMIH2-0007-2015. PMID: 27337451.
5. Navarro E, Serrano-Heras G et all. 2015. Real-time PCR Detection Chemistry. Clin Chim Acta.15;439:231-50. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens,
6. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington,DC: US Government Printing Office, January 2009.
7. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed.Geneva: World Health Organization, 2004.
8. CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
9. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline—Second Edition CLSI Document MM13. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020
10. CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectius Diseases. Approved Guideline – Third Edition. CLSI document MM03. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.
11. CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectius Diseases; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document MM06-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2010.
12. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2012.
13. 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.
14. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2014.
15. CLSI. Metrological Traceability and Its Implementation; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Report EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2006.

MARQUES COMMERCIALES

NeuMoDx™ est une marque commerciale de NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® est une marque déposée de Roche Molecular Systems, Inc.

Seracare® est une marque déposée de Seracare Life Sciences, Inc.

Tous les autres noms de produits, marques commerciales et marques déposées susceptibles d'apparaître dans le présent document sont la propriété de leurs propriétaires respectifs.

SYMBOLES

SYMBOLE	SIGNIFICATION
Rx Only	Sur ordonnance uniquement.
	Fabricant
	Distributeur
IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
REF	Référence du catalogue
LOT	Code du lot
	Consulter le mode d'emploi
	Attention, voir notice d'instructions
	Limites de température
	Garder au sec
	Ne pas réutiliser
	Ne pas exposer à la lumière
	En quantité suffisante pour <n> tests
	À utiliser avant

SENTINEL CH. S.p.A.
Via Robert Koch, 2
20152 Milan, Italie

www.sentineldiagnostics.com

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

+1 888 301 NMDX (6639)
Assistance technique : support.qiagen.com
Déclaration de vigilance : support.qiagen.com

Brevet : www.neumodx.com/patents

REF 202500 NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip

Rx Only

ACHTUNG: Nur für den Export in die USA

IVD Für die *In-Vitro*-Diagnostik mit den NeuMoDx™ 288 und NeuMoDx™ 96 Molecular Systems

Vor dem Gebrauch diese Packungsbeilage aufmerksam durchlesen. Die Anweisungen der Packungsbeilage sind entsprechend zu befolgen.

Die Zuverlässigkeit der Testergebnisse kann nur bei genauer Befolgung der in der Packungsbeilage enthaltenen Anweisungen garantiert werden.

Ausführliche Anweisungen finden Sie im NeuMoDx™ 288 Molecular Bedienerhandbuch; P/N 40600108

Ausführliche Anweisungen finden Sie im NeuMoDx™ 96 Molecular Bedienerhandbuch; P/N 40600317

VERWENDUNGSZWECK

Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay ist ein automatisierter *in vitro* Nukleinsäure-Amplifikationstest zur Quantifizierung und Differenzierung von viraler DNA des Humanen Betaherpesvirus 6A (HHV-6A) und/oder Humanen Betaherpesvirus 6B (HHV-6B) in EDTA-Plasma von immungeschwächten Transplantationspatienten.[1,2]

DerNeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, der auf dem NeuMoDx™ 288 Molecular System und NeuMoDx™ 96 Molecular System durchgeführt wird, umfasst einen automatisierten DNA-Extraktionsschritt zur Isolierung der Zielnukleinsäure aus der Probe und einen Real-Time-PCR-Schritt, um zwei stark konservierte Regionen im HHV-6A- und HHV-6B-Genom anzuvisieren.

Der Test ist als Hilfsmittel für die Überwachung von HHV-6A- und/oder HHV-6B-DNA-Konzentrationen in EDTA-Plasma bestimmt. Dieser Test ist gemeinsam mit dem klinischen Bild und anderen Labormarkern für den Krankheitsverlauf beim klinischen Management und Monitoring von HHV-6A- und/oder HHV-6B-Infektionen vorgesehen.

Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay ist nicht zur Verwendung als Screening-Test für HHV-6A- und/oder HHV-6B-DNA in Blut oder Blutprodukten vorgesehen.

Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay darf nur von entsprechend qualifiziertem klinischem Laborpersonal durchgeführt werden, das speziell in den Techniken der Real-Time-PCR und In-vitro-Diagnoseverfahren und/oder NeuMoDx™ Molecular Systems geschult wurde. Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay ist nicht für Selbsttests oder Point-of-Care-Anwendungen vorgesehen.

INHALT UND ERKLÄRUNG

Menschliches Vollblut, das in sterilen Blutentnahmeröhrchen, die EDTA als Antikoagulationsmittel enthalten, oder in PPT-Röhrchen gesammelt wird, kann für die Zubereitung von Plasma verwendet werden. Als Vorbereitungsschritt vor dem Test wird Plasma in einem Primär- oder Sekundärröhrchen, das mit dem NeuMoDx™ System kompatibel ist, anhand eines dafür vorgesehenen Röhrchenträgers in das NeuMoDx™ System geladen, um mit der automatischen Verarbeitung zu beginnen.

Ein 550 µL Aliquot der Plasmaprobe wird mit NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 gemischt und das NeuMoDx™ System führt automatisch alle erforderlichen Schritte durch, um die Zielnukleinsäure zu extrahieren, die isolierte DNA für die Real-Time-PCR-Amplifikation vorzubereiten und, falls vorhanden, die Amplifikationsprodukte zu amplifizieren und nachzuweisen. Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay enthält eine DNA-Probenprozesskontrolle (SPC1), mit deren Hilfe auf potenziell inhibierende Substanzen sowie mögliche Fehler des NeuMoDx™ System oder von Reagenzien während der Extraktions- und Amplifikationsschritte kontrolliert werden kann.

Das Humane Herpesvirus 6 (HHV-6) gehört zur Unterfamilie der Betaherpesvirinae und umfasst zwei verschiedene Arten, HHV-6A und HHV-6B2.[2] Es handelt sich um ein DNA-Virus, das einen Tropismus für Gewebe des zentralen Nervensystems, Tonsillen, Speicheldrüsen, Nieren, Leber, Lymphknoten, Endothelzellen und Monozyten/Makrophagen aufweist[4]. Primäres Syndrom einer HHV-6-Infektion ist das Exanthema subitum (Roseola oder „Sechste Krankheit").[1,2,3,4] Es handelt sich fast ausschließlich um eine Kinderkrankheit, die 10 bis 30 % der Notaufnahmefälle bei Kindern unter 2 Jahren ausmacht.[1] Wie alle Herpesviren kann HHV-6 nach der Erstinfektion lebenslang latent bleiben, u. a. in hämatopoetischen Stammzellen und Keimzellen, womit sowohl eine horizontale als auch eine vertikale Transmission möglich ist.[2] Dieses Phänomen wurde bei 0.2 bis 1 % der Allgemeinbevölkerung beschrieben.[4]. Bei einem immungeschwächten Wirt kann das latente Virus reaktiviert werden und schwere Erkrankungen verursachen, darunter Pneumonitis, ZNS-Erkrankungen und verzögertes Engraftment oder Graft-versus-Host-Disease (GVHD). Die Inzidenz der HHV-6-Reaktivierung reicht von etwa 0 % bis 80 % (durchschnittl. 30 % bis 50 %) bei Patienten mit einer Organtransplantation (OT) oder Knochenmarkstransplantation (KMT),mit leichter leichte Präferenz für BMT.[1] Im Gegensatz zu HHV-6B wird eine HHV-6A-Reaktivierung nur selten nach einer Transplantation festgestellt. Die HHV-6B-Reaktivierung tritt bei etwa 40 % der Betroffenen innerhalb der ersten Monate auf. Sie ist die häufigste infektiöse Ursache einer Enzephalitis nach HCT (1 % der Fälle). Bei Patienten mit einer HHV-6B-Enzephalitis wird in der Regel gleichzeitig HHV-6B im Plasma nachgewiesen; die Viruslast beträgt ≥10,000 Kopien/ml.[3]

GRUNDSÄTZE DES VERFAHRENS

Für den NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay auf dem NeuMoDx™ System sind der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, die NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators, NeuMoDx™ HHV-6 External Controls, der NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 und die NeuMoDx™ Reagenzien für den allgemeinen Gebrauch zur Durchführung der Analyse erforderlich. Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay kombiniert automatisierte DNA-Extraktion, Amplifikation und Detektion mittels Real-Time-PCR. Plasmaproben in mit dem NeuMoDx™ System kompatiblen Primär- oder Sekundärröhrchen werden in einen Röhrchenträger gegeben, der dann zur Verarbeitung in das NeuMoDx™ System geladen wird. Es ist kein weiterer Bedienereingriff erforderlich.

Die NeuMoDx™ Systems stützen sich auf eine Kombination aus Wärme, lytischem Enzym und Extraktionsreagenzien zur automatischen Durchführung der Zelllyse, DNA-Extraktion und Beseitigung von Inhibitoren. Die freigesetzten Nukleinsäuren werden durch affinitätsmagnetische Mikrosphären eingefangen. Die Mikrosphären mit den gebundenen Nukleinsäuren werden in die NeuMoDx™ Cartridge geladen, wo die ungebundenen, nicht-DNA-Komponenten mit NeuMoDx™ Wash Reagent weiter abgewaschen werden und die gebundene DNA mit NeuMoDx™ Release Reagent eluiert wird. Die NeuMoDx™ Systems verwenden dann die eluierte DNA zur Rehydrierung der firmeneigenen gefriergetrockneten Amplifikationsreagenzien von SENTINEL CH. S.p.A., die alle für die PCR-Amplifikation der HHV-6-spezifischen Targets und des SPC1-Targets erforderlichen Elemente

enthalten. Nach der Rekonstitution der lyophilisierten PCR-Reagenzien gibt das NeuMoDx™ System die vorbereitete PCR-fertige Mischung in NeuMoDx™ Cartridge ab. Amplifikation und Nachweis der Kontroll- und Ziel-DNA-Sequenzen (falls vorhanden) erfolgen in der PCR-Kammer der NeuMoDx™ Cartridge. Die NeuMoDx™ Cartridge ist auch so konzipiert, dass sie das Amplikon nach der Real-Time-PCR enthält, wodurch das Risiko einer Kontamination nach der Amplifikation im Wesentlichen ausgeschlossen wird.

Die genomischen Targets für den NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip sind die U31- und U67-Gene der viralen HHV-6A- und HHV-6B-Genome. Die amplifizierten Targets werden in Echtzeit anhand von Hydrolyse-Sonden-Chemie (allgemein als TaqMan® Chemie bezeichnet) nachgewiesen, wobei fluorogene Oligonukleotid-Sondenmoleküle zum Einsatz kommen, die spezifisch für die Amplikons ihrer jeweiligen Targets sind. TaqMan® Sonden bestehen aus einem Fluorophor, das kovalent an das 5'-Ende der Oligonukleotidsonde gebunden ist, und einem Quencher am 3'-Ende. Während die Sonde intakt ist, befinden sich das Fluorophor und der Quencher in der Nähe, was dazu führt, dass das Quenchermolekül die Fluoreszenz des Fluorophors durch Förster-Resonanzenergietransfer (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) unterdrückt. TaqMan® Sonden sind so konzipiert, dass sie innerhalb einer DNA-Region, die durch einen spezifischen Satz von Primern amplifiziert ist, anlagern. Während die Taq-DNA-Polymerase den Primer verlängert und den neuen Strang synthetisiert, sorgt die 5'-3'-Exonuklease-Aktivität der Taq-DNA-Polymerase für den Abbau der Sonde, die sich an das Template angelagert hat. Der Abbau der Sonde setzt das Fluorophor frei und der Abstand zum Quencher wird größer. Dadurch wird der Löscheffekt durch FRET aufgehoben und das Fluorophor kann nachgewiesen werden. Die Intensität des resultierenden Fluoreszenzsignals, das im quantitativen RT-PCR-Thermocycler des NeuMoDx™ System nachgewiesen wird, ist direkt proportional zum freigesetzten Fluorophor und kann zur Menge der vorhandenen Ziel-DNA in Beziehung gesetzt werden.[5]

Für den Nachweis von HHV-6A-DNA, HHV-6B-DNA und SPC1-DNA werden TaqMan® Sonden verwendet, die am 5'-Ende mit Fluorophoren und am 3'-Ende mit Quenchern markiert sind. Die Software des NeuMoDx™ Systems überwacht das von den TaqMan® Sonden am Ende jedes Amplifikationszyklus emittierte Fluoreszenzsignal. Nach Abschluss der Amplifikation analysiert die NeuMoDx™ System Software die Daten und gibt ein Ergebnis aus (POSITIVE (POSITIV) / NEGATIVE (NEGATIV) / INDETERMINATE (UNBESTIMMT) / UNRESOLVED (OFFEN) / NO RESULT (KEIN ERGEBNIS)). Wenn ein Ergebnis positiv ist und die berechnete Konzentration innerhalb der Quantifizierungsgrenzen liegt, liefert die NeuMoDx™ System Software auch einen quantitativen Wert für die Probe oder weist darauf hin, wenn die berechnete Konzentration außerhalb des linearen Bereichs liegt.

REAGENZIEN/VERBRAUCHSMATERIALIEN

Im Lieferumfang enthaltene Materialien

REF:	Inhalt	Tests pro Einheit	Tests pro Packung
202500	NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip *Gefriergetrocknete PCR-Reagenzien mit HHV-6A-spezifischen TaqMan® Sonden und Primern, HHV-6B-spezifischen TaqMan® Sonden und Primern sowie SPC1-spezifischen TaqMan® Sonden und Primern.*	16	96

Zusätzlich erforderliche Reagenzien und Verbrauchsmaterialien (separat von NeuMoDx erhältlich)

REF:	Inhalt
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate *Getrocknete paramagnetische Partikel, lytisches Enzym und Probenprozesskontrollen.*
801000	NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators *Einweg-Sets aus HHV-6A und HHV-6B High und Low getrockneten Kalibratoren zur Erstellung einer Standardkurve.*
901000	NeuMoDx™ HHV-6 External Controls Einweg-Sets aus getrockneten HHV-6A und HHV-6B Positiv-und Negativkontrollen zur Feststellung der täglichen Gültigkeit des *NeuMoDx*™ HHV-6 *Quant Assay*
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Hamilton CO-RE Spitzen (300 µl) mit Filter
235905	Hamilton CO-RE Spitzen (1000 µl) mit Filter

Einzelheiten zu den Reagenzien und Verbrauchsmaterialien entnehmen Sie bitte der entsprechenden Produktbeilage

Erforderliche Geräte

NeuMoDx™ 288 Molecular System (REF 500100) oder NeuMoDx™ 96 Molecular System (REF 500200).
NeuMoDx System Software Version 1.9.2.6 oder höher.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip ist nur zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik auf NeuMoDx™ Systems bestimmt.
- Lesen Sie vor der Durchführung des Tests alle in der Packungsbeilage des Kits enthaltenen Anweisungen.
- Verwenden Sie die Reagenzien oder Verbrauchsmaterialien nicht nach Ablauf des angegebenen Verfallsdatums.

- Verwenden Sie die Reagenzien nicht, wenn das Sicherheitssiegel aufgebrochen oder die Verpackung bei der Entgegennahme beschädigt ist.
- Verwenden Sie die Verbrauchsmaterialien oder Reagenzien nicht, wenn der Schutzbeutel bei der Entgegennahme geöffnet oder zerrissen ist.
- Mischen Sie keine Reagenzien zur Amplifikation aus anderen handelsüblichen Kits.
- Nicht wiederverwenden.
- Bewahren Sie alle NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips vor Licht und Feuchtigkeit geschützt in ihren Aluminiumhüllen auf.
- Eine gültige Testkalibrierung durch die Verarbeitung von High und Low Kalibratoren aus den NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators (REF 801000) muss verfügbar sein, bevor Testergebnisse für klinische Proben generiert werden können.
- Die NeuMoDx™ HHV-6 External Controls (REF 901000) müssen während der gesamten Analyse mit dem NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip alle 24 Stunden ausgeführt werden.
- Das Mindestprobenvolumen ist abhängig von der Röhrchengröße, dem Probenträger und dem Probenvolumen, wie unten angegeben. Volumina unterhalb des angegebenen Minimums können zu dem Fehler „Quantity Not Sufficient“ (Menge nicht ausreichend) führen.
- Die Verwendung von Proben, die bei ungeeigneten Temperaturen oder über die angegebenen Lagerzeiten hinaus aufbewahrt wurden, kann zu ungültigen oder fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Eine Kontamination von Reagenzien und Verbrauchsmaterialien mit Mikroben und Desoxyribonuklease (DNase) ist zu vermeiden. Bei Verwendung von Sekundärröhrchen wird die Verwendung von sterilen DNase-freien Einweg-Transferpipetten empfohlen. Verwenden Sie für jede Probe eine neue Pipette.
- Um eine Kontamination zu vermeiden, sollten Sie nach der Amplifikation keine NeuMoDx™ Cartridge anfassen oder auseinanderbrechen. Unter keinen Umständen dürfen NeuMoDx™ Cartridges aus dem Behälter für biologische Gefahrstoffe (NeuMoDx™ 288 Molecular System) oder dem Eimer für biologische Gefahrstoffe (NeuMoDx™ 96 Molecular System) genommen werden. Die NeuMoDx™ Cartridge ist so konzipiert, dass eine Kontamination verhindert wird.
- Wenn das Labor auch PCR-Tests mit offenen Röhrchen ausführt, muss unbedingt gewährleistet werden, dass der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, die für die Tests zusätzlich benötigten Verbrauchsmaterialien und Reagenzien, persönliche Schutzausrüstung wie Handschuhe und Laborkittel sowie das NeuMoDx™ System nicht kontaminiert werden.
- Beim Umgang mit den NeuMoDx™ Reagenzien und Verbrauchsmaterialien sind saubere, puderfreie Nitrilhandschuhe zu tragen. Es ist darauf zu achten, dass die Oberseite der NeuMoDx™ Cartridge, die Oberfläche der Versiegelungsfolie des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip oder der NeuMoDx™ Extraction Plate oder die Oberseiten von Behältern mit NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 nicht berührt werden; die Verbrauchsmaterialien und Reagenzien dürfen ausschließlich an den Seitenflächen angefasst werden.
- Für jedes Reagenz werden unter www.neumodx.com/client-resourcesSicherheitsdatenblätter (SDB) zur Verfügung gestellt (soweit zutreffend).
- Ein senkrechter Balken am Textrand kennzeichnet Änderungen im Vergleich zur vorherigen Version der Packungsbeilage.
- Waschen Sie sich nach der Durchführung des Tests gründlich die Hände.
- Nicht mit dem Mund pipettieren. In Bereichen, in denen Proben oder Reagenzien gehandhabt werden, nicht rauchen, trinken oder essen.
- Handhaben Sie Proben stets als potenziell infektiös und nach den Verfahren für Laborsicherheit gemäß OSHA Standard on Bloodborne Pathogens[6]. Biosafety Level 2[7] oder andere geeignete Verfahren zur biologischen Sicherheit[8,9] sollten für Materialien befolgt werden, die ein Infektionsrisiko darstellen oder bei denen der Verdacht auf ein solches Risiko besteht.
- Entsorgen Sie unbenutzte Reagenzien und Abfälle gemäß den landes- und bundesweiten sowie örtlichen Vorschriften. Beachten Sie die Empfehlungen im Sicherheitsdatenblatt (SDS).

PRODUKTLAGERUNG, HANDHABUNG UND STABILITÄT

- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip sind in der Primärverpackung bei +15 °C/ +30 °C bis zum auf dem unmittelbaren Produktetikett angegebenen Verfallsdatum stabil.
- Ein in das NeuMoDx™ System geladener NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip ist 32 Tage lang stabil; die Software des NeuMoDxTM System fordert dazu auf, Teststreifen, die länger als 32 Tage im NeuMoDx™ System in Gebrauch waren, zu entfernen und neue NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips zu öffnen (die Streifen aus dem Beutel entnehmen) und in das NeuMoDx™ System zu laden. Entfernen Sie während des Ladens in den Teststreifenträger nicht die Aluminiumfolie vom Streifen.
- Die NeuMoDx™ HHV-6 Kalibratoren und Kontrollen sind nicht infektiös, sollten jedoch nach Gebrauch als biologische Gefahrstoffe entsorgt werden, da sie nach der Verarbeitung auf dem System Zielmaterial enthalten, das bei unsachgemäßer Handhabung eine Kontamination verursachen kann.

PROBENENTNAHME, TRANSPORT UND LAGERUNG

1. Behandeln Sie alle Proben als potenziell infektiös.
2. Vollblut- oder Plasmaproben in Primärröhrchen nicht einfrieren.
3. Zur Vorbereitung von Plasmaproben sollte Vollblut in sterilen Röhrchen unter Verwendung von EDTA als Gerinnungshemmer gesammelt werden. Die Anweisungen des Herstellers der Probenentnahmeröhrchen sind zu befolgen.
4. Vollblut, das mit den oben aufgeführten Vorrichtungen entnommen wurde, kann vor der Plasmapräparation bis zu 24 Stunden bei +2 °C/ +8 °C gelagert und/oder transportiert werden. Die Probenvorbereitung sollte gemäß den Anweisungen des Herstellers durchgeführt werden.
5. Präpariertes Plasma kann vor der Verarbeitung bis zu 24 Stunden auf dem NeuMoDx™ System gelagert werden. Falls eine zusätzliche Lagerzeit erforderlich ist, wird empfohlen, die Proben entweder gekühlt oder eingefroren zu lagern.
6. Präparierte Plasmaproben sollten vor dem Test nicht länger als 8 Tage bei +2 °C/ +8 °C und maximal 24 Stunden bei Raumtemperatur gelagert werden.
7. Präparierte Proben können bei < -20 °C bis zu 8 Wochen vor der Verarbeitung gelagert werden; die Proben sollten vor der Verwendung nicht mehr als 2 Einfrier-/Auftauzyklen unterzogen werden:

a. Eingefrorene Proben bei Raumtemperatur (+15 °C/ +30 °C) vollständig auftauen lassen; vortexen, um eine gleichmäßig verteilte Probe zu erzeugen.
b. Sobald die eingefrorenen Proben aufgetaut sind, sollten die Tests innerhalb von 24 Stunden durchgeführt werden.

8. Wenn Proben verschickt werden, sollten sie gemäß den geltenden nationalen und/oder internationalen Vorschriften verpackt und beschriftet werden.
9. Beschriften Sie die Proben deutlich und weisen Sie darauf hin, dass die Proben für HHV-6A- und/oder HHV-6B-Tests bestimmt sind.
10. Fahren Sie mit dem Abschnitt *Testvorbereitung* fort.

Der Gesamtablauf des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay ist in *Abbildung 1* zusammengefasst.

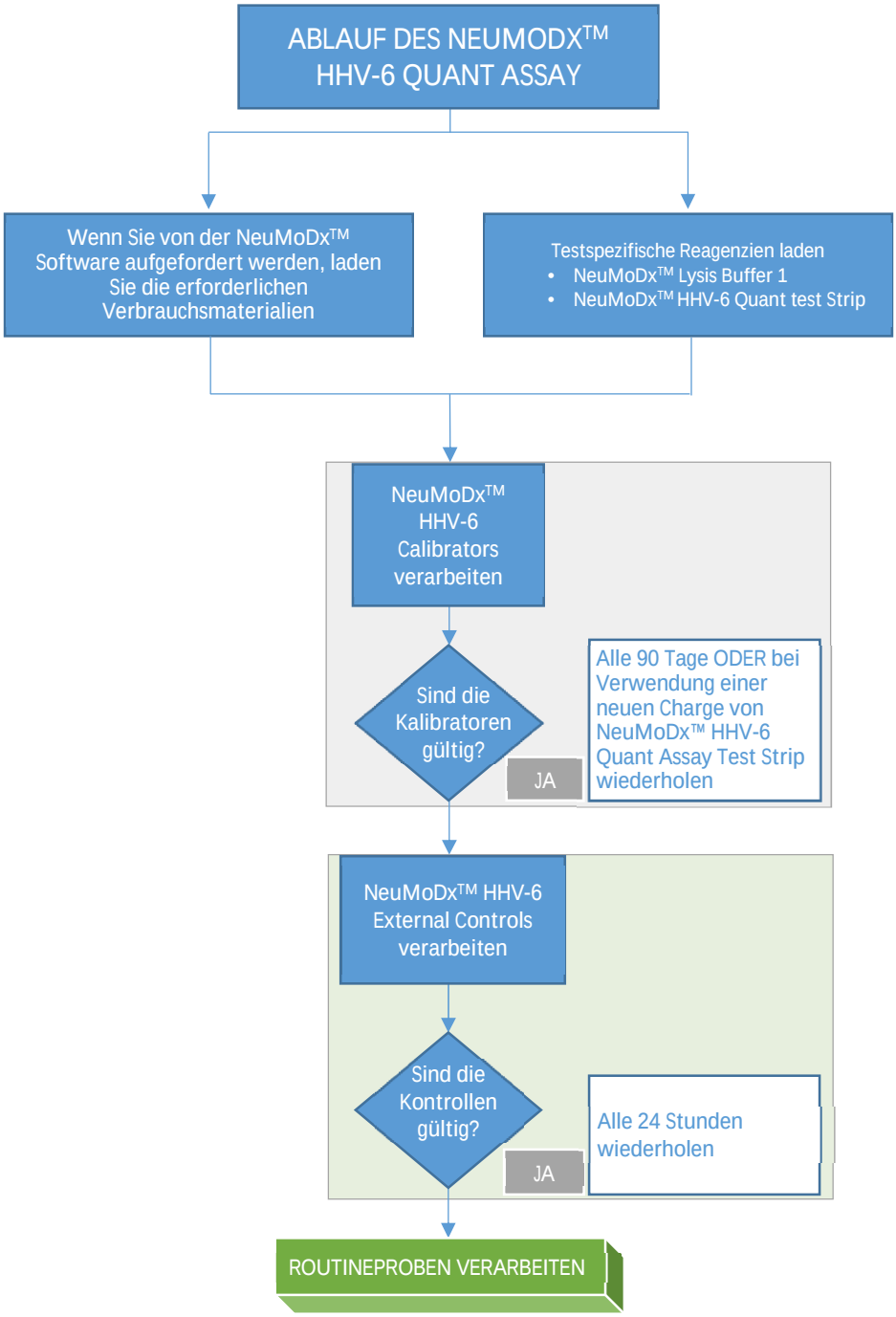

Abbildung 1: Arbeitsablauf des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Testvorbereitung

Bei Plasmaproben kann der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay direkt mit Primärröhrchen oder Probenaliquoten in Sekundärröhrchen durchgeführt werden.

1. Bringen Sie ein Strichcode-Etikett auf einem Probenröhrchen an, das mit dem NeuMoDx™ System kompatibel ist. Das Primärröhrchen kann beschriftet und nach der Zentrifugation gemäß den Anweisungen des Herstellers direkt in einen geeigneten Röhrchenträger eingesetzt werden.
2. Wenn Sie die Plasmaprobe im Primärröhrchen testen, setzen Sie das mit einem Barcode versehene Röhrchen in einen Röhrchenträger ein und stellen Sie sicher, dass die Kappe vor dem Laden in das NeuMoDx™ System entfernt wird. Die Mindestvolumina über der Gel-/Buffy-Schicht sind unten definiert und sind gegeben, wenn die Proben gemäß den Anweisungen des Röhrchenherstellers entnommen und verarbeitet werden. Für Proben, die unsachgemäß entnommen werden, wird die Leistung nicht garantiert.
3. Bei Plasmaproben in einem Sekundärröhrchen übertragen Sie ein Aliquot der Probe in das mit dem Barcode versehene und mit dem NeuMoDx™ System kompatible Röhrchen gemäß den unten definierten Volumina:

Röhrchenträger	Röhrchengröße	Erforderliches Mindestprobenvolumen
Röhrchenträger mit 32 Positionen	11–14 mm Durchmesser mit 60–120 mm Höhe	750 µL
Röhrchenträger mit 24 Positionen	14.5–18 mm Durchmesser mit 60–120 mm Höhe	1100 µL
Röhrchenträger für kleinvolumige Proben	1.5 mL Mikrozentrifugenröhrchen mit konischem Boden	650 µL

Betrieb des NeuMoDx™ System

Ausführliche Anweisungen finden Sie in den Benutzerhandbüchern für die NeuMoDx™ 288 und 96 Molecular Systems (P/N 40600108 & 40600317)

1. Den Testauftrag entsprechend dem gewünschten Röhrchentyp in das NeuMoDx™ System laden.
2. Die Aluminiumbeutel der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips an der durch die seitlichen Kerben gekennzeichneten Stelle aufschneiden.
3. Die Streifen erst unmittelbar vor dem Gebrauch aus den Beuteln nehmen.
4. Vor der Verwendung stets sicherstellen, dass der Beutel gut verschlossen ist und das Tütchen mit dem Trocknungsmittel enthält. Nur unbeschädigte Beutel verwenden.
5. Die Aluminiumbeutel und ihren Inhalt entsorgen, wenn sich die Farbe des Trockenmittelpäckchens von Orange zu Grün ändert.
6. Bestücken Sie einen oder mehrere NeuMoDx™ System Test Strip Träger mit NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip(s) und laden Sie die Teststreifenträger über den Touchscreen in das NeuMoDx™ System.
7. Wenn Sie von der Software des NeuMoDx™ System dazu aufgefordert werden, geben Sie die erforderlichen Verbrauchsmaterialien in die entsprechenden Träger des NeuMoDx™ System und laden den/die Träger über den Touchscreen in das NeuMoDx™ System.
8. Wenn Sie von der Software des NeuMoDx™ System dazu aufgefordert werden, ersetzen Sie das NeuMoDx™ Wash Reagent, NeuMoDx™ Release Reagent, leeren Sie den Behälter für Priming-Abfall, Behälter für biologische Gefahrstoffe (nur NeuMoDx 288 Molecular System), den Spitzenabfalleimer (nur NeuMoDx™ 96 Molecular System) bzw. den Eimer für biologische Gefahrstoffe (nur NeuMoDx™ 96 Molecular System).
9. Wenn Sie von der NeuMoDx™ System Software dazu aufgefordert werden, verarbeiten Sie die Kalibratoren (REF 801000) und/oder externen Kontrollen (REF 901000) wie erforderlich. Weitere Informationen zu Kalibratoren und Kontrollen finden Sie im Abschnitt *Ergebnisse*.
10. Laden Sie die Kalibrator-/Kontrollröhrchen in einen Standard-Röhrchenträger mit 32 Positionen und stellen Sie sicher, dass von allen Röhrchen die Kappen entfernt werden.
11. Setzen Sie den/die Röhrchenträger auf den Autoloader, stellen Sie sicher, dass die Verschlusskappen von allen Röhrchen entfernt wurden, und verwenden Sie den Touchscreen, um den/die Träger in das NeuMoDx™ System zu laden. Dadurch wird die Verarbeitung der geladenen Proben für den/die identifizierten Test(s) gestartet, sofern ein gültiger Testauftrag im System vorhanden ist.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip kann nur auf NeuMoDx™ Systems verwendet werden.
- Die Leistung des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip wurde für Plasmaproben aus Vollblut, die mit EDTA als Antikoagulans entnommen wurden, validiert. Die Verwendung desNeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip mit anderen Probentypen wurde nicht untersucht und die Leistungsdaten des Tests sind für andere Probentypen nicht bekannt.
- Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay darf nicht mit Proben aus heparinisiertem Blut verwendet werden.
- Da der Nachweis von HHV-6A- und/oder HHV-6B-DNA von der Anzahl der in der Probe vorhandenen Organismen abhängt, sind zuverlässige Ergebnisse von einer ordnungsgemäßen Probenentnahme, Handhabung und Lagerung abhängig.
- Fehlerhafte Ergebnisse können durch unsachgemäße Probenentnahme, Handhabung, Lagerung, technische Fehler oder Verwechslung der Probenröhrchen entstehen. Darüber hinaus können falsch-negative Ergebnisse auftreten, weil die Anzahl der Viruspartikel in der Probe unter der Nachweisgrenze des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay liegt.
- Das NeuMoDx™ System darf ausschließlich von Personal bedient werden, das entsprechend in der Verwendung des NeuMoDxTM System geschult wurde.
- Wenn sowohl das HHV-6A-, HHV-6B- als auch das SPC1-Target nicht amplifizieren, wird ein ungültiges Ergebnis (Indeterminate (Unbestimmt) oder Unresolved (Offen)) gemeldet und der Test sollte wiederholt werden.
- Tritt ein Systemfehler auf, bevor die Probenverarbeitung abgeschlossen ist, wird „No Result“ (Kein Ergebnis) gemeldet und der Test sollte wiederholt werden.
- Wenn das Ergebnis des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay positiv ist, aber der Bestimmungswert über außerhalb der Bestimmungsgrenzen liegt, zeigt das NeuMoDx™ System an, ob die nachgewiesene HHV-6A- und/oder HHV-6B-DNA unter der unteren Bestimmungsgrenze (LLoQ) oder über der oberen Bestimmungsgrenze (ULoQ) liegt.
- Falls die nachgewiesene HHV-6A- und/oder HHV-6B-DNA über der ULoQ liegt, kann der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay auf Wunsch mit einem verdünnten Aliquot der ursprünglichen Probe wiederholt werden. Eine Verdünnung im Verhältnis 1:100 oder 1:1000 in HHV-6A- und HHV-6B-DNA-negativem Plasma oder Basematrix 53 Verdünnungsmittel (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA) wird empfohlen. Das System berechnet automatisch die Konzentration der Ausgangsprobe wie folgt: Konzentration der Ausgangsprobe = log10 (Verdünnungsfaktor) + gemeldete Konzentration der verdünnten Probe, sofern der Verdünnungsfaktor vor der Wiederholung in der Software richtig ausgewählt wurde.
- Das gelegentliche Vorhandensein von PCR-Inhibitoren in Plasma kann zu einem Quantifizierungsfehler des Systems führen; in diesem Fall wird empfohlen, den Test mit der gleichen, in Basematrix 1:10 oder 1:100 verdünnten Probe zu wiederholen.
- Ein positives Ergebnis bedeutet nicht unbedingt, dass lebensfähige Organismen vorhanden sind. Ein positives Ergebnis weist jedoch auf das Vorhandensein von HHV-6A- und/oder HHV-6B-DNA hin.
- Deletionen oder Mutationen in den konservierten Regionen, auf die der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay abzielt, können den Nachweis beeinträchtigen oder zu einem fehlerhaften Ergebnis beim NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip führen.
- Die Ergebnisse des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay sollten zusätzlich zu klinischen Beobachtungen und sonstigen Informationen, die dem Arzt zur Verfügung stehen, herangezogen werden; der Test ist nicht zur Diagnose einer Infektion gedacht.
- Um eine Kontamination zu vermeiden, wird eine gute Laborpraxis empfohlen, wie etwa das Wechseln der Handschuhe beim Umgang mit Proben verschiedener Patienten.

ERGEBNISSE

Die verfügbaren Testergebnisse können in der Registerkarte „Results“ (Ergebnisse) im Fenster „Results“ (Ergebnisse) auf dem Touchscreen des NeuMoDx™ System angezeigt oder ausgedruckt werden. Die Ergebnisse des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay werden automatisch von der NeuMoDx™ System anhand des Entscheidungsalgorithmus und der Ergebnisverarbeitungsparameter, die in der NeuMoDx™ HHV-6 Assay Definitionsdatei festgelegt sind, generiert. Ein Testergebnis des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay wird auf der Grundlage des Amplifikationsstatus der Zielsequenz und der Probenprozesskontrolle als Negativ, Positiv mit einer angegebenen HHV-6A- und/oder HHV-6B-Konzentration, Positiv über ULoQ, Positiv unter LLoQ, Unbestimmt (IND), Offen (UNR) oder Kein Ergebnis (NR) ausgegeben. *Die Ergebnisse werden auf der Grundlage des ADF-Ergebnisverarbeitungsalgorithmus ausgegeben, wie unten in* Tabelle 1 *zusammengefasst.*

Die Ergebnisse des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip sollten in Verbindung mit anderen klinischen und Laborbefunden ausgewertet werden.

Tabelle 1: Zusammenfassung der Ergebnisauswertung des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

Ergebnis	HHV-6A/HHV-6B	Probenprozesskontrolle (SPC1)	Ergebnisauswertung
Positiv mit einer gemeldeten Konzentration	Amplifiziert 2.30 ≤ [HHV-6A] ≤ 6.0 $\log_{10}$ Kopien/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HHV-6A-DNA im quantitativen Bereich nachgewiesen
	Amplifiziert 2.30 ≤ [HHV-6B] ≤ 6.0 $\log_{10}$ IU/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HHV-6B-DNA im quantitativen Bereich nachgewiesen
Positiv, über der oberen Bestimmungsgrenze (ULoQ)	Amplifiziert [HHV-6A] > 6.0 $\log_{10}$ Kopien/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HHV-6A-DNA über dem quantitativen Bereich nachgewiesen
	Amplifiziert [HHV-6B] > 6.0 $\log_{10}$ IU/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HHV-6B-DNA über dem quantitativen Bereich nachgewiesen

Ergebnis	HHV-6A/HHV-6B	Probenprozesskontrolle (SPC1)	Ergebnisauswertung
Positiv, unter der unteren Bestimmungsgrenze (LLoQ)	Amplifiziert [HHV-6A] < 2.30 log_{10} Kopien/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HHV-6A-DNA unter dem quantitativen Bereich nachgewiesen
	Amplifiziert [HHV-6B] < 2.30 log_{10} IU/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HHV-6B-DNA unter dem quantitativen Bereich nachgewiesen
Negativ*	Nicht amplifiziert	Amplifiziert	HHV-6A/HHV-6B DNA nicht nachgewiesen
Unbestimmt	Nicht amplifiziert, Systemfehler erkannt, Probenverarbeitung abgeschlossen		Alle Zielergebnisse waren ungültig; Wiederholungstest †
Kein Ergebnis	Nicht amplifiziert, Systemfehler erkannt, Probenverarbeitung abgebrochen		Probenverarbeitung abgebrochen
Ungelöst	Nicht amplifiziert, Kein Systemfehler erkannt		Alle Zielergebnisse waren ungültig; Wiederholungstest †

*Wie bei anderen Tests schließen negative Ergebnisse eine Infektion mit HHV-6A- und/oder HHV-6B nicht aus.

†Das NeuMoDx™ System ist mit einer automatischen Funktion für Rerun/Repeat (Wiederholungsläufe) ausgestattet, die der Endbenutzer wählen kann, damit als IND/NR/UNR (Unbestimmt/Keine Ergebnisse/Offen) gemeldete Proben automatisch erneut verarbeitet und Verzögerungen bei der Ergebnismeldung vermieden werden.

Testberechnung

1. Für Proben innerhalb des Quantifizierungsbereichs des NeuMoDx™ HHV 2 Quant Assay wird die Konzentration der HHV-6A-DNA und HHV-6B-DNA in den Proben anhand der gespeicherten Standardkurven zusammen mit den Kalibrierkoeffizienten berechnet.
   a. Ein Kalibrierkoeffizient wird auf der Grundlage der Ergebnisse der NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators berechnet, die zur Feststellung der Gültigkeit der Standardkurve für eine bestimmte Charge des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip auf einem bestimmten NeuMoDx™ System für jedes Ziel verarbeitet wurden.
   b. Der Kalibrierkoeffizient wird in die endgültige Bestimmung der Konzentration der HHV-6A-DNA und HHV-6B-DNA einbezogen.
2. Die Ergebnisse des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay werden in log_{10} Kopien/mL und Kopien/mL für HHV-6A und in log_{10} IU/mL und IU/mL für HHV-6B angegeben.
3. Die daraus resultierende Quantifizierung der unbekannten Proben ist auf das EDX HHV-6A-Verifizierungspanel (Exact Diagnostics) rückführbar, das durch Droplet-Digital-PCR (ddPCR) quantifiziert wird, und auf den 1st WHO International Standard for HHV-6B virus DNA (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC Code: 15/266).

Testkalibrierung

Zur Quantifizierung der HHV-6A-DNA und/oder HHV-6B-DNA in den Proben ist eine gültige Kalibrierung auf der Grundlage der Standardkurve erforderlich. Um gültige Ergebnisse zu erzielen, muss eine Testkalibrierung für HHV-6A und HHV-6B anhand der von NeuMoDx™ Molecular, Inc. bereitgestellten Kalibratoren durchgeführt werden.

Kalibratoren

1. Die NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators werden in einem Kit (REF 801000) geliefert und bestehen aus einem getrockneten Pellet aus synthetischer HHV-6A-DNA und HHV-6B-DNA sowie einem spezifischen Puffer.
2. Ein Set HHV-6 calibrators muss mit jeder neuen Charge von NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips ausgeführt werden, wenn eine neue HHV-6 Assay Definition File in das NeuMoDx™ System hochgeladen wird, wenn das aktuelle Kalibratorset die Gültigkeitsdauer (derzeit auf 90 Tage festgelegt) überschritten hat oder wenn die Software des NeuMoDx™ Systems geändert wird.
3. Die Software des NeuMoDx™ System benachrichtigt den Benutzer, wenn die Kalibratoren ausgeführt werden müssen; eine neue Charge von Teststreifen kann erst dann zum Testen verwendet werden, wenn die Kalibratoren erfolgreich ausgeführt wurden.
4. Wenn ein neues Set HHV-6 Kalibratoren ausgeführt werden muss, lesen Sie vor der Durchführung des Tests alle Anweisungen in der Packungsbeilage der NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators.
5. Die Gültigkeit der Kalibrierung wird wie folgt festgelegt:
   a. Es müssen zwei Kalibrierkoeffizienten generiert werden, einer für HHV-6A und einer für HHV-6B, indem ein Set aus zwei Kalibratoren für jedes Ziel - High und Low - ausgeführt wird, um die Gültigkeit für jede Kurve festzulegen.
   b. Um gültige Ergebnisse zu erzeugen, müssen mindestens 2 der 3 Wiederholungen Ergebnisse innerhalb vordefinierter Parameter liefern. Der Sollwert des HHV-6A Kalibrator-Sets für den Low Kalibrator beträgt 3.0 log_{10} Kopien/mL und der Sollwert für den High Kalibrator beträgt 5.0 log_{10} Kopien/mL. Der Sollwert des HHV-6B Kalibrator-Sets für den Low Kalibrator beträgt 3.0 log_{10} Kopien/mL und der Sollwert für den High Kalibrator beträgt 5.0 log_{10} Kopien/mL
   c. Ein Kalibrierkoeffizient wird berechnet, um die erwartete Variation zwischen Teststreifenchargen zu berücksichtigen; dieser Kalibrierkoeffizient wird bei der Bestimmung der endgültigen HHV-6A- und/oder HHV-6B-Konzentration verwendet.
6. Wenn einer oder beide Kalibratoren die Gültigkeitsprüfung nicht bestehen, wiederholen Sie die Verarbeitung des/der fehlgeschlagenen Kalibrators/Kalibratoren mit einem neuen Fläschchen. Wenn ein Kalibrator die Gültigkeitsprüfung nicht besteht, ist es möglich, nur den fehlgeschlagenen Kalibrator zu wiederholen, da das System nicht verlangt, dass beide Kalibratoren erneut ausgeführt werden müssen.
7. Wenn der/die Kalibrator(en) die Gültigkeitsprüfung ein zweites Mal in Folge nicht bestehen, wenden Sie sich an den technischen Support von QIAGEN.

Qualitätskontrolle

Örtliche Vorschriften schreiben in der Regel vor, dass das Labor für Kontrollverfahren verantwortlich ist, die die Genauigkeit und Präzision des gesamten Analyseprozesses überwachen, und dass es die Anzahl, Art und Häufigkeit der Tests von Kontrollmaterialien anhand verifizierter Leistungsspezifikationen für ein unmodifiziertes, zugelassenes Testsystem festlegen muss.

Externe Kontrollen:

1. Externe Kontrollen für HHV-6A und HHV-6B (REF 901000) werden von NeuMoDx™ bereitgestellt. Die Positivkontrollen enthalten ein getrocknetes Pellet mit synthetischer HHV-6A- und HHV-6B-DNA. Die Negativkontrolle ist Puffer.
2. Die externen Positiv- und Negativkontrollen müssen einmal alle 24 Stunden verarbeitet werden. Wenn kein Set gültiger externer Kontrollen vorhanden ist, fordert die Software des NeuMoDx™ Systems zur Verarbeitung solcher Kontrollen auf, bevor die Probenergebnisse ausgegeben werden.
3. Wenn externe Kontrollen erforderlich sind, bereiten Sie die Positiv- und Negativkontrollen wie in der Packungsbeilage der HHV-6 External Controls angegeben vor, bevor Sie den Test durchführen.
4. Laden Sie die die Positiv- und Negativkontrollen über den Touchscreen und mit einem Röhrchenträger auf dem Autoloader in das NeuMoDx™ System. Das NeuMoDx™ System erkennt die Strichcodes und beginnt mit der Verarbeitung der externen Kontrollen, es sei denn, die für den Test erforderlichen Reagenzien oder Verbrauchsmaterialien sind nicht verfügbar.
5. Die Gültigkeit der externen Kontrollen wird vom NeuMoDx™ System auf der Grundlage der erwarteten Ergebnisse bewertet. Die Positivkontrolle sollte ein HHV-6A- und HHV-6B-positives Ergebnis und die Negativkontrolle ein HHV-6A- und HHV-6B-negatives Ergebnis liefern.
6. Bei abweichenden Ergebnissen der externen Kontrollen sollte wie folgt verfahren werden:
    a. Ein positives Testergebnis bei einer negativen Kontrollprobe deutet auf ein Kontaminationsproblem der Probe hin und die Qualitätskontrollverfahren des Labors müssen untersucht werden, um die Ursache zu finden. Achten Sie darauf, dass für die Probenvorbereitung, die Handhabung der Kontrollen und die Einrichtung der Real-Time-PCR getrennte Bereiche zur Verfügung stehen. Siehe Bedienerhandbuch des *NeuMoDx 288* oder *96 Molecular System* für weitere Tipps zur Fehlersuche.
    b. Ein negatives Testergebnis bei einer positiven Kontrollprobe kann auf ein reagenz- oder gerätebedingtes Problem hinweisen.
    c. In einem der oben genannten Fälle oder im Falle von Kein Ergebnis (NR), Offen (UNR) oder Unbestimmt (IND) wiederholen Sie die fehlgeschlagene(n) Kontrolle(n) mit einem neuen, frisch zubereiteten Fläschchen der Kontrolle(n), die den Gültigkeitstest nicht bestanden hat/haben.
    d. Wenn die Positivkontrolle der NeuMoDx™ HHV-6 External Controls weiterhin ein negatives Ergebnis liefert, wenden Sie sich bitte an den technischen Support von QIAGEN.
    e. Wenn die Negativkontrolle der NeuMoDx™ HHV-6 External Controls weiterhin ein positives Ergebnis liefert, versuchen Sie zuerst, alle potenziellen Kontaminationsquellen zu eliminieren, einschließlich des Austausches ALLER Reagenzien, und wiederholen Sie den Lauf, bevor Sie den technischen Support von QIAGEN kontaktieren.
7. Wenn die externen Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse liefern, muss ein Set aus Positiv- und Negativkontrollen wiederholt werden. Die Proben werden erst dann verarbeitet, wenn ein gültiges Set externer Kontrollen vom System verarbeitet wird. Für den Fall, dass Proben in Bearbeitung sind, während externe Kontrollen ablaufen, müssen gültige externe Kontrollen ausgeführt werden. Wenn das externe Kontrollset keine gültigen Ergebnisse liefert, werden keine Probenergebnisse ausgegeben.

(Interne) Prozessprobenkontrollen

Eine exogene Probenprozesskontrolle (SPC1) ist in die NeuMoDx™ Extraction Plate integriert und durchläuft mit jeder Probe/Kontrolle/Kalibrator den gesamten Prozess der Nukleinsäureextraktion und Real-Time-PCR-Amplifikation. Primer und Sonden, die für SPC1 spezifisch sind, sind in jedem NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip enthalten, sodass das Vorhandensein von SPC1 zusammen mit der HHV-6A- und / HHV-6B-Zielsequenz (falls vorhanden) mittels Multiplex-Real-Time-PCR nachgewiesen werden kann. Der Nachweis der SPC1-Amplifikation ermöglicht es der Software des NeuMoDx™ System, die Wirksamkeit der DNA-Extraktions- und PCR-Amplifikationsschritte zu überwachen.

Ungültige Ergebnisse

Wenn ein NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, der auf dem NeuMoDx™ System durchgeführt wird, kein gültiges Ergebnis liefert, wird das Ergebnis je nach Art des aufgetretenen Fehlers als Unbestimmt (IND), Kein Ergebnis (NR) oder Offen (UNR) ausgegeben. Der Test sollte wiederholt werden, um ein gültiges Ergebnis zu erhalten.

Das Ergebnis Indeterminate (Unbestimmt) wird ausgegeben, wenn während der Probenverarbeitung ein Fehler beim NeuMoDx™ System festgestellt wird. In diesem Fall wird ein erneuter Test empfohlen.

Das Ergebnis No Result (Kein Ergebnis) wird ausgegeben, wenn während der Probenverarbeitung ein Fehler beim NeuMoDx™ System festgestellt und die Probenverarbeitung abgebrochen wird. In diesem Fall wird ein erneuter Test empfohlen.

Das Ergebnis Unresolved (Offen) wird ausgegeben, wenn kein Ziel detektiert wird und keine Amplifikation von HHV-6A-DNA, HHV-6B-DNA oder SPC1 stattfindet, was auf ein mögliches Versagen des Reagens oder das Vorhandensein von Inhibitoren hinweist. In diesem Fall kann in einem ersten Schritt ein erneuter Test durchgeführt werden. Schlägt ein Wiederholungstest fehl, kann eine verdünnte Probe verwendet werden, um die Auswirkungen einer Probeninhibition zu mildern (siehe Abschnitt „Einschränkungen“ für weitere Anweisungen).

Siehe Bedienerhandbuch des NeuMoDx 288 Molecular System (PN: 40600108) oder des NeuMoDx 96 Molecular System (PN: 40600317) f für eine Liste von Fehlercodes im Zusammenhang mit ungültigen Ergebnissen.

LEISTUNGSDATEN[10,11,15]

Analytische Sensitivität - Nachweisgrenze[12]

Die analytische Sensitivität des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay wurde durch Testen einer Verdünnungsreihe des EDX HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) und des HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics, mit dem 1st WHO International Standard for HHV-6B, 15/266 kalibriert) in HHV-6A/HHV-6B-negativen Plasmaproben charakterisiert, um die Nachweisgrenze(LoD) auf den NeuMoDx™ Systems zu bestimmen. Die Nachweisgrenze ist definiert als die niedrigste nachweisbare Konzentration mit einer Hit-Rate von 95%. Die Berechnung erfolgt mittels auf experimentelle Daten angewandter Probit-Analyse mit einem 95%-Konfidenzintervall (CI). Die Studie wurde über 3 Tage an mehreren Systemen mit mehreren Chargen von NeuMoDx™ Reagenzien durchgeführt. Jedes System verarbeitete 42 Replikate in jeder Verdünnungsstufe (positive Proben) und 8 Replikate für negative Proben pro Tag. Die Detektionsraten sind in *Tabelle 2* dargestellt.

Tabelle 2: Positive Nachweisraten für die LoD-Bestimmung des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

HHV-6A					HHV-6B				
Zielkonzentration [Kopien/mL]	Zielkonzentration [log_{10} Kopien/mL]	Anzahl gültiger Tests	Anzahl Positive	Nachweisrate	Zielkonzentration [IU/ml]	Zielkonzentration [log_{10} IU/mL]	Anzahl gültiger Tests	Anzahl Positive	Nachweisrate
200	2.30	45	44	97.8%	200	2.30	46	44	95.7%
80	1.90	45	32	71.1%	100	2.00	42	24	57.1%
60	1.78	43	26	60.5%	80	1.90	44	19	43.2%
40	1.60	42	10	23.8%	60	1.78	43	14	32.6%
20	1.30	44	1	2.3%	40	1.60	43	5	11.6%
0	0	47	0	0%	0	0	48	0	0%

Die LoD des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay wurde mittels Probit-Analyse auf 123.5 Kopien/mL (2.09 log_{10} Kopien/mL) (95%-Konfidenzintervall) festgelegt: 102.1 bis 145.0 Kopien/mL) für HHV-6A und 178.2 IU/mL (2.25 log_{10} Kopien/mL) (95%-Konfidenzintervall: 151.3 bis 205.0 IU/mL) für HHV-6B.

Analytische Sensitivität - Untere Bestimmungsgrenze (LLoQ) und obere Bestimmungsgrenze (ULoQ)[12]

Die untere Bestimmungsgrenze (LLoQ) und die obere Bestimmungsgrenze (ULoQ) sind definiert als die niedrigste Zielkonzentration und die obere Zielkonzentration, bei der eine >95%ige Detektion erreicht wird UND der TAE ≤ 1.0 ist. Um die LLoQ und ULoQ zu bestimmen, wurde der analytische Gesamtfehler (TAE) für jede der HHV-6A- und HHV-6B-Zielkonzentrationen berechnet, bei denen nachweislich eine >95%ige Detektion erreicht wird. Der TAE ist wie folgt definiert:

$$\mathrm{TAE} = |\mathrm{Bias}| + 2 * \mathrm{SD}$$ [Westgard-Regeln]

Der Bias ist der absolute Wert der Differenz zwischen dem Mittelwert der berechneten Konzentration und der erwarteten Konzentration. SD bezieht sich auf die Standardabweichung des quantitativen Werts der Probe.

Die ermittelten Ergebnisse für die 5 Konzentrationen von HHV-6A/HHV 6B-Plasmaproben, die in der LLoQ/ULoQ-Studie verwendet wurden, sind in Tabelle 3 und 4 dargestellt. Auf der Grundlage dieses Datensatzes und der zuvor ermittelten LoD wurden die LLoQ und ULoQ für HHV-6A auf 200 Kopien/mL (2.30 log_{10} Kopien/mL) und $1x10^6$ Kopien/mL und für HHV-6B auf 200 IU/mL (2.30 log_{10} Kopien/mL) und $1x10^6$ IU/mL festgelegt.

Tabelle 3: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip; HHV-6A ULoQ und LLoQ, mit Bias und TAE

Zielkonz. [Kopien/mL]	Zielkonz. [log_{10} Kopien/mL]	Durchschnittskonz. [log_{10} Kopien/mL]	Nachweis (%)	SD	Bias	TAE
10^6	6.00	5.76	100%	0.34	0.24	0.91
200	2.30	2.34	97.8%	0.30	0.03	0.63
80	1.90	2.19	71.1%	0.27	0.28	0.83
60	1.78	2.21	60.5%	0.21	0.43	0.86
40	1.60	2.18	23.8%	0.15	0.57	0.87
20	1.30	2.17	2.3%	N.A.	0.87	N.A.

Tabelle 4: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip; HHV-6B ULoQ und LLoQ, mit Bias und TAE

Zielkonz. [IU/mL]	Zielkonz. [log_{10} IU/mL]	Durchschnittskonz. [log_{10} IU/mL]	Nachweis (%)	SD	Bias	TAE
10^6	6.00	6.06	100%	0.32	0.06	0.71
200	2.30	2.12	95.7%	0.22	0.18	0.62
100	2.00	2.04	57.1%	0.24	0.04	0.52
80	1.90	1.99	43.2%	0.26	0.08	0.61
60	1.78	1.92	32.6%	0.26	0.15	0.67
40	1.60	1.79	11.6%	0.22	0.19	0.62

Auf der Grundlage der Ergebnisse dieser Studien wurden die LoD des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay auf 123.5 Kopien/mL (2.09 log_{10} Kopien/mL) für HHV-6A und 178.2 IU/mL (2.25 log_{10} IU/mL) für HHV-6B festgelegt. Die LoQ betrug 200 Kopien/mL (2.30 log_{10} Kopien/mL) für HHV-6A und 200 IU/mL (2.30 log_{10} IU/mL) für HHV-6B. Die ULoQ beträgt 1x10^6 Kopien/mL für HHV-6A und 1x10^6 IU/mL für HHV-6B.

Linearität[13]

Die Linearität des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip wurde in Plasma durch die Herstellung einer Verdünnungsreihe mit dem EDX HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) und dem EDX HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics) festgelegt. Acht (8) serielle Verdünnungen von HHV-6A/HHV-6B-Panels, hergestellt in HHV-6A/HHV-6B-negativem Humanplasma, wurden erstellt, um einen Konzentrationsbereich von 6 - 2 log_{10} Kopien/mL abzudecken.
Die vom NeuMoDx™ System ausgegebenen HHV-6A/HHV-6B-Testkonzentrationen im Vergleich zu den erwarteten Werten sind auf den Abbildungen 2 und 3 dargestellt.

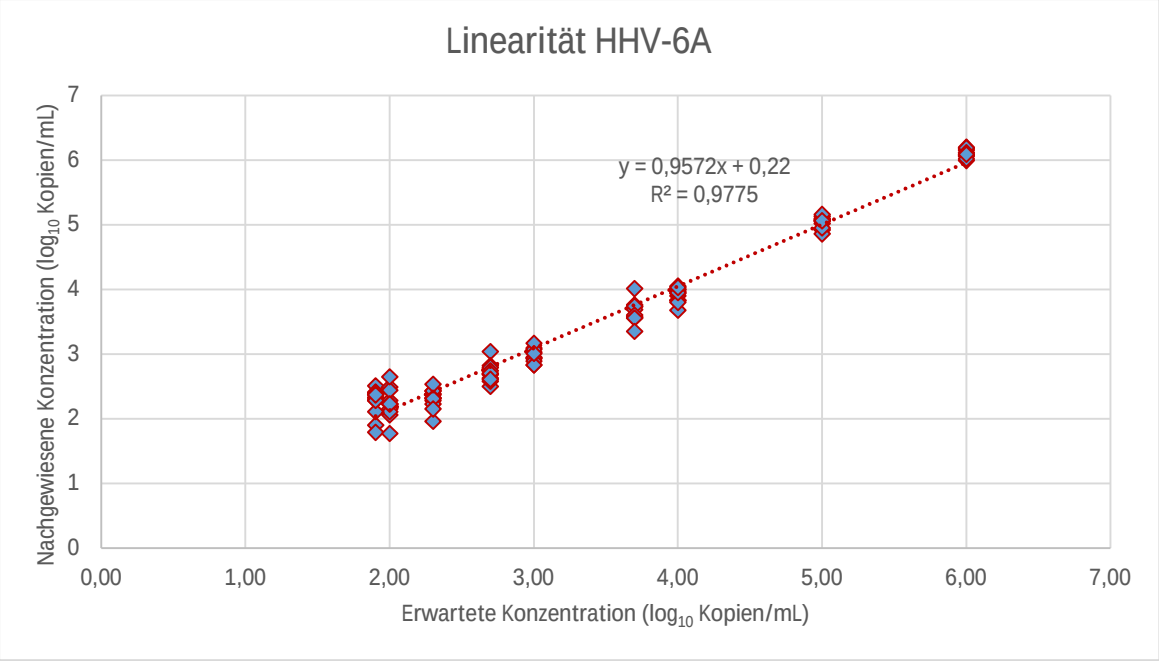

Abbildung 2: Linearität des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay für HHV-6A

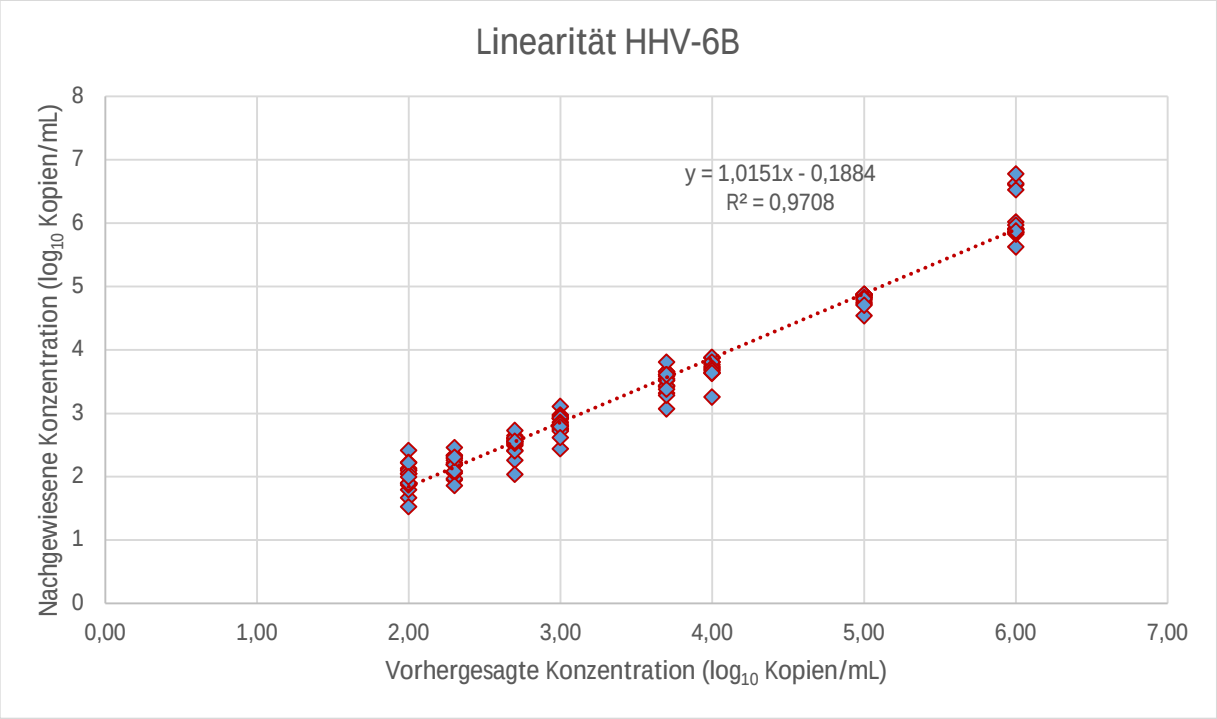

Abbildung 3: Linearität des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay für HHV-6B

Analytische Spezifizität – Kreuzreaktivität[10, 11]

Die analytische Spezifität wurde durch Screening von 22 Organismen, die häufig in Plasmaproben vorkommen, sowie von Spezies, die phylogenetisch HHV-6A und HHV-6B ähnlich sind, auf Kreuzreaktivität nachgewiesen. Die Organismen wurden in Pools von 5/6 Organismen präpariert und in hoher Konzentration (3.48 log_{10} Kopien/mL).getestet. Die getesteten Organismen sind in *Tabelle 5* dargestellt. Bei keinem der getesteten Organismen wurde eine Kreuzreaktivität beobachtet, was die 100 %ige analytische Spezifität des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay bestätigt.

Tabelle 5: Zum Nachweis der analytischen Spezifität verwendete Erreger

Nicht-Zielorganismen					
Klebsiella pneumonia	*Enterococcus faecalis*	*Staphylococcus aureus*	*Streptococcus pneumoniae*	*Staphylococcus epidermidis*	*Streptococcus pyogenes*
Humanes Immundefizienz-Virus 1	Hepatitis-B-Virus	Adenovirus Typ 5	Epstein-Barr-Virus	Varicella-Zoster-Virus	Enterovirus 68
BK-Virus	Herpes-Simplex-Virus 1	Herpes-Simplex-Virus 2	Humanes Gammaherpesvirus 8	Cytomegalovirus	Humanes Betaherpesvirus 7
HTVL-1	HTVL-2	JC-Virus	SV40	Humanes Immundefizienz-Virus 2	

Analytische Spezifizität – Störsubstanzen, Kommensalen[10, 11]

Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay wurde auf Interferenz in Gegenwart von Nicht-Zielorganismen unter Verwendung derselben Organismenpools untersucht, die für die oben in Tabelle 6 aufgeführten Kreuzreaktivitätstests vorbereitet wurden. Negatives HHV-6A/HHV-6B-Plasma wurde mit den in Gruppen von 4-7 Organismen gepoolten Organismen versetzt und zudem mit HHV-6A/HHV-6B in einer Konzentration von 2.78 log_{10} Kopien/mL (600 IU/mL; 3x LoD) versetzt. Es wurden keine signifikanten Interferenzen in Gegenwart dieser Kommensalen beobachtet, wie durch die minimale Abweichung der Quantifizierung von Kontrollproben, die keine Störsubstanzen enthielten, gezeigt wurde.

Analytische Spezifizität – Störsubstanzen, endogene und exogene Substanzen[10, 11]

Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay wurde in Gegenwart typischer exogener und endogener Störsubstanzen in klinischem HHV-6A/HHV-6B-Plasma evaluiert. Dazu gehörten anormal hohe Konzentrationen von Blutbestandteilen sowie übliche Virostatika, die in Tabelle 6 klassifiziert sind. Jede

Substanz wurde zu gescreentem HHV-6A/HHV-6B-negativem Humanplasma, das mit 2.78 log_{10} IU/mL (600 IU/mL; 3x LoD) HHV-6A/HHV-6B versetzt wurde, hinzugefügt und die Proben wurden auf Interferenzen analysiert.
Die durchschnittliche Konzentration und der Bias aller getesteten Substanzen im Vergleich zu Kontrollproben, die mit derselben HHV-6A/HHV-6B-Konzentration versetzt waren, sind in Tabelle 7 aufgeführt. Keine der exogenen und endogenen Substanzen beeinträchtigte die Spezifität des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.

Tabelle 6: Interferenzprüfung - Exogene Agenzien (Arzneimittelklassifikationen)

Pool	Medikamentenname	Klassifizierung
Pool 1	Valganciclovir	VIROSTATIKUM
	Prednison	IMMUNSUPPRESSIVUM
	Cidofovir	VIROSTATIKUM
	Cefotaxim	ANTIBIOTIKUM
	Mycophenolat-Mofetil	IMMUNSUPPRESSIVUM
Pool 2	Vancomycin	ANTIBIOTIKUM
	Tacrolimus	IMMUNSUPPRESSIVUM
	Famotidine	HISTAMIN-ANTAGONIST
	Valacyclovir	VIROSTATIKUM
	Leflunomide	IMMUNSUPPRESSIVUM

Tabelle 7: Interferenzprüfung - Exogene und endogene Agenzien

Endogen (Plasma)	HHV-6A		HHV-6B	
	Durchschnittskonz.	Bias	Durchschnittskonz.	Bias
	log_{10} Kopien/mL	log_{10} Kopien/mL	log_{10} IU/ml	log_{10} IU/ml
Triglyceride (500 mg/dL)	1.91	0.24	2.10	-0.13
Konjugiertes Bilirubin (0.25 g/L)	2.14	0.01	2.07	-0.10
Unkonjugiertes Bilirubin (0.25 g/L)	1.71	0.44	1.61	0.37
Albumin (58.7 g/L)	2.27	-0.13	2.04	-0.06
Hämoglobin (2.9 g/L)	2.23	-0.08	1.98	-0.01
Humane DNA (2 mg/mL)	1.74	0.41	1.86	0.12
Exogen (Arzneimittel)	**Durchschnittskonz.**	**Bias**	**Durchschnittskonz.**	**Bias**
	log_{10} Kopien/mL	log_{10} Kopien/mL	log_{10} IU/ml	log_{10} IU/ml
Pool 1: Valganciclovir, Prednison, Cidofovir, Cefotaxim, Mycophenolat-Mofetil	1.65	0.28	2.07	0.06
Pool 2: Vancomycin, Tacrolimus, Famotidin, Valacyclovir, Leflunomid	2.18	-0.25	1.97	0.16

Wiederholbarkeit und laborinterne Präzision[14]

Die Präzision des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip wurde bestimmt, indem 2 Replikate eines Dreierpanels von HHV-6A/HHV-6B-Proben, die zweimal täglich mit HHV-6A- oder HHV-6B-Plasmid präpariert wurden, mit einem NeuMoDx™ 96 Systemüber 20 Tage getestet wurden. Die Präzision innerhalb der Serie und innerhalb des Tages wurde charakterisiert, und die Gesamtstandardabweichung wurde mit ≤ 0.25 log_{10} Kopien/mL für HHV-6A und ≤ 0.25 log_{10} IU/mL für HHV-6B bestimmt. Es wurde eine ausgezeichnete Präzision über Tage und Serien hinweg nachgewiesen, wie in *Tabelle 8* dargestellt. Die Präzision zwischen den Bedienpersonen wurde nicht charakterisiert, da die Bedienperson bei der Verarbeitung der Proben mit dem NeuMoDx™ System keine signifikante Rolle spielt.

Tabelle 8: Präzision im Labor – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay auf NeuMoDx™ System 96

Probe	SD Wiederholbarkeit	SD zwischen Serien	SD innerhalb des Tages	SD zwischen Tagen	SD gesamt (im Labor)
HHV-6A					
5.67 log_{10} Kopien/mL	0.166	0.000	0.166	0.051	0.173
4.67 log_{10} Kopien/mL	0.071	0.000	0.071	0.048	0.086
3.67 log_{10} Kopien/mL	0.190	0.028	0.192	0.059	0.200
2.48 log_{10} Kopien/mL	0.151	0.051	0.159	0.000	0.159
HHV-6B					
5.14 log_{10} IU/mL	0.217	0.000	0.217	0.070	0.228
4.14 log_{10} IU/mL	0.155	0.000	0.155	0.056	0.165
3.14 log_{10} IU/mL	0.141	0.000	0.141	0.038	0.146
2.70 log_{10} IU/mL	0.225	0.079	0.239	0.000	0.239

Reproduzierbarkeit von Charge zu Charge[14]

Die Reproduzierbarkeit zwischen Chargen des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip wurde unter Verwendung von drei verschiedenen Chargen von NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips bestimmt. Ein Viererpanel von HHV-6A und HHV-6B, das mit dem HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) bzw. dem EDX HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics) vorbereitet wurde, wurde zur Bewertung der Leistung auf einem NeuMoDx™ 96 Molecular System in fünf separaten Serien verwendet. Die Variation innerhalb und zwischen Chargen wurde analysiert und die Ergebnisse, als Standardabweichung zwischen Chargen ausgedrückt, sind in Tabelle 9 dargestellt. Die größte Standardabweichung betrug 0.257 Kopien/mL. Es wurde eine gleichwertige Leistung zwischen den Chargen nachgewiesen, da die SD aller Panelelemente innerhalb der Toleranzspezifikation lag (SD Reproduzierbarkeit ≤ 0.3 log_{10} Kopien/mL).

Tabelle 9: Reproduzierbarkeit zwischen Chargen – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

Probe	SD Wiederholbarkeit	SD zwischen Tagen	SD innerhalb der Charge	SD zwischen Chargen	SD Reproduzierbarkeit
HHV-6A					
4.73 x10^5 Kopien/mL	0.160	0.061	0.171	0.073	0.186
4.73 x10^3 Kopien/mL	0.166	0.087	0.188	0.069	0.200
600 Kopien/mL	0.099	0.088	0.132	0.091	0.160
HHV-6B					
1.38 x10^5 IU/mL	0.199	0.161	0.256	0.025	0.257
1.38 x10^3 IU/mL	0.214	0.068	0.224	0.093	0.243
600 IU/mL	0.120	0.069	0.139	0.062	0.152

Reproduzierbarkeit zwischen Geräten[14]

Die Reproduzierbarkeit des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip zwischen Geräten wurde mit drei verschiedenen Systemen (ein NeuMoDx™ 288 Molecular System und zwei NeuMoDx™ 96 Molecular System) bestimmt. Ein Viererpanel von HHV-6A/HHV-6B, das mit dem HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) bzw. dem EDX HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics) vorbereitet wurde, wurde zur Bewertung der Leistung verwendet. Die Tests wurden 5 Tage lang auf den Systemen durchgeführt. Die Variation innerhalb eines Tages und zwischen den Systemen wurde charakterisiert, und die Gesamtstandardabweichung wurde mit ≤ 0.30 log_{10} Kopien/mL für HHV-6A und ≤ 0.30 log_{10} IU/mL für HHV-6B bestimmt. Es wurde eine gleichwertige Leistung zwischen den Systemen nachgewiesen, da die SD bei der Quantifizierung aller Panelelemente innerhalb der Toleranzspezifikation lag (Tabelle 10).

Tabelle 10: Reproduzierbarkeit zwischen Geräten – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip

Probe	SD Wiederholbarkeit	SD zwischen Tagen	SD innerhalb des Systems	SD zwischen Systemen	SD Reproduzierbarkeit
HHV-6A					
5.67 log_{10} Kopien/mL	0.228	0.000	0.228	0.000	0.228
4.67 log_{10} Kopien/mL	0.149	0.000	0.149	0.021	0.151
3.67 log_{10} Kopien/mL	0.210	0.101	0.233	0.000	0.233
2.48 log_{10} Kopien/mL	0.157	0.079	0.176	0.000	0.176
HHV-6B					
5.14 log_{10} IU/mL	0.215	0.072	0.227	0.000	0.227
4.14 log_{10} IU/mL	0.259	0.014	0.260	0.023	0.261
3.14 log_{10} IU/mL	0.178	0.062	0.189	0.000	0.189
2.70 log_{10} IU/mL	0.149	0.079	0.169	0.000	0.169

QUELLENANGABE

1. Rifai, N., Horvath, A.R., Wittwer, C.T., Tietz, N.W. (Eds.), 2018. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics, Sixth edition. ed. Elsevier, St. Louis, Missouri.
2. Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections. Clin Microbiol Rev. 2015 Apr;28(2):313-35. doi: 10.1128/CMR.00122-14. PMID: 25762531; PMCID: PMC4402955.
3. Hill JA. Human herpesvirus 6 in transplant recipients: an update on diagnostic and treatment strategies. Curr Opin Infect Dis. 2019 Dec;32(6):584-590. doi: 10.1097/QCO.0000000000000592. PMID: 31567413; PMCID: PMC7141773.
4. Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Human Herpesviruses 6A, 6B, and 7. Microbiol Spectr. 2016 Jun;4(3). doi: 10.1128/microbiolspec.DMIH2-0007-2015. PMID: 27337451
5. Navarro E, Serrano-Heras G et all. 2015 Real-time PCR Detection Chemistry. Clin Chim Acta.15;439:231-50. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens,
6. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington,DC: US Government Printing Office, January 2009.
7. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed.Geneva: World Health Organization, 2004.
8. CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
9. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline—Second Edition CLSI Document MM13. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020
10. CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectius Diseases. Approved Guideline – Third Edition. CLSI document MM03. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015
11. CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectius Diseases; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document MM06-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2010
12. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2012
13. 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
14. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2014
15. CLSI. Metrological Traceability and Its Implementation; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Report EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2006

MARKEN

NeuMoDx™ ist eine Marke von NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® ist eine eingetragene Marke von Roche Molecular Systems, Inc.

Seracare® ist eine eingetragene Marke von Seracare Life Sciences, Inc..

Alle anderen Produktnamen, Warenzeichen und eingetragenen Warenzeichen, die in diesem Dokument erscheinen, sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

SYMBOLE

SYMBOL	BEDEUTUNG
Rx Only	Rezeptpflichtig
	Hersteller
	Vertrieb
IVD	In-Vitro-Diagnostikum
REF	Bestellnummer
LOT	Chargenbezeichnung
	Gebrauchsanweisung beachten
	Vorsicht, Begleitdokumente konsultieren
	Temperaturbegrenzung
	Vor Feuchtigkeit schützen
	Nicht wiederverwenden
	Vor Licht schützen
	Ausreichend für <n> Tests
	Verwendbar bis

SENTINEL CH. S.p.A.
Via Robert Koch, 2
20152 Mailand, Italien

www.sentineldiagnostics.com

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

+1 888 301 NMDX (6639)
Technischer Support: support.qiagen.com
Vigilanzmeldung: support.qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents

REF 202500 NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip

Rx Only

ACHTUNG: Nur für den Export in die USA

IVD Für die *In-Vitro*-Diagnostik mit den NeuMoDx™ 288 und NeuMoDx™ 96 Molecular Systems

Vor dem Gebrauch diese Packungsbeilage aufmerksam durchlesen. Die Anweisungen der Packungsbeilage sind entsprechend zu befolgen.

Die Zuverlässigkeit der Testergebnisse kann nur bei genauer Befolgung der in der Packungsbeilage enthaltenen Anweisungen garantiert werden.

Ausführliche Anweisungen finden Sie im NeuMoDx™ 288 Molecular Bedienerhandbuch; P/N 40600108

Ausführliche Anweisungen finden Sie im NeuMoDx™ 96 Molecular Bedienerhandbuch; P/N 40600317

VERWENDUNGSZWECK

Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay ist ein automatisierter *in vitro* Nukleinsäure-Amplifikationstest zur Quantifizierung und Differenzierung von viraler DNA des Humanen Betaherpesvirus 6A (HHV-6A) und/oder Humanen Betaherpesvirus 6B (HHV-6B) in EDTA-Plasma von immungeschwächten Transplantationspatienten.[1,2]

DerNeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, der auf dem NeuMoDx™ 288 Molecular System und NeuMoDx™ 96 Molecular System durchgeführt wird, umfasst einen automatisierten DNA-Extraktionsschritt zur Isolierung der Zielnukleinsäure aus der Probe und einen Real-Time-PCR-Schritt, um zwei stark konservierte Regionen im HHV-6A- und HHV-6B-Genom anzuvisieren.

Der Test ist als Hilfsmittel für die Überwachung von HHV-6A- und/oder HHV-6B-DNA-Konzentrationen in EDTA-Plasma bestimmt. Dieser Test ist gemeinsam mit dem klinischen Bild und anderen Labormarkern für den Krankheitsverlauf beim klinischen Management und Monitoring von HHV-6A- und/oder HHV-6B-Infektionen vorgesehen.

Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay ist nicht zur Verwendung als Screening-Test für HHV-6A- und/oder HHV-6B-DNA in Blut oder Blutprodukten vorgesehen.

Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay darf nur von entsprechend qualifiziertem klinischem Laborpersonal durchgeführt werden, das speziell in den Techniken der Real-Time-PCR und In-vitro-Diagnoseverfahren und/oder NeuMoDx™ Molecular Systems geschult wurde. Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay ist nicht für Selbsttests oder Point-of-Care-Anwendungen vorgesehen.

INHALT UND ERKLÄRUNG

Menschliches Vollblut, das in sterilen Blutentnahmeröhrchen, die EDTA als Antikoagulationsmittel enthalten, oder in PPT-Röhrchen gesammelt wird, kann für die Zubereitung von Plasma verwendet werden. Als Vorbereitungsschritt vor dem Test wird Plasma in einem Primär- oder Sekundärröhrchen, das mit dem NeuMoDx™ System kompatibel ist, anhand eines dafür vorgesehenen Röhrchenträgers in das NeuMoDx™ System geladen, um mit der automatischen Verarbeitung zu beginnen.

Ein 550 µL Aliquot der Plasmaprobe wird mit NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 gemischt und das NeuMoDx™ System führt automatisch alle erforderlichen Schritte durch, um die Zielnukleinsäure zu extrahieren, die isolierte DNA für die Real-Time-PCR-Amplifikation vorzubereiten und, falls vorhanden, die Amplifikationsprodukte zu amplifizieren und nachzuweisen. Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay enthält eine DNA-Probenprozesskontrolle (SPC1), mit deren Hilfe auf potenziell inhibierende Substanzen sowie mögliche Fehler des NeuMoDx™ System oder von Reagenzien während der Extraktions- und Amplifikationsschritte kontrolliert werden kann.

Das Humane Herpesvirus 6 (HHV-6) gehört zur Unterfamilie der Betaherpesvirinae und umfasst zwei verschiedene Arten, HHV-6A und HHV-6B2.[2] Es handelt sich um ein DNA-Virus, das einen Tropismus für Gewebe des zentralen Nervensystems, Tonsillen, Speicheldrüsen, Nieren, Leber, Lymphknoten, Endothelzellen und Monozyten/Makrophagen aufweist[4]. Primäres Syndrom einer HHV-6-Infektion ist das Exanthema subitum (Roseola oder „Sechste Krankheit").[1,2,3,4] Es handelt sich fast ausschließlich um eine Kinderkrankheit, die 10 bis 30 % der Notaufnahmefälle bei Kindern unter 2 Jahren ausmacht.[1] Wie alle Herpesviren kann HHV-6 nach der Erstinfektion lebenslang latent bleiben, u. a. in hämatopoetischen Stammzellen und Keimzellen, womit sowohl eine horizontale als auch eine vertikale Transmission möglich ist.[2] Dieses Phänomen wurde bei 0.2 bis 1 % der Allgemeinbevölkerung beschrieben.[4]. Bei einem immungeschwächten Wirt kann das latente Virus reaktiviert werden und schwere Erkrankungen verursachen, darunter Pneumonitis, ZNS-Erkrankungen und verzögertes Engraftment oder Graft-versus-Host-Disease (GVHD). Die Inzidenz der HHV-6-Reaktivierung reicht von etwa 0 % bis 80 % (durchschnittl. 30 % bis 50 %) bei Patienten mit einer Organtransplantation (OT) oder Knochenmarkstransplantation (KMT),mit leichter leichte Präferenz für BMT.[1] Im Gegensatz zu HHV-6B wird eine HHV-6A-Reaktivierung nur selten nach einer Transplantation festgestellt. Die HHV-6B-Reaktivierung tritt bei etwa 40 % der Betroffenen innerhalb der ersten Monate auf. Sie ist die häufigste infektiöse Ursache einer Enzephalitis nach HCT (1 % der Fälle). Bei Patienten mit einer HHV-6B-Enzephalitis wird in der Regel gleichzeitig HHV-6B im Plasma nachgewiesen; die Viruslast beträgt ≥10,000 Kopien/ml.[3]

GRUNDSÄTZE DES VERFAHRENS

Für den NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay auf dem NeuMoDx™ System sind der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, die NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators, NeuMoDx™ HHV-6 External Controls, der NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 und die NeuMoDx™ Reagenzien für den allgemeinen Gebrauch zur Durchführung der Analyse erforderlich. Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay kombiniert automatisierte DNA-Extraktion, Amplifikation und Detektion mittels Real-Time-PCR. Plasmaproben in mit dem NeuMoDx™ System kompatiblen Primär- oder Sekundärröhrchen werden in einen Röhrchenträger gegeben, der dann zur Verarbeitung in das NeuMoDx™ System geladen wird. Es ist kein weiterer Bedienereingriff erforderlich.

Die NeuMoDx™ Systems stützen sich auf eine Kombination aus Wärme, lytischem Enzym und Extraktionsreagenzien zur automatischen Durchführung der Zelllyse, DNA-Extraktion und Beseitigung von Inhibitoren. Die freigesetzten Nukleinsäuren werden durch affinitätsmagnetische Mikrosphären eingefangen. Die Mikrosphären mit den gebundenen Nukleinsäuren werden in die NeuMoDx™ Cartridge geladen, wo die ungebundenen, nicht-DNA-Komponenten mit NeuMoDx™ Wash Reagent weiter abgewaschen werden und die gebundene DNA mit NeuMoDx™ Release Reagent eluiert wird. Die NeuMoDx™ Systems verwenden dann die eluierte DNA zur Rehydrierung der firmeneigenen gefriergetrockneten Amplifikationsreagenzien von SENTINEL CH. S.p.A., die alle für die PCR-Amplifikation der HHV-6-spezifischen Targets und des SPC1-Targets erforderlichen Elemente

enthalten. Nach der Rekonstitution der lyophilisierten PCR-Reagenzien gibt das NeuMoDx™ System die vorbereitete PCR-fertige Mischung in NeuMoDx™ Cartridge ab. Amplifikation und Nachweis der Kontroll- und Ziel-DNA-Sequenzen (falls vorhanden) erfolgen in der PCR-Kammer der NeuMoDx™ Cartridge. Die NeuMoDx™ Cartridge ist auch so konzipiert, dass sie das Amplikon nach der Real-Time-PCR enthält, wodurch das Risiko einer Kontamination nach der Amplifikation im Wesentlichen ausgeschlossen wird.

Die genomischen Targets für den NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip sind die U31- und U67-Gene der viralen HHV-6A- und HHV-6B-Genome. Die amplifizierten Targets werden in Echtzeit anhand von Hydrolyse-Sonden-Chemie (allgemein als TaqMan® Chemie bezeichnet) nachgewiesen, wobei fluorogene Oligonukleotid-Sondenmoleküle zum Einsatz kommen, die spezifisch für die Amplikons ihrer jeweiligen Targets sind. TaqMan® Sonden bestehen aus einem Fluorophor, das kovalent an das 5'-Ende der Oligonukleotidsonde gebunden ist, und einem Quencher am 3'-Ende. Während die Sonde intakt ist, befinden sich das Fluorophor und der Quencher in der Nähe, was dazu führt, dass das Quenchermolekül die Fluoreszenz des Fluorophors durch Förster-Resonanzenergietransfer (Förster Resonance Energy Transfer, FRET) unterdrückt. TaqMan® Sonden sind so konzipiert, dass sie innerhalb einer DNA-Region, die durch einen spezifischen Satz von Primern amplifiziert ist, anlagern. Während die Taq-DNA-Polymerase den Primer verlängert und den neuen Strang synthetisiert, sorgt die 5'-3'-Exonuklease-Aktivität der Taq-DNA-Polymerase für den Abbau der Sonde, die sich an das Template angelagert hat. Der Abbau der Sonde setzt das Fluorophor frei und der Abstand zum Quencher wird größer. Dadurch wird der Löscheffekt durch FRET aufgehoben und das Fluorophor kann nachgewiesen werden. Die Intensität des resultierenden Fluoreszenzsignals, das im quantitativen RT-PCR-Thermocycler des NeuMoDx™ System nachgewiesen wird, ist direkt proportional zum freigesetzten Fluorophor und kann zur Menge der vorhandenen Ziel-DNA in Beziehung gesetzt werden.[5]

Für den Nachweis von HHV-6A-DNA, HHV-6B-DNA und SPC1-DNA werden TaqMan® Sonden verwendet, die am 5'-Ende mit Fluorophoren und am 3'-Ende mit Quenchern markiert sind. Die Software des NeuMoDx™ Systems überwacht das von den TaqMan® Sonden am Ende jedes Amplifikationszyklus emittierte Fluoreszenzsignal. Nach Abschluss der Amplifikation analysiert die NeuMoDx™ System Software die Daten und gibt ein Ergebnis aus (POSITIVE (POSITIV) / NEGATIVE (NEGATIV) / INDETERMINATE (UNBESTIMMT) / UNRESOLVED (OFFEN) / NO RESULT (KEIN ERGEBNIS)). Wenn ein Ergebnis positiv ist und die berechnete Konzentration innerhalb der Quantifizierungsgrenzen liegt, liefert die NeuMoDx™ System Software auch einen quantitativen Wert für die Probe oder weist darauf hin, wenn die berechnete Konzentration außerhalb des linearen Bereichs liegt.

REAGENZIEN/VERBRAUCHSMATERIALIEN

Im Lieferumfang enthaltene Materialien

REF:	Inhalt	Tests pro Einheit	Tests pro Packung
202500	NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip *Gefriergetrocknete PCR-Reagenzien mit HHV-6A-spezifischen TaqMan® Sonden und Primern, HHV-6B-spezifischen TaqMan® Sonden und Primern sowie SPC1-spezifischen TaqMan® Sonden und Primern.*	16	96

Zusätzlich erforderliche Reagenzien und Verbrauchsmaterialien (separat von NeuMoDx erhältlich)

REF:	Inhalt
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate *Getrocknete paramagnetische Partikel, lytisches Enzym und Probenprozesskontrollen.*
801000	NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators *Einweg-Sets aus HHV-6A und HHV-6B High und Low getrockneten Kalibratoren zur Erstellung einer Standardkurve.*
901000	NeuMoDx™ HHV-6 External Controls Einweg-Sets aus getrockneten HHV-6A und HHV-6B Positiv-und Negativkontrollen zur Feststellung der täglichen Gültigkeit des *NeuMoDx*™ HHV-6 *Quant Assay*
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Hamilton CO-RE Spitzen (300 µl) mit Filter
235905	Hamilton CO-RE Spitzen (1000 µl) mit Filter

Einzelheiten zu den Reagenzien und Verbrauchsmaterialien entnehmen Sie bitte der entsprechenden Produktbeilage

Erforderliche Geräte

NeuMoDx™ 288 Molecular System (REF 500100) oder NeuMoDx™ 96 Molecular System (REF 500200).
NeuMoDx System Software Version 1.9.2.6 oder höher.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip ist nur zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik auf NeuMoDx™ Systems bestimmt.
- Lesen Sie vor der Durchführung des Tests alle in der Packungsbeilage des Kits enthaltenen Anweisungen.
- Verwenden Sie die Reagenzien oder Verbrauchsmaterialien nicht nach Ablauf des angegebenen Verfallsdatums.

- Verwenden Sie die Reagenzien nicht, wenn das Sicherheitssiegel aufgebrochen oder die Verpackung bei der Entgegennahme beschädigt ist.
- Verwenden Sie die Verbrauchsmaterialien oder Reagenzien nicht, wenn der Schutzbeutel bei der Entgegennahme geöffnet oder zerrissen ist.
- Mischen Sie keine Reagenzien zur Amplifikation aus anderen handelsüblichen Kits.
- Nicht wiederverwenden.
- Bewahren Sie alle NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips vor Licht und Feuchtigkeit geschützt in ihren Aluminiumhüllen auf.
- Eine gültige Testkalibrierung durch die Verarbeitung von High und Low Kalibratoren aus den NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators (REF 801000) muss verfügbar sein, bevor Testergebnisse für klinische Proben generiert werden können.
- Die NeuMoDx™ HHV-6 External Controls (REF 901000) müssen während der gesamten Analyse mit dem NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip alle 24 Stunden ausgeführt werden.
- Das Mindestprobenvolumen ist abhängig von der Röhrchengröße, dem Probenträger und dem Probenvolumen, wie unten angegeben. Volumina unterhalb des angegebenen Minimums können zu dem Fehler „Quantity Not Sufficient“ (Menge nicht ausreichend) führen.
- Die Verwendung von Proben, die bei ungeeigneten Temperaturen oder über die angegebenen Lagerzeiten hinaus aufbewahrt wurden, kann zu ungültigen oder fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Eine Kontamination von Reagenzien und Verbrauchsmaterialien mit Mikroben und Desoxyribonuklease (DNase) ist zu vermeiden. Bei Verwendung von Sekundärröhrchen wird die Verwendung von sterilen DNase-freien Einweg-Transferpipetten empfohlen. Verwenden Sie für jede Probe eine neue Pipette.
- Um eine Kontamination zu vermeiden, sollten Sie nach der Amplifikation keine NeuMoDx™ Cartridge anfassen oder auseinanderbrechen. Unter keinen Umständen dürfen NeuMoDx™ Cartridges aus dem Behälter für biologische Gefahrstoffe (NeuMoDx™ 288 Molecular System) oder dem Eimer für biologische Gefahrstoffe (NeuMoDx™ 96 Molecular System) genommen werden. Die NeuMoDx™ Cartridge ist so konzipiert, dass eine Kontamination verhindert wird.
- Wenn das Labor auch PCR-Tests mit offenen Röhrchen ausführt, muss unbedingt gewährleistet werden, dass der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, die für die Tests zusätzlich benötigten Verbrauchsmaterialien und Reagenzien, persönliche Schutzausrüstung wie Handschuhe und Laborkittel sowie das NeuMoDx™ System nicht kontaminiert werden.
- Beim Umgang mit den NeuMoDx™ Reagenzien und Verbrauchsmaterialien sind saubere, puderfreie Nitrilhandschuhe zu tragen. Es ist darauf zu achten, dass die Oberseite der NeuMoDx™ Cartridge, die Oberfläche der Versiegelungsfolie des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip oder der NeuMoDx™ Extraction Plate oder die Oberseiten von Behältern mit NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 nicht berührt werden; die Verbrauchsmaterialien und Reagenzien dürfen ausschließlich an den Seitenflächen angefasst werden.
- Für jedes Reagenz werden unter www.neumodx.com/client-resourcesSicherheitsdatenblätter (SDB) zur Verfügung gestellt (soweit zutreffend).
- Ein senkrechter Balken am Textrand kennzeichnet Änderungen im Vergleich zur vorherigen Version der Packungsbeilage.
- Waschen Sie sich nach der Durchführung des Tests gründlich die Hände.
- Nicht mit dem Mund pipettieren. In Bereichen, in denen Proben oder Reagenzien gehandhabt werden, nicht rauchen, trinken oder essen.
- Handhaben Sie Proben stets als potenziell infektiös und nach den Verfahren für Laborsicherheit gemäß OSHA Standard on Bloodborne Pathogens[6]. Biosafety Level 2[7] oder andere geeignete Verfahren zur biologischen Sicherheit[8,9] sollten für Materialien befolgt werden, die ein Infektionsrisiko darstellen oder bei denen der Verdacht auf ein solches Risiko besteht.
- Entsorgen Sie unbenutzte Reagenzien und Abfälle gemäß den landes- und bundesweiten sowie örtlichen Vorschriften. Beachten Sie die Empfehlungen im Sicherheitsdatenblatt (SDS).

PRODUKTLAGERUNG, HANDHABUNG UND STABILITÄT

- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip sind in der Primärverpackung bei +15 °C/ +30 °C bis zum auf dem unmittelbaren Produktetikett angegebenen Verfallsdatum stabil.
- Ein in das NeuMoDx™ System geladener NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip ist 32 Tage lang stabil; die Software des NeuMoDxTM System fordert dazu auf, Teststreifen, die länger als 32 Tage im NeuMoDx™ System in Gebrauch waren, zu entfernen und neue NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips zu öffnen (die Streifen aus dem Beutel entnehmen) und in das NeuMoDx™ System zu laden. Entfernen Sie während des Ladens in den Teststreifenträger nicht die Aluminiumfolie vom Streifen.
- Die NeuMoDx™ HHV-6 Kalibratoren und Kontrollen sind nicht infektiös, sollten jedoch nach Gebrauch als biologische Gefahrstoffe entsorgt werden, da sie nach der Verarbeitung auf dem System Zielmaterial enthalten, das bei unsachgemäßer Handhabung eine Kontamination verursachen kann.

PROBENENTNAHME, TRANSPORT UND LAGERUNG

1. Behandeln Sie alle Proben als potenziell infektiös.
2. Vollblut- oder Plasmaproben in Primärröhrchen nicht einfrieren.
3. Zur Vorbereitung von Plasmaproben sollte Vollblut in sterilen Röhrchen unter Verwendung von EDTA als Gerinnungshemmer gesammelt werden. Die Anweisungen des Herstellers der Probenentnahmeröhrchen sind zu befolgen.
4. Vollblut, das mit den oben aufgeführten Vorrichtungen entnommen wurde, kann vor der Plasmapräparation bis zu 24 Stunden bei +2 °C/ +8 °C gelagert und/oder transportiert werden. Die Probenvorbereitung sollte gemäß den Anweisungen des Herstellers durchgeführt werden.
5. Präpariertes Plasma kann vor der Verarbeitung bis zu 24 Stunden auf dem NeuMoDx™ System gelagert werden. Falls eine zusätzliche Lagerzeit erforderlich ist, wird empfohlen, die Proben entweder gekühlt oder eingefroren zu lagern.
6. Präparierte Plasmaproben sollten vor dem Test nicht länger als 8 Tage bei +2 °C/ +8 °C und maximal 24 Stunden bei Raumtemperatur gelagert werden.
7. Präparierte Proben können bei < -20 °C bis zu 8 Wochen vor der Verarbeitung gelagert werden; die Proben sollten vor der Verwendung nicht mehr als 2 Einfrier-/Auftauzyklen unterzogen werden:

a. Eingefrorene Proben bei Raumtemperatur (+15 °C/ +30 °C) vollständig auftauen lassen; vortexen, um eine gleichmäßig verteilte Probe zu erzeugen.
b. Sobald die eingefrorenen Proben aufgetaut sind, sollten die Tests innerhalb von 24 Stunden durchgeführt werden.

8. Wenn Proben verschickt werden, sollten sie gemäß den geltenden nationalen und/oder internationalen Vorschriften verpackt und beschriftet werden.
9. Beschriften Sie die Proben deutlich und weisen Sie darauf hin, dass die Proben für HHV-6A- und/oder HHV-6B-Tests bestimmt sind.
10. Fahren Sie mit dem Abschnitt *Testvorbereitung* fort.

Der Gesamtablauf des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay ist in *Abbildung 1* zusammengefasst.

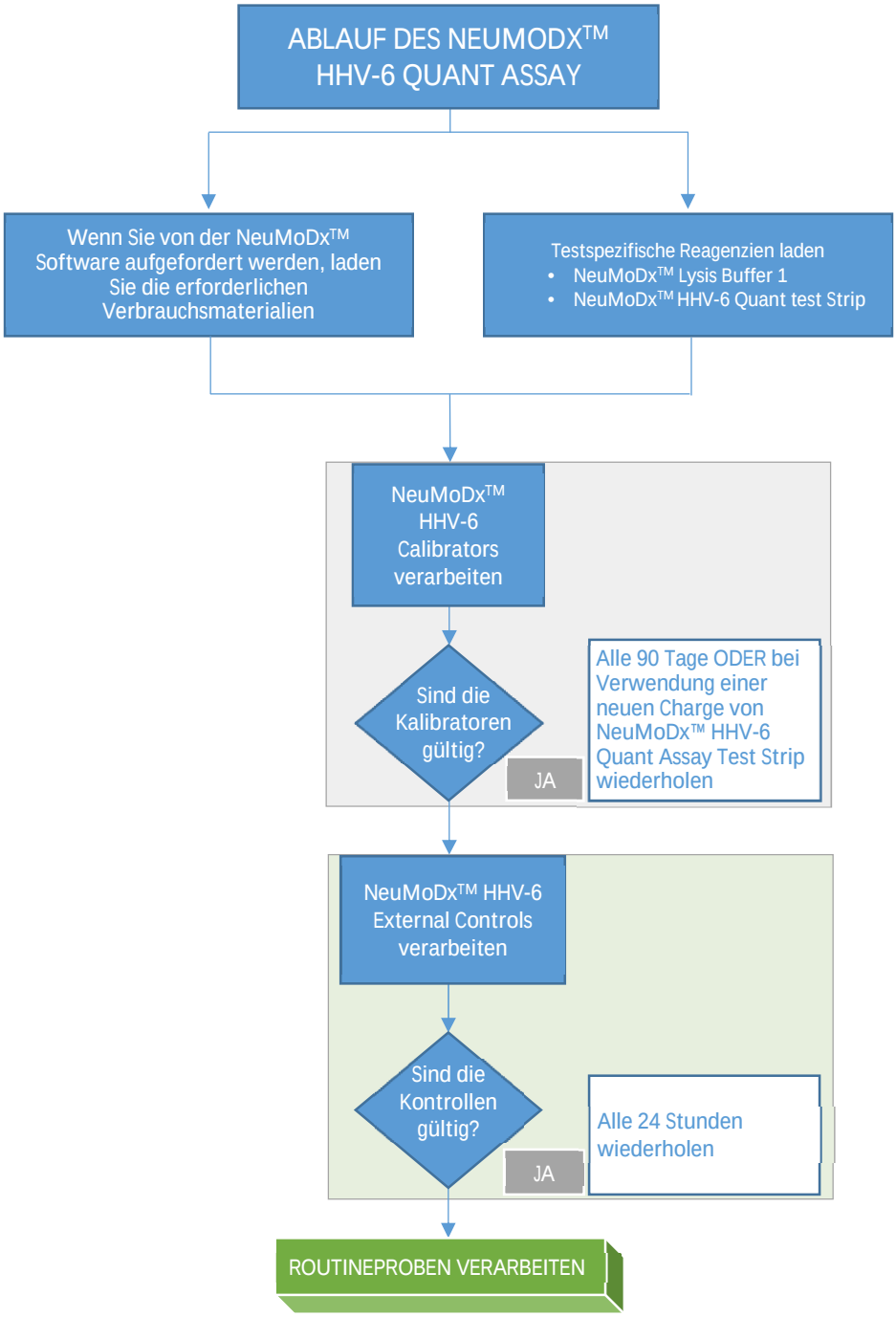

Abbildung 1: Arbeitsablauf des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.

GEBRAUCHSANWEISUNG

Testvorbereitung

Bei Plasmaproben kann der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay direkt mit Primärröhrchen oder Probenaliquoten in Sekundärröhrchen durchgeführt werden.

1. Bringen Sie ein Strichcode-Etikett auf einem Probenröhrchen an, das mit dem NeuMoDx™ System kompatibel ist. Das Primärröhrchen kann beschriftet und nach der Zentrifugation gemäß den Anweisungen des Herstellers direkt in einen geeigneten Röhrchenträger eingesetzt werden.
2. Wenn Sie die Plasmaprobe im Primärröhrchen testen, setzen Sie das mit einem Barcode versehene Röhrchen in einen Röhrchenträger ein und stellen Sie sicher, dass die Kappe vor dem Laden in das NeuMoDx™ System entfernt wird. Die Mindestvolumina über der Gel-/Buffy-Schicht sind unten definiert und sind gegeben, wenn die Proben gemäß den Anweisungen des Röhrchenherstellers entnommen und verarbeitet werden. Für Proben, die unsachgemäß entnommen werden, wird die Leistung nicht garantiert.
3. Bei Plasmaproben in einem Sekundärröhrchen übertragen Sie ein Aliquot der Probe in das mit dem Barcode versehene und mit dem NeuMoDx™ System kompatible Röhrchen gemäß den unten definierten Volumina:

Röhrchenträger	Röhrchengröße	Erforderliches Mindestprobenvolumen
Röhrchenträger mit 32 Positionen	11–14 mm Durchmesser mit 60–120 mm Höhe	750 µL
Röhrchenträger mit 24 Positionen	14.5–18 mm Durchmesser mit 60–120 mm Höhe	1100 µL
Röhrchenträger für kleinvolumige Proben	1.5 mL Mikrozentrifugenröhrchen mit konischem Boden	650 µL

Betrieb des NeuMoDx™ System

Ausführliche Anweisungen finden Sie in den Benutzerhandbüchern für die NeuMoDx™ 288 und 96 Molecular Systems (P/N 40600108 & 40600317)

1. Den Testauftrag entsprechend dem gewünschten Röhrchentyp in das NeuMoDx™ System laden.
2. Die Aluminiumbeutel der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips an der durch die seitlichen Kerben gekennzeichneten Stelle aufschneiden.
3. Die Streifen erst unmittelbar vor dem Gebrauch aus den Beuteln nehmen.
4. Vor der Verwendung stets sicherstellen, dass der Beutel gut verschlossen ist und das Tütchen mit dem Trocknungsmittel enthält. Nur unbeschädigte Beutel verwenden.
5. Die Aluminiumbeutel und ihren Inhalt entsorgen, wenn sich die Farbe des Trockenmittelpäckchens von Orange zu Grün ändert.
6. Bestücken Sie einen oder mehrere NeuMoDx™ System Test Strip Träger mit NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip(s) und laden Sie die Teststreifenträger über den Touchscreen in das NeuMoDx™ System.
7. Wenn Sie von der Software des NeuMoDx™ System dazu aufgefordert werden, geben Sie die erforderlichen Verbrauchsmaterialien in die entsprechenden Träger des NeuMoDx™ System und laden den/die Träger über den Touchscreen in das NeuMoDx™ System.
8. Wenn Sie von der Software des NeuMoDx™ System dazu aufgefordert werden, ersetzen Sie das NeuMoDx™ Wash Reagent, NeuMoDx™ Release Reagent, leeren Sie den Behälter für Priming-Abfall, Behälter für biologische Gefahrstoffe (nur NeuMoDx 288 Molecular System), den Spitzenabfalleimer (nur NeuMoDx™ 96 Molecular System) bzw. den Eimer für biologische Gefahrstoffe (nur NeuMoDx™ 96 Molecular System).
9. Wenn Sie von der NeuMoDx™ System Software dazu aufgefordert werden, verarbeiten Sie die Kalibratoren (REF 801000) und/oder externen Kontrollen (REF 901000) wie erforderlich. Weitere Informationen zu Kalibratoren und Kontrollen finden Sie im Abschnitt *Ergebnisse*.
10. Laden Sie die Kalibrator-/Kontrollröhrchen in einen Standard-Röhrchenträger mit 32 Positionen und stellen Sie sicher, dass von allen Röhrchen die Kappen entfernt werden.
11. Setzen Sie den/die Röhrchenträger auf den Autoloader, stellen Sie sicher, dass die Verschlusskappen von allen Röhrchen entfernt wurden, und verwenden Sie den Touchscreen, um den/die Träger in das NeuMoDx™ System zu laden. Dadurch wird die Verarbeitung der geladenen Proben für den/die identifizierten Test(s) gestartet, sofern ein gültiger Testauftrag im System vorhanden ist.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip kann nur auf NeuMoDx™ Systems verwendet werden.
- Die Leistung des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip wurde für Plasmaproben aus Vollblut, die mit EDTA als Antikoagulans entnommen wurden, validiert. Die Verwendung desNeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip mit anderen Probentypen wurde nicht untersucht und die Leistungsdaten des Tests sind für andere Probentypen nicht bekannt.
- Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay darf nicht mit Proben aus heparinisiertem Blut verwendet werden.
- Da der Nachweis von HHV-6A- und/oder HHV-6B-DNA von der Anzahl der in der Probe vorhandenen Organismen abhängt, sind zuverlässige Ergebnisse von einer ordnungsgemäßen Probenentnahme, Handhabung und Lagerung abhängig.
- Fehlerhafte Ergebnisse können durch unsachgemäße Probenentnahme, Handhabung, Lagerung, technische Fehler oder Verwechslung der Probenröhrchen entstehen. Darüber hinaus können falsch-negative Ergebnisse auftreten, weil die Anzahl der Viruspartikel in der Probe unter der Nachweisgrenze des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay liegt.
- Das NeuMoDx™ System darf ausschließlich von Personal bedient werden, das entsprechend in der Verwendung des NeuMoDxTM System geschult wurde.
- Wenn sowohl das HHV-6A-, HHV-6B- als auch das SPC1-Target nicht amplifizieren, wird ein ungültiges Ergebnis (Indeterminate (Unbestimmt) oder Unresolved (Offen)) gemeldet und der Test sollte wiederholt werden.
- Tritt ein Systemfehler auf, bevor die Probenverarbeitung abgeschlossen ist, wird „No Result“ (Kein Ergebnis) gemeldet und der Test sollte wiederholt werden.
- Wenn das Ergebnis des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay positiv ist, aber der Bestimmungswert über außerhalb der Bestimmungsgrenzen liegt, zeigt das NeuMoDx™ System an, ob die nachgewiesene HHV-6A- und/oder HHV-6B-DNA unter der unteren Bestimmungsgrenze (LLoQ) oder über der oberen Bestimmungsgrenze (ULoQ) liegt.
- Falls die nachgewiesene HHV-6A- und/oder HHV-6B-DNA über der ULoQ liegt, kann der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay auf Wunsch mit einem verdünnten Aliquot der ursprünglichen Probe wiederholt werden. Eine Verdünnung im Verhältnis 1:100 oder 1:1000 in HHV-6A- und HHV-6B-DNA-negativem Plasma oder Basematrix 53 Verdünnungsmittel (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA) wird empfohlen. Das System berechnet automatisch die Konzentration der Ausgangsprobe wie folgt: Konzentration der Ausgangsprobe = log10 (Verdünnungsfaktor) + gemeldete Konzentration der verdünnten Probe, sofern der Verdünnungsfaktor vor der Wiederholung in der Software richtig ausgewählt wurde.
- Das gelegentliche Vorhandensein von PCR-Inhibitoren in Plasma kann zu einem Quantifizierungsfehler des Systems führen; in diesem Fall wird empfohlen, den Test mit der gleichen, in Basematrix 1:10 oder 1:100 verdünnten Probe zu wiederholen.
- Ein positives Ergebnis bedeutet nicht unbedingt, dass lebensfähige Organismen vorhanden sind. Ein positives Ergebnis weist jedoch auf das Vorhandensein von HHV-6A- und/oder HHV-6B-DNA hin.
- Deletionen oder Mutationen in den konservierten Regionen, auf die der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay abzielt, können den Nachweis beeinträchtigen oder zu einem fehlerhaften Ergebnis beim NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip führen.
- Die Ergebnisse des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay sollten zusätzlich zu klinischen Beobachtungen und sonstigen Informationen, die dem Arzt zur Verfügung stehen, herangezogen werden; der Test ist nicht zur Diagnose einer Infektion gedacht.
- Um eine Kontamination zu vermeiden, wird eine gute Laborpraxis empfohlen, wie etwa das Wechseln der Handschuhe beim Umgang mit Proben verschiedener Patienten.

ERGEBNISSE

Die verfügbaren Testergebnisse können in der Registerkarte „Results“ (Ergebnisse) im Fenster „Results“ (Ergebnisse) auf dem Touchscreen des NeuMoDx™ System angezeigt oder ausgedruckt werden. Die Ergebnisse des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay werden automatisch von der NeuMoDx™ System anhand des Entscheidungsalgorithmus und der Ergebnisverarbeitungsparameter, die in der NeuMoDx™ HHV-6 Assay Definitionsdatei festgelegt sind, generiert. Ein Testergebnis des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay wird auf der Grundlage des Amplifikationsstatus der Zielsequenz und der Probenprozesskontrolle als Negativ, Positiv mit einer angegebenen HHV-6A- und/oder HHV-6B-Konzentration, Positiv über ULoQ, Positiv unter LLoQ, Unbestimmt (IND), Offen (UNR) oder Kein Ergebnis (NR) ausgegeben. *Die Ergebnisse werden auf der Grundlage des ADF-Ergebnisverarbeitungsalgorithmus ausgegeben, wie unten in* Tabelle 1 *zusammengefasst.*

Die Ergebnisse des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip sollten in Verbindung mit anderen klinischen und Laborbefunden ausgewertet werden.

Tabelle 1: Zusammenfassung der Ergebnisauswertung des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

Ergebnis	HHV-6A/HHV-6B	Probenprozesskontrolle (SPC1)	Ergebnisauswertung
Positiv mit einer gemeldeten Konzentration	Amplifiziert 2.30 ≤ [HHV-6A] ≤ 6.0 $\log_{10}$ Kopien/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HHV-6A-DNA im quantitativen Bereich nachgewiesen
	Amplifiziert 2.30 ≤ [HHV-6B] ≤ 6.0 $\log_{10}$ IU/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HHV-6B-DNA im quantitativen Bereich nachgewiesen
Positiv, über der oberen Bestimmungsgrenze (ULoQ)	Amplifiziert [HHV-6A] > 6.0 $\log_{10}$ Kopien/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HHV-6A-DNA über dem quantitativen Bereich nachgewiesen
	Amplifiziert [HHV-6B] > 6.0 $\log_{10}$ IU/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HHV-6B-DNA über dem quantitativen Bereich nachgewiesen

Ergebnis	HHV-6A/HHV-6B	Probenprozesskontrolle (SPC1)	Ergebnisauswertung
Positiv, unter der unteren Bestimmungsgrenze (LLoQ)	Amplifiziert [HHV-6A] < 2.30 log_{10} Kopien/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HHV-6A-DNA unter dem quantitativen Bereich nachgewiesen
	Amplifiziert [HHV-6B] < 2.30 log_{10} IU/mL	Amplifiziert oder Nicht amplifiziert	HHV-6B-DNA unter dem quantitativen Bereich nachgewiesen
Negativ*	Nicht amplifiziert	Amplifiziert	HHV-6A/HHV-6B DNA nicht nachgewiesen
Unbestimmt	Nicht amplifiziert, Systemfehler erkannt, Probenverarbeitung abgeschlossen		Alle Zielergebnisse waren ungültig; Wiederholungstest †
Kein Ergebnis	Nicht amplifiziert, Systemfehler erkannt, Probenverarbeitung abgebrochen		Probenverarbeitung abgebrochen
Ungelöst	Nicht amplifiziert, Kein Systemfehler erkannt		Alle Zielergebnisse waren ungültig; Wiederholungstest †

*Wie bei anderen Tests schließen negative Ergebnisse eine Infektion mit HHV-6A- und/oder HHV-6B nicht aus.

†Das NeuMoDx™ System ist mit einer automatischen Funktion für Rerun/Repeat (Wiederholungsläufe) ausgestattet, die der Endbenutzer wählen kann, damit als IND/NR/UNR (Unbestimmt/Keine Ergebnisse/Offen) gemeldete Proben automatisch erneut verarbeitet und Verzögerungen bei der Ergebnismeldung vermieden werden.

Testberechnung

1. Für Proben innerhalb des Quantifizierungsbereichs des NeuMoDx™ HHV 2 Quant Assay wird die Konzentration der HHV-6A-DNA und HHV-6B-DNA in den Proben anhand der gespeicherten Standardkurven zusammen mit den Kalibrierkoeffizienten berechnet.
   a. Ein Kalibrierkoeffizient wird auf der Grundlage der Ergebnisse der NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators berechnet, die zur Feststellung der Gültigkeit der Standardkurve für eine bestimmte Charge des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip auf einem bestimmten NeuMoDx™ System für jedes Ziel verarbeitet wurden.
   b. Der Kalibrierkoeffizient wird in die endgültige Bestimmung der Konzentration der HHV-6A-DNA und HHV-6B-DNA einbezogen.
2. Die Ergebnisse des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay werden in log_{10} Kopien/mL und Kopien/mL für HHV-6A und in log_{10} IU/mL und IU/mL für HHV-6B angegeben.
3. Die daraus resultierende Quantifizierung der unbekannten Proben ist auf das EDX HHV-6A-Verifizierungspanel (Exact Diagnostics) rückführbar, das durch Droplet-Digital-PCR (ddPCR) quantifiziert wird, und auf den 1st WHO International Standard for HHV-6B virus DNA (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC Code: 15/266).

Testkalibrierung

Zur Quantifizierung der HHV-6A-DNA und/oder HHV-6B-DNA in den Proben ist eine gültige Kalibrierung auf der Grundlage der Standardkurve erforderlich. Um gültige Ergebnisse zu erzielen, muss eine Testkalibrierung für HHV-6A und HHV-6B anhand der von NeuMoDx™ Molecular, Inc. bereitgestellten Kalibratoren durchgeführt werden.

Kalibratoren

1. Die NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators werden in einem Kit (REF 801000) geliefert und bestehen aus einem getrockneten Pellet aus synthetischer HHV-6A-DNA und HHV-6B-DNA sowie einem spezifischen Puffer.
2. Ein Set HHV-6 calibrators muss mit jeder neuen Charge von NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips ausgeführt werden, wenn eine neue HHV-6 Assay Definition File in das NeuMoDx™ System hochgeladen wird, wenn das aktuelle Kalibratorset die Gültigkeitsdauer (derzeit auf 90 Tage festgelegt) überschritten hat oder wenn die Software des NeuMoDx™ Systems geändert wird.
3. Die Software des NeuMoDx™ System benachrichtigt den Benutzer, wenn die Kalibratoren ausgeführt werden müssen; eine neue Charge von Teststreifen kann erst dann zum Testen verwendet werden, wenn die Kalibratoren erfolgreich ausgeführt wurden.
4. Wenn ein neues Set HHV-6 Kalibratoren ausgeführt werden muss, lesen Sie vor der Durchführung des Tests alle Anweisungen in der Packungsbeilage der NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators.
5. Die Gültigkeit der Kalibrierung wird wie folgt festgelegt:
   a. Es müssen zwei Kalibrierkoeffizienten generiert werden, einer für HHV-6A und einer für HHV-6B, indem ein Set aus zwei Kalibratoren für jedes Ziel - High und Low - ausgeführt wird, um die Gültigkeit für jede Kurve festzulegen.
   b. Um gültige Ergebnisse zu erzeugen, müssen mindestens 2 der 3 Wiederholungen Ergebnisse innerhalb vordefinierter Parameter liefern. Der Sollwert des HHV-6A Kalibrator-Sets für den Low Kalibrator beträgt 3.0 log_{10} Kopien/mL und der Sollwert für den High Kalibrator beträgt 5.0 log_{10} Kopien/mL. Der Sollwert des HHV-6B Kalibrator-Sets für den Low Kalibrator beträgt 3.0 log_{10} Kopien/mL und der Sollwert für den High Kalibrator beträgt 5.0 log_{10} Kopien/mL
   c. Ein Kalibrierkoeffizient wird berechnet, um die erwartete Variation zwischen Teststreifenchargen zu berücksichtigen; dieser Kalibrierkoeffizient wird bei der Bestimmung der endgültigen HHV-6A- und/oder HHV-6B-Konzentration verwendet.
6. Wenn einer oder beide Kalibratoren die Gültigkeitsprüfung nicht bestehen, wiederholen Sie die Verarbeitung des/der fehlgeschlagenen Kalibrators/Kalibratoren mit einem neuen Fläschchen. Wenn ein Kalibrator die Gültigkeitsprüfung nicht besteht, ist es möglich, nur den fehlgeschlagenen Kalibrator zu wiederholen, da das System nicht verlangt, dass beide Kalibratoren erneut ausgeführt werden müssen.
7. Wenn der/die Kalibrator(en) die Gültigkeitsprüfung ein zweites Mal in Folge nicht bestehen, wenden Sie sich an den technischen Support von QIAGEN.

Qualitätskontrolle

Örtliche Vorschriften schreiben in der Regel vor, dass das Labor für Kontrollverfahren verantwortlich ist, die die Genauigkeit und Präzision des gesamten Analyseprozesses überwachen, und dass es die Anzahl, Art und Häufigkeit der Tests von Kontrollmaterialien anhand verifizierter Leistungsspezifikationen für ein unmodifiziertes, zugelassenes Testsystem festlegen muss.

Externe Kontrollen:

1. Externe Kontrollen für HHV-6A und HHV-6B (REF 901000) werden von NeuMoDx™ bereitgestellt. Die Positivkontrollen enthalten ein getrocknetes Pellet mit synthetischer HHV-6A- und HHV-6B-DNA. Die Negativkontrolle ist Puffer.
2. Die externen Positiv- und Negativkontrollen müssen einmal alle 24 Stunden verarbeitet werden. Wenn kein Set gültiger externer Kontrollen vorhanden ist, fordert die Software des NeuMoDx™ Systems zur Verarbeitung solcher Kontrollen auf, bevor die Probenergebnisse ausgegeben werden.
3. Wenn externe Kontrollen erforderlich sind, bereiten Sie die Positiv- und Negativkontrollen wie in der Packungsbeilage der HHV-6 External Controls angegeben vor, bevor Sie den Test durchführen.
4. Laden Sie die die Positiv- und Negativkontrollen über den Touchscreen und mit einem Röhrchenträger auf dem Autoloader in das NeuMoDx™ System. Das NeuMoDx™ System erkennt die Strichcodes und beginnt mit der Verarbeitung der externen Kontrollen, es sei denn, die für den Test erforderlichen Reagenzien oder Verbrauchsmaterialien sind nicht verfügbar.
5. Die Gültigkeit der externen Kontrollen wird vom NeuMoDx™ System auf der Grundlage der erwarteten Ergebnisse bewertet. Die Positivkontrolle sollte ein HHV-6A- und HHV-6B-positives Ergebnis und die Negativkontrolle ein HHV-6A- und HHV-6B-negatives Ergebnis liefern.
6. Bei abweichenden Ergebnissen der externen Kontrollen sollte wie folgt verfahren werden:
    a. Ein positives Testergebnis bei einer negativen Kontrollprobe deutet auf ein Kontaminationsproblem der Probe hin und die Qualitätskontrollverfahren des Labors müssen untersucht werden, um die Ursache zu finden. Achten Sie darauf, dass für die Probenvorbereitung, die Handhabung der Kontrollen und die Einrichtung der Real-Time-PCR getrennte Bereiche zur Verfügung stehen. Siehe Bedienerhandbuch des *NeuMoDx 288* oder *96 Molecular System* für weitere Tipps zur Fehlersuche.
    b. Ein negatives Testergebnis bei einer positiven Kontrollprobe kann auf ein reagenz- oder gerätebedingtes Problem hinweisen.
    c. In einem der oben genannten Fälle oder im Falle von Kein Ergebnis (NR), Offen (UNR) oder Unbestimmt (IND) wiederholen Sie die fehlgeschlagene(n) Kontrolle(n) mit einem neuen, frisch zubereiteten Fläschchen der Kontrolle(n), die den Gültigkeitstest nicht bestanden hat/haben.
    d. Wenn die Positivkontrolle der NeuMoDx™ HHV-6 External Controls weiterhin ein negatives Ergebnis liefert, wenden Sie sich bitte an den technischen Support von QIAGEN.
    e. Wenn die Negativkontrolle der NeuMoDx™ HHV-6 External Controls weiterhin ein positives Ergebnis liefert, versuchen Sie zuerst, alle potenziellen Kontaminationsquellen zu eliminieren, einschließlich des Austausches ALLER Reagenzien, und wiederholen Sie den Lauf, bevor Sie den technischen Support von QIAGEN kontaktieren.
7. Wenn die externen Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse liefern, muss ein Set aus Positiv- und Negativkontrollen wiederholt werden. Die Proben werden erst dann verarbeitet, wenn ein gültiges Set externer Kontrollen vom System verarbeitet wird. Für den Fall, dass Proben in Bearbeitung sind, während externe Kontrollen ablaufen, müssen gültige externe Kontrollen ausgeführt werden. Wenn das externe Kontrollset keine gültigen Ergebnisse liefert, werden keine Probenergebnisse ausgegeben.

(Interne) Prozessprobenkontrollen

Eine exogene Probenprozesskontrolle (SPC1) ist in die NeuMoDx™ Extraction Plate integriert und durchläuft mit jeder Probe/Kontrolle/Kalibrator den gesamten Prozess der Nukleinsäureextraktion und Real-Time-PCR-Amplifikation. Primer und Sonden, die für SPC1 spezifisch sind, sind in jedem NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip enthalten, sodass das Vorhandensein von SPC1 zusammen mit der HHV-6A- und / HHV-6B-Zielsequenz (falls vorhanden) mittels Multiplex-Real-Time-PCR nachgewiesen werden kann. Der Nachweis der SPC1-Amplifikation ermöglicht es der Software des NeuMoDx™ System, die Wirksamkeit der DNA-Extraktions- und PCR-Amplifikationsschritte zu überwachen.

Ungültige Ergebnisse

Wenn ein NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, der auf dem NeuMoDx™ System durchgeführt wird, kein gültiges Ergebnis liefert, wird das Ergebnis je nach Art des aufgetretenen Fehlers als Unbestimmt (IND), Kein Ergebnis (NR) oder Offen (UNR) ausgegeben. Der Test sollte wiederholt werden, um ein gültiges Ergebnis zu erhalten.

Das Ergebnis Indeterminate (Unbestimmt) wird ausgegeben, wenn während der Probenverarbeitung ein Fehler beim NeuMoDx™ System festgestellt wird. In diesem Fall wird ein erneuter Test empfohlen.

Das Ergebnis No Result (Kein Ergebnis) wird ausgegeben, wenn während der Probenverarbeitung ein Fehler beim NeuMoDx™ System festgestellt und die Probenverarbeitung abgebrochen wird. In diesem Fall wird ein erneuter Test empfohlen.

Das Ergebnis Unresolved (Offen) wird ausgegeben, wenn kein Ziel detektiert wird und keine Amplifikation von HHV-6A-DNA, HHV-6B-DNA oder SPC1 stattfindet, was auf ein mögliches Versagen des Reagens oder das Vorhandensein von Inhibitoren hinweist. In diesem Fall kann in einem ersten Schritt ein erneuter Test durchgeführt werden. Schlägt ein Wiederholungstest fehl, kann eine verdünnte Probe verwendet werden, um die Auswirkungen einer Probeninhibition zu mildern (siehe Abschnitt „Einschränkungen“ für weitere Anweisungen).

Siehe Bedienerhandbuch des NeuMoDx 288 Molecular System (PN: 40600108) oder des NeuMoDx 96 Molecular System (PN: 40600317) f für eine Liste von Fehlercodes im Zusammenhang mit ungültigen Ergebnissen.

LEISTUNGSDATEN[10,11,15]

Analytische Sensitivität - Nachweisgrenze[12]

Die analytische Sensitivität des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay wurde durch Testen einer Verdünnungsreihe des EDX HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) und des HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics, mit dem 1st WHO International Standard for HHV-6B, 15/266 kalibriert) in HHV-6A/HHV-6B-negativen Plasmaproben charakterisiert, um die Nachweisgrenze(LoD) auf den NeuMoDx™ Systems zu bestimmen. Die Nachweisgrenze ist definiert als die niedrigste nachweisbare Konzentration mit einer Hit-Rate von 95%. Die Berechnung erfolgt mittels auf experimentelle Daten angewandter Probit-Analyse mit einem 95%-Konfidenzintervall (CI). Die Studie wurde über 3 Tage an mehreren Systemen mit mehreren Chargen von NeuMoDx™ Reagenzien durchgeführt. Jedes System verarbeitete 42 Replikate in jeder Verdünnungsstufe (positive Proben) und 8 Replikate für negative Proben pro Tag. Die Detektionsraten sind in *Tabelle 2* dargestellt.

Tabelle 2: Positive Nachweisraten für die LoD-Bestimmung des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

HHV-6A					HHV-6B				
Zielkonzentration [Kopien/mL]	Zielkonzentration [log_{10} Kopien/mL]	Anzahl gültiger Tests	Anzahl Positive	Nachweisrate	Zielkonzentration [IU/ml]	Zielkonzentration [log_{10} IU/mL]	Anzahl gültiger Tests	Anzahl Positive	Nachweisrate
200	2.30	45	44	97.8%	200	2.30	46	44	95.7%
80	1.90	45	32	71.1%	100	2.00	42	24	57.1%
60	1.78	43	26	60.5%	80	1.90	44	19	43.2%
40	1.60	42	10	23.8%	60	1.78	43	14	32.6%
20	1.30	44	1	2.3%	40	1.60	43	5	11.6%
0	0	47	0	0%	0	0	48	0	0%

Die LoD des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay wurde mittels Probit-Analyse auf 123.5 Kopien/mL (2.09 log_{10} Kopien/mL) (95%-Konfidenzintervall) festgelegt: 102.1 bis 145.0 Kopien/mL) für HHV-6A und 178.2 IU/mL (2.25 log_{10} Kopien/mL) (95%-Konfidenzintervall: 151.3 bis 205.0 IU/mL) für HHV-6B.

Analytische Sensitivität - Untere Bestimmungsgrenze (LLoQ) und obere Bestimmungsgrenze (ULoQ)[12]

Die untere Bestimmungsgrenze (LLoQ) und die obere Bestimmungsgrenze (ULoQ) sind definiert als die niedrigste Zielkonzentration und die obere Zielkonzentration, bei der eine >95%ige Detektion erreicht wird UND der TAE ≤ 1.0 ist. Um die LLoQ und ULoQ zu bestimmen, wurde der analytische Gesamtfehler (TAE) für jede der HHV-6A- und HHV-6B-Zielkonzentrationen berechnet, bei denen nachweislich eine >95%ige Detektion erreicht wird. Der TAE ist wie folgt definiert:

$$\mathrm{TAE} = |\mathrm{Bias}| + 2 * \mathrm{SD}$$ [Westgard-Regeln]

Der Bias ist der absolute Wert der Differenz zwischen dem Mittelwert der berechneten Konzentration und der erwarteten Konzentration. SD bezieht sich auf die Standardabweichung des quantitativen Werts der Probe.

Die ermittelten Ergebnisse für die 5 Konzentrationen von HHV-6A/HHV 6B-Plasmaproben, die in der LLoQ/ULoQ-Studie verwendet wurden, sind in Tabelle 3 und 4 dargestellt. Auf der Grundlage dieses Datensatzes und der zuvor ermittelten LoD wurden die LLoQ und ULoQ für HHV-6A auf 200 Kopien/mL (2.30 log_{10} Kopien/mL) und $1x10^6$ Kopien/mL und für HHV-6B auf 200 IU/mL (2.30 log_{10} Kopien/mL) und $1x10^6$ IU/mL festgelegt.

Tabelle 3: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip; HHV-6A ULoQ und LLoQ, mit Bias und TAE

Zielkonz. [Kopien/mL]	Zielkonz. [log_{10} Kopien/mL]	Durchschnittskonz. [log_{10} Kopien/mL]	Nachweis (%)	SD	Bias	TAE
10^6	6.00	5.76	100%	0.34	0.24	0.91
200	2.30	2.34	97.8%	0.30	0.03	0.63
80	1.90	2.19	71.1%	0.27	0.28	0.83
60	1.78	2.21	60.5%	0.21	0.43	0.86
40	1.60	2.18	23.8%	0.15	0.57	0.87
20	1.30	2.17	2.3%	N.A.	0.87	N.A.

Tabelle 4: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip; HHV-6B ULoQ und LLoQ, mit Bias und TAE

Zielkonz. [IU/mL]	Zielkonz. [log_{10} IU/mL]	Durchschnittskonz. [log_{10} IU/mL]	Nachweis (%)	SD	Bias	TAE
10^6	6.00	6.06	100%	0.32	0.06	0.71
200	2.30	2.12	95.7%	0.22	0.18	0.62
100	2.00	2.04	57.1%	0.24	0.04	0.52
80	1.90	1.99	43.2%	0.26	0.08	0.61
60	1.78	1.92	32.6%	0.26	0.15	0.67
40	1.60	1.79	11.6%	0.22	0.19	0.62

Auf der Grundlage der Ergebnisse dieser Studien wurden die LoD des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay auf 123.5 Kopien/mL (2.09 log_{10} Kopien/mL) für HHV-6A und 178.2 IU/mL (2.25 log_{10} IU/mL) für HHV-6B festgelegt. Die LoQ betrug 200 Kopien/mL (2.30 log_{10} Kopien/mL) für HHV-6A und 200 IU/mL (2.30 log_{10} IU/mL) für HHV-6B. Die ULoQ beträgt 1x10^6 Kopien/mL für HHV-6A und 1x10^6 IU/mL für HHV-6B.

Linearität[13]

Die Linearität des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip wurde in Plasma durch die Herstellung einer Verdünnungsreihe mit dem EDX HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) und dem EDX HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics) festgelegt. Acht (8) serielle Verdünnungen von HHV-6A/HHV-6B-Panels, hergestellt in HHV-6A/HHV-6B-negativem Humanplasma, wurden erstellt, um einen Konzentrationsbereich von 6 - 2 log_{10} Kopien/mL abzudecken.
Die vom NeuMoDx™ System ausgegebenen HHV-6A/HHV-6B-Testkonzentrationen im Vergleich zu den erwarteten Werten sind auf den Abbildungen 2 und 3 dargestellt.

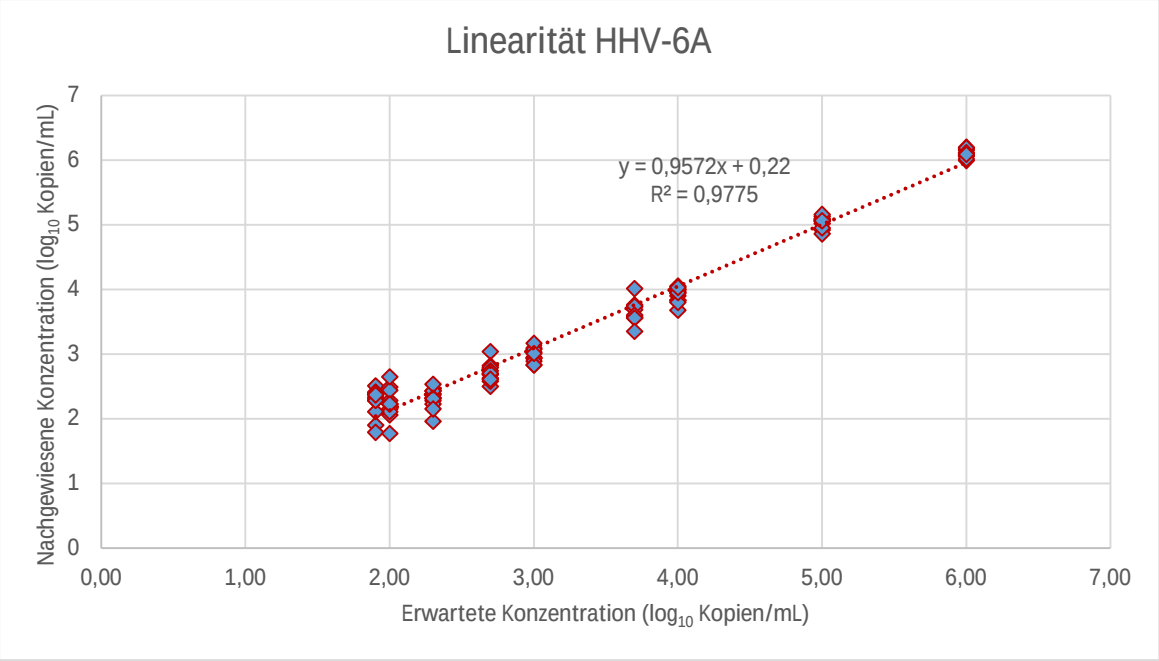

Abbildung 2: Linearität des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay für HHV-6A

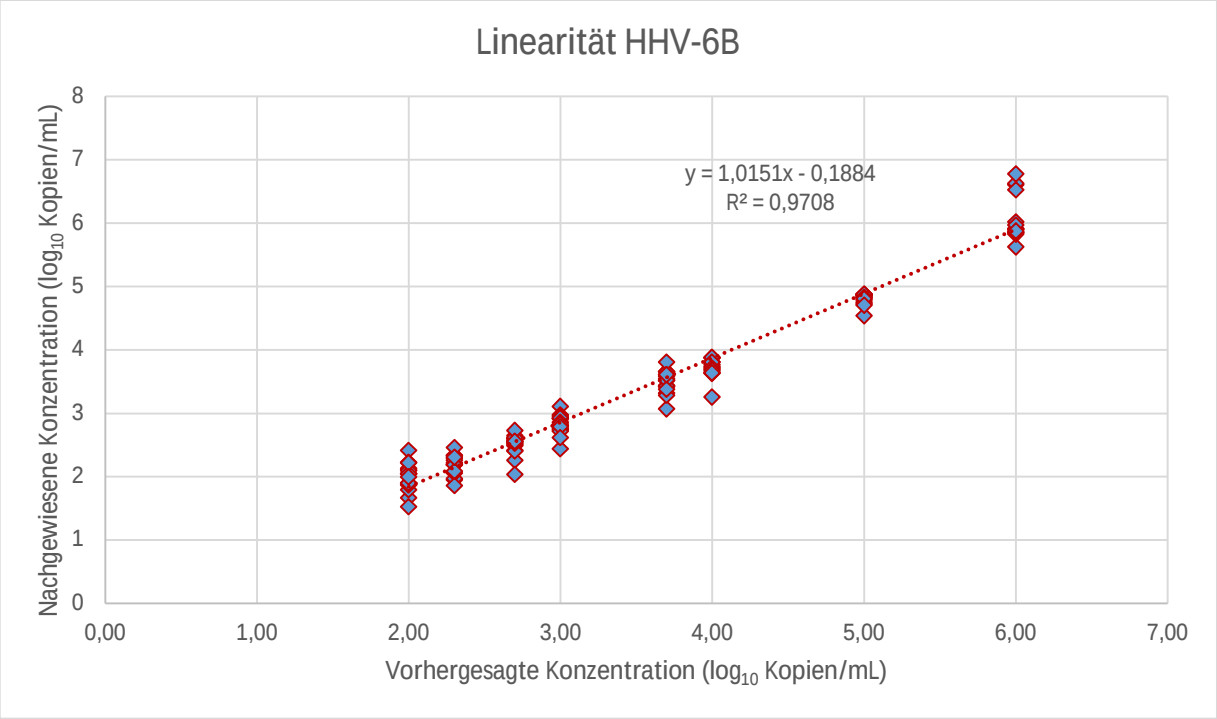

Abbildung 3: Linearität des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay für HHV-6B

Analytische Spezifizität – Kreuzreaktivität[10, 11]

Die analytische Spezifität wurde durch Screening von 22 Organismen, die häufig in Plasmaproben vorkommen, sowie von Spezies, die phylogenetisch HHV-6A und HHV-6B ähnlich sind, auf Kreuzreaktivität nachgewiesen. Die Organismen wurden in Pools von 5/6 Organismen präpariert und in hoher Konzentration (3.48 log_{10} Kopien/mL).getestet. Die getesteten Organismen sind in *Tabelle 5* dargestellt. Bei keinem der getesteten Organismen wurde eine Kreuzreaktivität beobachtet, was die 100 %ige analytische Spezifität des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay bestätigt.

Tabelle 5: Zum Nachweis der analytischen Spezifität verwendete Erreger

Nicht-Zielorganismen					
Klebsiella pneumonia	*Enterococcus faecalis*	*Staphylococcus aureus*	*Streptococcus pneumoniae*	*Staphylococcus epidermidis*	*Streptococcus pyogenes*
Humanes Immundefizienz-Virus 1	Hepatitis-B-Virus	Adenovirus Typ 5	Epstein-Barr-Virus	Varicella-Zoster-Virus	Enterovirus 68
BK-Virus	Herpes-Simplex-Virus 1	Herpes-Simplex-Virus 2	Humanes Gammaherpesvirus 8	Cytomegalovirus	Humanes Betaherpesvirus 7
HTVL-1	HTVL-2	JC-Virus	SV40	Humanes Immundefizienz-Virus 2	

Analytische Spezifizität – Störsubstanzen, Kommensalen[10, 11]

Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay wurde auf Interferenz in Gegenwart von Nicht-Zielorganismen unter Verwendung derselben Organismenpools untersucht, die für die oben in Tabelle 6 aufgeführten Kreuzreaktivitätstests vorbereitet wurden. Negatives HHV-6A/HHV-6B-Plasma wurde mit den in Gruppen von 4-7 Organismen gepoolten Organismen versetzt und zudem mit HHV-6A/HHV-6B in einer Konzentration von 2.78 log_{10} Kopien/mL (600 IU/mL; 3x LoD) versetzt. Es wurden keine signifikanten Interferenzen in Gegenwart dieser Kommensalen beobachtet, wie durch die minimale Abweichung der Quantifizierung von Kontrollproben, die keine Störsubstanzen enthielten, gezeigt wurde.

Analytische Spezifizität – Störsubstanzen, endogene und exogene Substanzen[10, 11]

Der NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay wurde in Gegenwart typischer exogener und endogener Störsubstanzen in klinischem HHV-6A/HHV-6B-Plasma evaluiert. Dazu gehörten anormal hohe Konzentrationen von Blutbestandteilen sowie übliche Virostatika, die in Tabelle 6 klassifiziert sind. Jede

Substanz wurde zu gescreentem HHV-6A/HHV-6B-negativem Humanplasma, das mit 2.78 log_{10} IU/mL (600 IU/mL; 3x LoD) HHV-6A/HHV-6B versetzt wurde, hinzugefügt und die Proben wurden auf Interferenzen analysiert.
Die durchschnittliche Konzentration und der Bias aller getesteten Substanzen im Vergleich zu Kontrollproben, die mit derselben HHV-6A/HHV-6B-Konzentration versetzt waren, sind in Tabelle 7 aufgeführt. Keine der exogenen und endogenen Substanzen beeinträchtigte die Spezifität des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.

Tabelle 6: Interferenzprüfung - Exogene Agenzien (Arzneimittelklassifikationen)

Pool	Medikamentenname	Klassifizierung
Pool 1	Valganciclovir	VIROSTATIKUM
	Prednison	IMMUNSUPPRESSIVUM
	Cidofovir	VIROSTATIKUM
	Cefotaxim	ANTIBIOTIKUM
	Mycophenolat-Mofetil	IMMUNSUPPRESSIVUM
Pool 2	Vancomycin	ANTIBIOTIKUM
	Tacrolimus	IMMUNSUPPRESSIVUM
	Famotidine	HISTAMIN-ANTAGONIST
	Valacyclovir	VIROSTATIKUM
	Leflunomide	IMMUNSUPPRESSIVUM

Tabelle 7: Interferenzprüfung - Exogene und endogene Agenzien

Endogen (Plasma)	HHV-6A		HHV-6B	
	Durchschnittskonz.	Bias	Durchschnittskonz.	Bias
	log_{10} Kopien/mL	log_{10} Kopien/mL	log_{10} IU/ml	log_{10} IU/ml
Triglyceride (500 mg/dL)	1.91	0.24	2.10	-0.13
Konjugiertes Bilirubin (0.25 g/L)	2.14	0.01	2.07	-0.10
Unkonjugiertes Bilirubin (0.25 g/L)	1.71	0.44	1.61	0.37
Albumin (58.7 g/L)	2.27	-0.13	2.04	-0.06
Hämoglobin (2.9 g/L)	2.23	-0.08	1.98	-0.01
Humane DNA (2 mg/mL)	1.74	0.41	1.86	0.12
Exogen (Arzneimittel)	**Durchschnittskonz.**	**Bias**	**Durchschnittskonz.**	**Bias**
	log_{10} Kopien/mL	log_{10} Kopien/mL	log_{10} IU/ml	log_{10} IU/ml
Pool 1: Valganciclovir, Prednison, Cidofovir, Cefotaxim, Mycophenolat-Mofetil	1.65	0.28	2.07	0.06
Pool 2: Vancomycin, Tacrolimus, Famotidin, Valacyclovir, Leflunomid	2.18	-0.25	1.97	0.16

Wiederholbarkeit und laborinterne Präzision[14]

Die Präzision des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip wurde bestimmt, indem 2 Replikate eines Dreierpanels von HHV-6A/HHV-6B-Proben, die zweimal täglich mit HHV-6A- oder HHV-6B-Plasmid präpariert wurden, mit einem NeuMoDx™ 96 Systemüber 20 Tage getestet wurden. Die Präzision innerhalb der Serie und innerhalb des Tages wurde charakterisiert, und die Gesamtstandardabweichung wurde mit ≤ 0.25 log_{10} Kopien/mL für HHV-6A und ≤ 0.25 log_{10} IU/mL für HHV-6B bestimmt. Es wurde eine ausgezeichnete Präzision über Tage und Serien hinweg nachgewiesen, wie in *Tabelle 8* dargestellt. Die Präzision zwischen den Bedienpersonen wurde nicht charakterisiert, da die Bedienperson bei der Verarbeitung der Proben mit dem NeuMoDx™ System keine signifikante Rolle spielt.

Tabelle 8: Präzision im Labor – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay auf NeuMoDx™ System 96

Probe	SD Wiederholbarkeit	SD zwischen Serien	SD innerhalb des Tages	SD zwischen Tagen	SD gesamt (im Labor)
HHV-6A					
5.67 log_{10} Kopien/mL	0.166	0.000	0.166	0.051	0.173
4.67 log_{10} Kopien/mL	0.071	0.000	0.071	0.048	0.086
3.67 log_{10} Kopien/mL	0.190	0.028	0.192	0.059	0.200
2.48 log_{10} Kopien/mL	0.151	0.051	0.159	0.000	0.159
HHV-6B					
5.14 log_{10} IU/mL	0.217	0.000	0.217	0.070	0.228
4.14 log_{10} IU/mL	0.155	0.000	0.155	0.056	0.165
3.14 log_{10} IU/mL	0.141	0.000	0.141	0.038	0.146
2.70 log_{10} IU/mL	0.225	0.079	0.239	0.000	0.239

Reproduzierbarkeit von Charge zu Charge[14]

Die Reproduzierbarkeit zwischen Chargen des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip wurde unter Verwendung von drei verschiedenen Chargen von NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips bestimmt. Ein Viererpanel von HHV-6A und HHV-6B, das mit dem HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) bzw. dem EDX HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics) vorbereitet wurde, wurde zur Bewertung der Leistung auf einem NeuMoDx™ 96 Molecular System in fünf separaten Serien verwendet. Die Variation innerhalb und zwischen Chargen wurde analysiert und die Ergebnisse, als Standardabweichung zwischen Chargen ausgedrückt, sind in Tabelle 9 dargestellt. Die größte Standardabweichung betrug 0.257 Kopien/mL. Es wurde eine gleichwertige Leistung zwischen den Chargen nachgewiesen, da die SD aller Panelelemente innerhalb der Toleranzspezifikation lag (SD Reproduzierbarkeit ≤ 0.3 log_{10} Kopien/mL).

Tabelle 9: Reproduzierbarkeit zwischen Chargen – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

Probe	SD Wiederholbarkeit	SD zwischen Tagen	SD innerhalb der Charge	SD zwischen Chargen	SD Reproduzierbarkeit
HHV-6A					
4.73 x10^5 Kopien/mL	0.160	0.061	0.171	0.073	0.186
4.73 x10^3 Kopien/mL	0.166	0.087	0.188	0.069	0.200
600 Kopien/mL	0.099	0.088	0.132	0.091	0.160
HHV-6B					
1.38 x10^5 IU/mL	0.199	0.161	0.256	0.025	0.257
1.38 x10^3 IU/mL	0.214	0.068	0.224	0.093	0.243
600 IU/mL	0.120	0.069	0.139	0.062	0.152

Reproduzierbarkeit zwischen Geräten[14]

Die Reproduzierbarkeit des NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip zwischen Geräten wurde mit drei verschiedenen Systemen (ein NeuMoDx™ 288 Molecular System und zwei NeuMoDx™ 96 Molecular System) bestimmt. Ein Viererpanel von HHV-6A/HHV-6B, das mit dem HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) bzw. dem EDX HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics) vorbereitet wurde, wurde zur Bewertung der Leistung verwendet. Die Tests wurden 5 Tage lang auf den Systemen durchgeführt. Die Variation innerhalb eines Tages und zwischen den Systemen wurde charakterisiert, und die Gesamtstandardabweichung wurde mit ≤ 0.30 log_{10} Kopien/mL für HHV-6A und ≤ 0.30 log_{10} IU/mL für HHV-6B bestimmt. Es wurde eine gleichwertige Leistung zwischen den Systemen nachgewiesen, da die SD bei der Quantifizierung aller Panelelemente innerhalb der Toleranzspezifikation lag (Tabelle 10).

Tabelle 10: Reproduzierbarkeit zwischen Geräten – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip

Probe	SD Wiederholbarkeit	SD zwischen Tagen	SD innerhalb des Systems	SD zwischen Systemen	SD Reproduzierbarkeit
HHV-6A					
5.67 log_{10} Kopien/mL	0.228	0.000	0.228	0.000	0.228
4.67 log_{10} Kopien/mL	0.149	0.000	0.149	0.021	0.151
3.67 log_{10} Kopien/mL	0.210	0.101	0.233	0.000	0.233
2.48 log_{10} Kopien/mL	0.157	0.079	0.176	0.000	0.176
HHV-6B					
5.14 log_{10} IU/mL	0.215	0.072	0.227	0.000	0.227
4.14 log_{10} IU/mL	0.259	0.014	0.260	0.023	0.261
3.14 log_{10} IU/mL	0.178	0.062	0.189	0.000	0.189
2.70 log_{10} IU/mL	0.149	0.079	0.169	0.000	0.169

QUELLENANGABE

1. Rifai, N., Horvath, A.R., Wittwer, C.T., Tietz, N.W. (Eds.), 2018. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics, Sixth edition. ed. Elsevier, St. Louis, Missouri.
2. Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections. Clin Microbiol Rev. 2015 Apr;28(2):313-35. doi: 10.1128/CMR.00122-14. PMID: 25762531; PMCID: PMC4402955.
3. Hill JA. Human herpesvirus 6 in transplant recipients: an update on diagnostic and treatment strategies. Curr Opin Infect Dis. 2019 Dec;32(6):584-590. doi: 10.1097/QCO.0000000000000592. PMID: 31567413; PMCID: PMC7141773.
4. Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Human Herpesviruses 6A, 6B, and 7. Microbiol Spectr. 2016 Jun;4(3). doi: 10.1128/microbiolspec.DMIH2-0007-2015. PMID: 27337451
5. Navarro E, Serrano-Heras G et all. 2015 Real-time PCR Detection Chemistry. Clin Chim Acta.15;439:231-50. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens,
6. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington,DC: US Government Printing Office, January 2009.
7. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed.Geneva: World Health Organization, 2004.
8. CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
9. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline—Second Edition CLSI Document MM13. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020
10. CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectius Diseases. Approved Guideline – Third Edition. CLSI document MM03. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015
11. CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectius Diseases; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document MM06-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2010
12. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2012
13. 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
14. CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2014
15. CLSI. Metrological Traceability and Its Implementation; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Report EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2006

MARKEN

NeuMoDx™ ist eine Marke von NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® ist eine eingetragene Marke von Roche Molecular Systems, Inc.

Seracare® ist eine eingetragene Marke von Seracare Life Sciences, Inc..

Alle anderen Produktnamen, Warenzeichen und eingetragenen Warenzeichen, die in diesem Dokument erscheinen, sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

SYMBOLE

SYMBOL	BEDEUTUNG
Rx Only	Rezeptpflichtig
	Hersteller
	Vertrieb
IVD	In-Vitro-Diagnostikum
REF	Bestellnummer
LOT	Chargenbezeichnung
	Gebrauchsanweisung beachten
	Vorsicht, Begleitdokumente konsultieren
	Temperaturbegrenzung
	Vor Feuchtigkeit schützen
	Nicht wiederverwenden
	Vor Licht schützen
	Ausreichend für <n> Tests
	Verwendbar bis

SENTINEL CH. S.p.A.
Via Robert Koch, 2
20152 Mailand, Italien

www.sentineldiagnostics.com

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

+1 888 301 NMDX (6639)
Technischer Support: support.qiagen.com
Vigilanzmeldung: support.qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents