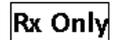




202400 NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip



ATENCIÓN: Para la exportación a EE.UU. solamente



Para uso diagnóstico *in vitro* con los NeuMoDx™ 288 y NeuMoDx™ 96 Molecular Systems



El folleto de este paquete se debe leer atentamente antes de usar el producto. Se deben seguir las instrucciones del folleto.

La fiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si hay alguna desviación de las instrucciones del folleto de este paquete.

Para instrucciones detalladas consulte el Manual del Operador NeuMoDx™ 288 Molecular System ; P/N 40600108

Para instrucciones detalladas consulte el Manual del Operador NeuMoDx™ 96 Molecular System; P/N 40600317



USO INDICADO

El NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay es una prueba automatizada de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* para la cuantificación y diferenciación del ADN del virus del herpes simple tipo 1 (VHS-1, alfa herpesvirus humano 1) y/o del ADN del virus del herpes simple tipo 2 (VHS-2, alfa herpesvirus humano 2) en plasma EDTA de pacientes inmunocomprometidos trasplantados^{1,2}.

El NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay implementado en el NeuMoDx™ 288 Molecular System y NeuMoDx™ 96 Molecular System incorpora la extracción automatizada de ADN para aislar el ácido nucleico objetivo de la muestra y la real-time PCR para abordar las dos regiones altamente conservadas en los genomas del VHS-1 y VHS-2.

El ensayo está destinado a ser utilizado como ayuda en la monitorización de los niveles de ADN del VHS-1 y/o VHS-2 en plasma EDTA. Este ensayo está destinado a ser utilizado junto con la presentación clínica y otros marcadores de laboratorio de la progresión de la enfermedad para la gestión clínica y la monitorización de las infecciones por VHS-1 y/o VHS-2.

El NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay no está destinado a ser utilizado como prueba de cribado para la presencia de ADN VHS-1/VHS-2 en sangre o productos sanguíneos.

El NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay está destinado a ser utilizado por personal de laboratorio clínico capacitado y específicamente instruido en las técnicas de real-time PCR y en los procedimientos de diagnóstico *in vitro* y/o en los NeuMoDx™ Molecular Systems. El NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay no está destinado al autodiagnóstico ni al uso en el punto de atención.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La sangre entera humana recogida en tubos estériles de recogida de sangre que contienen EDTA como agente anticoagulante o en tubos de preparación de plasma (PPT) puede utilizarse para la preparación del plasma. Para comenzar la prueba, el plasma en un tubo de muestra primario o secundario compatible con el NeuMoDx™ System, se carga en el NeuMoDx™ System utilizando una gradilla de tubo de muestra designado para iniciar el procesamiento automatizado.

Una alícuota de 550 µl de la muestra de plasma se mezcla con NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 y el NeuMoDx™ System realiza automáticamente todos los pasos necesarios para extraer el ácido nucleico objetivo, preparar el ADN aislado para la amplificación mediante real-time PCR y, si está presente, amplificar y detectar los productos de la amplificación. El NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay incluye un control del proceso de muestreo de ADN (SPC1) para ayudar a monitorizar la presencia de posibles sustancias inhibitoras, así como los fallos del NeuMoDx™ System o de los reactivos que puedan encontrarse durante los procesos de extracción y amplificación.

El VHS-1 y el VHS-2 son infecciones comunes en todo el mundo. En Estados Unidos, las seroprevalencias del VHS-1 y del VHS-2 son del 58% y del 17%, respectivamente. La transmisión de estos virus se produce por contacto directo con la piel infectada o las secreciones infectadas. La transmisión puede producirse durante periodos de excreción viral subclínica cuando no hay síntomas^{3,4}.

Entre los adultos inmunocompetentes, tanto el VHS-1 como el VHS-2 causan una variedad de infecciones primarias que afectan a las superficies mucocutáneas. Los síndromes se solapan, pero el VHS-1 suele causar el herpes orolabial, mientras que el VHS-2 causa la enfermedad anogenital. Ambos síndromes se caracterizan por la presencia de vesículas dolorosas y ulceradas en la piel y las mucosas de la región afectada. Tras la infección primaria, el VHS-1 y el VHS-2 establecen una infección latente de las neuronas de los ganglios sensoriales. La reactivación del virus latente provoca una enfermedad mucocutánea recurrente. La enfermedad grave por VHS-1 o VHS-2 es poco frecuente en adultos inmunocompetentes. Sin embargo, pueden producirse importantes síndromes neurológicos, como la parálisis de Bell, la meningitis y la encefalitis, que se asocian a una importante morbilidad y mortalidad si no se tratan con prontitud. Los pacientes inmunodeprimidos con enfermedad por VHS suelen desarrollar uno de los síndromes mucocutáneos descritos anteriormente, derivados de la reactivación de la infección latente^{3,4,5}.

Los individuos inmunocomprometidos también corren el riesgo de sufrir una extensión local de la enfermedad (por ejemplo, esofagitis por VHS) y una infección diseminada. La infección diseminada por VHS con afectación de órganos viscerales no contiguos se asocia a una mortalidad muy elevada, especialmente con la hepatitis por VHS^{3,4,5}.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay en el NeuMoDx™ System utiliza la NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, los NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators, los NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls, el NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, y los reactivos de uso general NeuMoDx™ NeuMoDx™ para realizar el análisis. El NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay combina la extracción, amplificación y detección automatizada de ADN mediante real-time PCR. Las muestras de plasma en tubos de muestra primarios o secundarios compatibles con el NeuMoDx™ System se colocan en una gradilla de tubos de prueba, que luego se carga en el NeuMoDx™ System para su procesamiento. No es necesaria ninguna otra intervención del operador.

Los NeuMoDx™ Systems utilizan una combinación de calor, enzima lítica y reactivos de extracción para realizar automáticamente la lisis celular, la extracción de ADN y la eliminación de inhibidores. Los ácidos nucleicos liberados son capturados por microesferas de afinidad magnética. Las microesferas, con los ácidos nucleicos ligados, se cargan en el NeuMoDx™ Cartridge donde los componentes no fijados y no ADN se lavan aún más con el NeuMoDx™ Wash Reagent y el ADN fijado se eluye utilizando el NeuMoDx™ Release Reagent. Los NeuMoDx™ Systems utilizan entonces el ADN eluido para rehidratar el SENTINEL CH. Reactivos de amplificación liofilizados propiedad de S.p.A. que contienen todos los elementos necesarios para la amplificación por PCR de los objetivos específicos de VHS-1/HSV-2 y del objetivo SPC1. Tras la reconstitución de los reactivos de PCR liofilizados, el NeuMoDx™ System dispensa la mezcla preparada y lista para la PCR en el NeuMoDx™ Cartridge. La amplificación y la detección de las secuencias de ADN de control y objetivo (si están presentes) se producen en el área de la cámara de PCR del NeuMoDx™ Cartridge. El NeuMoDx™ Cartridge también está diseñado para contener el amplicón después de la real-time PCR, eliminando esencialmente el riesgo de contaminación posterior a la amplificación.

Las dianas genómicas de NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip son respectivamente los genes US6 y UL45 para el virus VHS-1 y los genes US6 y UL30 para el virus VHS-2. Estos objetivos amplificados se detectan en tiempo real mediante la química de la sonda de hidrólisis (comúnmente denominada química TaqMan®) utilizando moléculas de sonda de oligonucleótidos fluorogénicos específicos de los amplicones para sus respectivos objetivos. Las sondas TaqMan® consisten en un fluoróforo unido covalentemente al extremo de 5' de la sonda oligonucleotídica y un inhibidor en el extremo de 3'. Mientras la sonda está intacta, el fluoróforo y el inhibidor están en proximidad, lo que hace que la molécula del inhibidor inhiba la fluorescencia emitida por el fluoróforo a través de la FRET (Transferencia de Energía de Resonancia de Förster). Las sondas TaqMan® están diseñadas de tal manera que se recuecen dentro de una región de ADN amplificada por un conjunto específico de cebadores. A medida que la Taq ADN polimerasa extiende el cebador y sintetiza la nueva cadena, la actividad de exonucleación de 5' a 3' de la Taq ADN polimerasa degrada la sonda que se ha recocido en la plantilla. La degradación de la sonda libera el fluoróforo y rompe la proximidad al inhibidor, superando así el efecto de inhibición debido a FRET y permitiendo la detección de fluorescencia del fluoróforo. La señal fluorescente resultante que se detecta en el Ciclador Térmico de PCR cuantitativa del NeuMoDx™ System es directamente proporcional al fluoróforo liberado y puede correlacionarse con la cantidad de ADN objetivo presente.

Las sondas TaqMan® etiquetadas con fluoróforos en el extremo de 5', y los inhibidores en el extremo de 3', se utilizan para detectar el ADN del VHS-1, ADN del VHS-2 y el ADN del SPC1. El software del NeuMoDx™ System monitoriza la señal fluorescente emitida por las sondas TaqMan® al final de cada ciclo de amplificación. Cuando la amplificación se completa, el software del NeuMoDx™ System analiza los datos e informa de un resultado final (POSITIVE (POSITIVO) / NEGATIVE (NEGATIVO) / INDETERMINATE (INDETERMINADO) / UNRESOLVED (NO RESUELTO) / NO RESULT (SIN RESULTADO)). Si el resultado es positivo y la concentración calculada está dentro de los límites de la cuantificación, el software del NeuMoDx™ System también proporciona un valor cuantitativo asociado a la muestra o informa si la concentración calculada está fuera del rango lineal.

REACTIVOS/CONSUMIBLES

Material suministrado

REF	Contenido	Pruebas por unidad	Pruebas por paquete
202400	NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip <i>Reactivos PCR liofilizados que contienen sondas y cebadores TaqMan® específicos para VHS-1, sondas y cebadores TaqMan® específicos para VHS-2, además de la sonda y los cebadores TaqMan® específicos de SPC1.</i>	16	96

Reactivos y consumibles necesarios pero no suministrados (disponibles por separado de NeuMoDx)

REF	Contenido
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Partículas paramagnéticas secas, enzima lítica y controles del proceso de muestreo.</i>
800900	NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators <i>Juegos de un solo uso de calibradores secos altos y bajos de VHS-1 y VHS-2 para establecer curvas estándar.</i>
900901	NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls <i>Juegos de un solo uso de controles secos positivos y negativos de HSV-1 y HSV-2 para establecer la validez diaria del NeuMoDx™ HSV-1/2 Quant Assay</i>
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Hamilton CO-RE Tips (300 µL) con filtros
235905	Hamilton CO-RE Tips (1000 µL) con filtros

Para los detalles de los reactivos y consumibles, consulte el folleto correspondiente

Instrumentos necesarios

NeuMoDx™ 288 Molecular System (REF 500100) o NeuMoDx™ 96 Molecular System (REF 500200).
NeuMoDx System Software versión 1.9.2.6 o superior.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- La NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip es para uso de diagnóstico in vitro exclusivamente con los NeuMoDx™ Systems.
- Lea todas las instrucciones incluidas en el folleto del kit antes de realizar la prueba.
- No utilice los reactivos o consumibles después de la fecha de caducidad indicada.
- No utilice reactivos si el sello de seguridad está roto o si el embalaje está dañado a su llegada.
- No utilice consumibles o reactivos si la bolsa protectora está abierta o rota a su llegada.
- No mezcle reactivos para la amplificación de otros kits comerciales.
- No reutilice. Conserve todas las NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips protegidas de la luz y la humedad en sus sobres de aluminio.
- Antes de poder generar los resultados de las pruebas para las muestras clínicas, se debe disponer de una calibración de prueba válida, generada mediante el procesamiento de los calibradores alto y bajo del NeuMoDx™ HSV-1/2 Calibrators (REF 800900).
- Los NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls (REF 900901) deben ser procesados cada 24 horas a lo largo de las pruebas con el NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip.
- El volumen mínimo de la muestra depende del tamaño del tubo, del portador de la muestra y del volumen de la muestra, tal y como se define a continuación. Un volumen inferior al mínimo especificado puede dar lugar a un error de "Quantity Not Sufficient" (cantidad insuficiente).
- El uso de muestras almacenadas a temperaturas inadecuadas o más allá de los tiempos de almacenamiento especificados puede producir resultados inválidos o erróneos.
- Evite la contaminación microbiana y de desoxirribonucleasa (DNasa) de todos los reactivos y consumibles. Se recomienda el uso de pipetas de transferencia desechables estériles sin DNasa si se utilizan tubos de muestras secundarios. Utilice una nueva pipeta para cada muestra.
- Para evitar la contaminación, no manipule ni desmonte ningún NeuMoDx™ Cartridge después de la amplificación. No recupere los NeuMoDx™ Cartridges del contenedor de residuos de peligro biológico (NeuMoDx™ 288 Molecular System) o del cubo de residuos de peligro biológico (NeuMoDx™ 96 Molecular System) bajo ninguna circunstancia. El NeuMoDx™ Cartridge está diseñado para prevenir la contaminación.
- En los casos en que el laboratorio también realice pruebas de PCR de tubo abierto, se debe tener cuidado de asegurar que no se contaminen la NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, los consumibles y reactivos adicionales necesarios para las pruebas, el equipo de protección personal como guantes y batas de laboratorio y el NeuMoDx™ System.
- Deben utilizarse guantes de nitrilo limpios y sin polvo cuando se manipulen los reactivos y consumibles NeuMoDx™. Se deberá tener cuidado de no tocar la superficie superior del NeuMoDx™ Cartridge, la superficie de sellado de la lámina de la NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip o de la NeuMoDx™ Extraction Plate, o la superficie superior del contenedor del NeuMoDx™ Lysis Buffer 1; la manipulación de los consumibles y reactivos deberá hacerse tocando únicamente las superficies laterales.
- Las Fichas de Datos de Seguridad (FDS) se proporcionan para cada reactivo (según corresponda) en www.neumodx.com/client-resources.
- Una barra vertical en el margen del texto indica cambios en comparación con la versión anterior del folleto.
- Lávese bien las manos después de realizar la prueba.
- No se debe pipetear por la boca. No fume, beba ni coma en las zonas donde se manipulan las muestras o los reactivos.
- Manipule siempre las muestras como si fueran infecciosas y de acuerdo con los procedimientos seguros de laboratorio, como los descritos en la norma de la OSHA sobre patógenos de transmisión sanguínea⁷. Deben aplicarse niveles de bioseguridad 2^º u otras prácticas adecuadas^{9,10} para materiales que contengan o que se sospeche que puedan contener agentes infecciosos.
- Deseche los reactivos no utilizados y los residuos de acuerdo con las regulaciones nacionales, federales, provinciales, estatales y locales. Siga las recomendaciones de la Ficha de Datos de Seguridad (FDS).

ALMACENAMIENTO, MANIPULACIÓN Y ESTABILIDAD DEL PRODUCTO

- Las NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips son estables en el envase primario entre 15 y 30 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta inmediata del producto.
- Una NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip cargada en el NeuMoDx™ System es estable durante 32 días; el NeuMoDx™ System solicitará la retirada de las tiras reactivas que hayan estado en uso a bordo del NeuMoDx™ System durante más de 32 días y será necesario abrir nuevas NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips (extraer las tiras de la bolsa) y cargarlas en el NeuMoDx™ System. No retire el papel de aluminio de la tira al cargarla en el soporte de tiras reactivas.
- Los calibradores y controles NeuMoDx™ HSV1/2 no son infecciosos pero deben desecharse en los residuos de laboratorio de riesgo biológico después de su uso, ya que contendrán material objetivo que puede causar contaminación si no se manipula adecuadamente.

RECOGIDA, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

1. Manipule todas las muestras como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos.
2. No congele la sangre entera o las muestras de plasma almacenadas en tubos primarios.
3. Para preparar las muestras de plasma, la sangre entera debe ser recolectada en tubos estériles usando EDTA como anticoagulante. Siga las instrucciones del fabricante del tubo de recogida de muestras.

4. La sangre entera recogida en los dispositivos mencionados anteriormente puede almacenarse y/o transportarse durante un máximo de 24 horas a una temperatura de 2°C a 8°C antes de la preparación del plasma. La preparación de las muestras debe realizarse de acuerdo con las instrucciones del fabricante.
5. Las muestras de plasma preparadas pueden almacenarse en el NeuMoDx[™] System hasta 24 horas antes de su procesamiento. Si se requiere un tiempo de almacenamiento adicional, se recomienda que las muestras se refrigieren o congelen como alicuotas secundarias.
6. Las muestras de plasma preparadas deben almacenarse entre 2 y 8 °C durante no más de 8 días antes de la prueba y un máximo de 24 horas a temperatura ambiente.
7. Las muestras preparadas pueden almacenarse a < -20°C durante un máximo de 8 semanas antes de su procesamiento; las muestras no deben someterse a más de 2 ciclos de congelación/descongelación antes de su uso:
 - a. Si las muestras se congelan, deje que las muestras se descongelen completamente a temperatura ambiente (15 - 30°C) antes de la prueba; agite para generar una muestra distribuida uniformemente.
 - b. Una vez que las muestras congeladas se descongelan, las pruebas deben realizarse en un plazo de 24 horas.
8. Si se envían las muestras, deben ser empaquetadas y etiquetadas de acuerdo con los reglamentos nacionales y/o internacionales aplicables.
9. Etiquete las muestras claramente e indique que son para pruebas de VHS-1 y/o VHS-2.
10. Proceda a la sección de *preparación de la prueba*.

El proceso general para la implementación del NeuMoDx[™] HSV 1/2 Quant Assay se resume en la *Figura 1*.

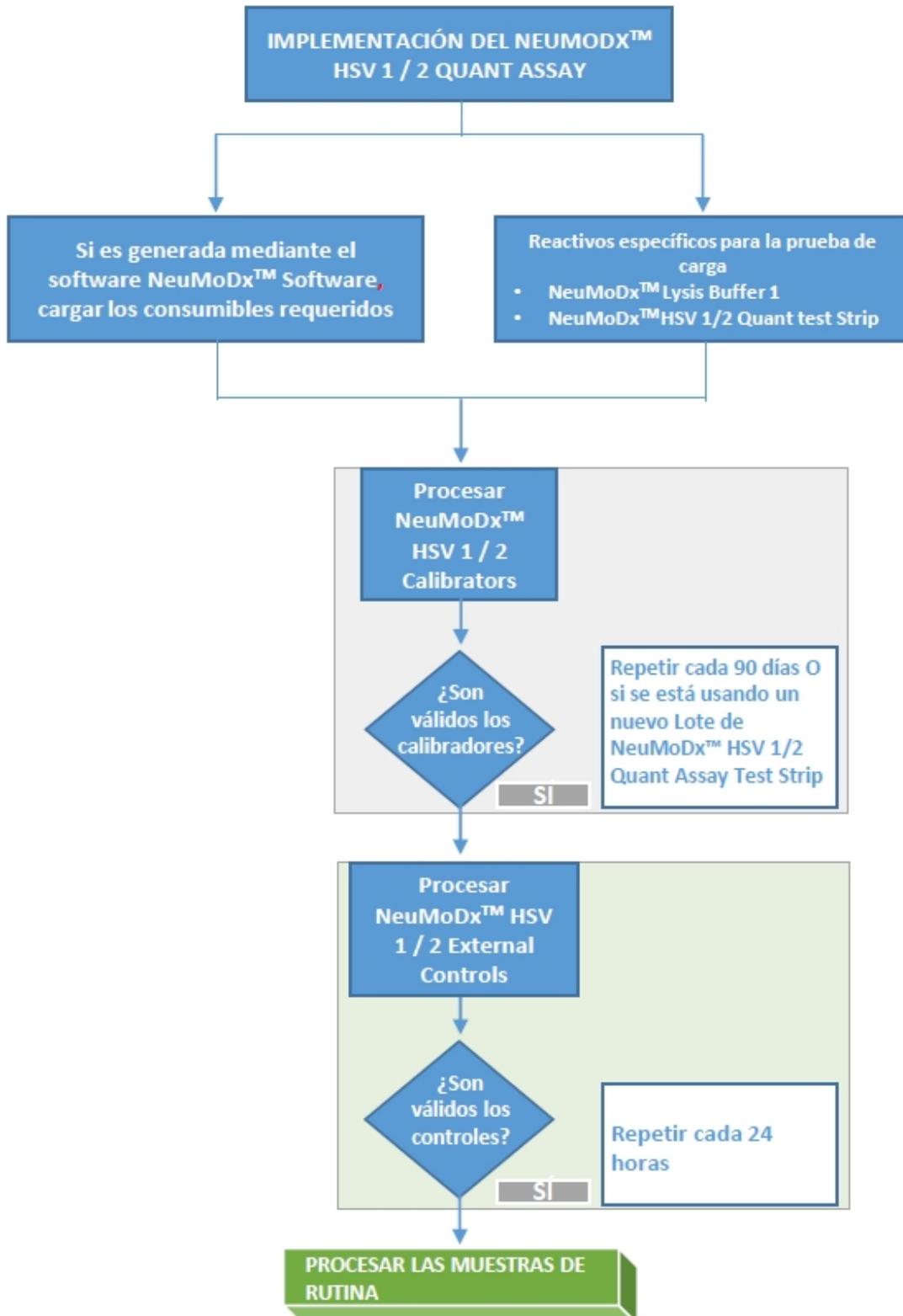


Figura 1: Flujo de trabajo de implementación del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

INSTRUCCIONES DE USO

Preparación de la prueba

Para las muestras de plasma, el NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay puede realizarse directamente desde los tubos de extracción de sangre primarios o desde alícuotas de muestras en tubos secundarios.

1. Aplique una etiqueta de código de barras a un tubo de muestra compatible con el NeuMoDx™ System. El tubo de extracción de sangre primario puede etiquetarse y colocarse directamente en una gradilla de tubos de muestra apropiada, tras la centrifugación según las instrucciones del fabricante.
2. Si se prueba la muestra de plasma en el tubo de recogida primario, coloque el tubo con código de barras en una gradilla de tubos de muestra y asegúrese de quitar la tapa antes de cargarlo en el NeuMoDx™ System. Los volúmenes mínimos *por encima* de la capa de gel/leucocítica se definen a continuación y se cumplirán si las muestras se recogen y procesan de acuerdo con las instrucciones del fabricante del tubo. No se garantiza el rendimiento de las muestras que se recogen de forma incorrecta.
3. Para muestras de plasma en un tubo secundario, transfiera una alícuota de la muestra al tubo de muestras con código de barras compatible con el NeuMoDx™ System según los volúmenes definidos a continuación:

Gradilla de tubo de muestra	Tamaño del tubo	Volumen de muestra mínimo necesario
Gradilla de tubo de muestra de 32 tubos	11–14 mm de diámetro para 60–120 mm de altura	750 µL
Gradilla de tubo de muestra de 24 tubos	14.5–18 mm de diámetro para 60–120 mm de altura	1100 µL
Gradilla de tubo de muestra de bajo volumen	Tubo de microcentrifuga de fondo cónico de 1.5 mL	650 µL

Funcionamiento del NeuMoDx™

Para instrucciones detalladas, consulte el Manual del Operador de NeuMoDx™ 288 y 96 Molecular Systems (p/n 40600108 & 40600317)

1. Cargue la orden de prueba en el sistema NeuMoDx™ System según el tipo de tubo deseado.
2. Corte las bolsas de NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips en el punto indicado por las muescas laterales.
3. Saque las tiras de las bolsas inmediatamente antes de su uso.
4. Antes de usarlas, asegúrese de que la bolsa esté siempre bien sellada y de que la bolsita de desecante esté dentro de la bolsa. Use sólo bolsas no dañadas.
5. Elimine las bolsas de aluminio y su contenido si los saquitos de desecante pasan de naranja a verde.
6. Llene uno o varios soportes de NeuMoDx™ System Test Strip con NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip(s) y use la pantalla táctil para cargar el soporte de tiras de prueba en el NeuMoDx™ System.
7. Si lo solicita el software del NeuMoDx™ System, añada los consumibles necesarios los porta-consumibles del NeuMoDx™ System y use la pantalla táctil para cargar los soportes en el NeuMoDx™ System.
8. Si lo solicita el software del NeuMoDx™ System, sustituya los NeuMoDx™ Wash Reagent, NeuMoDx™ Release Reagent, vacíe los residuos de cebado, el contenedor de residuos de peligro biológico (solo para el NeuMoDx 288 Molecular System), el cubo de residuos de puntas (solo NeuMoDx™ 96 Molecular System), o el cubo de residuos de peligro biológico (solo NeuMoDx™ 96 Molecular System), según corresponda.
9. Si el software del NeuMoDx™ System lo solicita, procese los calibradores (REF 800900) y/o los controles externos (REF 900901) según sea necesario. Se puede encontrar más información sobre los calibradores y controles en la sección Procesamiento de resultados.
10. Cargue el/los tubo(s) del calibrador/control en una gradilla estándar de 32 tubos y asegúrese de que se retiren las tapas de todos los tubos.
11. Coloque la gradilla de tubos de muestra en el estante del cargador automático y utilice la pantalla táctil para cargar la gradilla en el NeuMoDx™ System. Esto iniciará el procesamiento de las pruebas cargadas para la(s) prueba(s) identificada(s), siempre que exista una orden de prueba válida en el sistema.

LIMITACIONES

- Las NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip solo pueden utilizarse en los NeuMoDx™ Systems.
- El rendimiento de la NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip se ha establecido para muestras de plasma preparadas a partir de sangre entera, recogidas con EDTA como anticoagulante. No se ha evaluado el uso de la NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip con otros tipos de muestras y se desconocen las características de rendimiento de la prueba para otros tipos de muestras.
- El NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay no debe utilizarse con muestras de humanos heparinizados.
- Dado que la detección del ADN de VHS-1 y/o VHS-2 depende del número de organismos presentes en la muestra, la fiabilidad de los resultados depende de la correcta recogida, manipulación y almacenamiento de los especímenes.
- Pueden producirse resultados erróneos debido a una recogida, manipulación y almacenamiento inadecuados de las muestras, a errores técnicos o a la confusión de los tubos de muestras. Además, podrían producirse resultados negativos falsos porque el número de partículas virales de la muestra está por debajo del límite de detección del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.
- El uso del NeuMoDx™ System está limitado a personal capacitado en el manejo del NeuMoDx™ System.
- Si los objetivos de VHS-1, VHS-2 y SPC1 no se amplifican, se notificará un resultado no válido (indeterminado o no resuelto) y se deberá repetir la prueba.
- Si se produce un error en el sistema antes de finalizar el procesamiento de la muestra, se notificará un "Sin resultado" y se deberá repetir la prueba.
- Si el resultado del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay es positivo, pero el valor de cuantificación está más allá de los límites de cuantificación, el NeuMoDx™ System notificará si el ADN del VHS-1 y/o VHS-2 detectado estaba por debajo del Límite Inferior de Cuantificación (LLOQ) o por encima del Límite Superior de Cuantificación (ULOQ).
- En el caso de que el ADN del VHS-1 y/o VHS-2 detectado esté por encima de ULOQ, el NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay se puede repetir con una alícuota diluida de la muestra original. Se recomienda una dilución de 1:100 o 1:1000 en plasma negativo de DNA del VHS-1 y/o VHS-2 o diluyente Basematrix 53 (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). El sistema calculará automáticamente la concentración de la muestra original de la siguiente manera: Concentración original de la muestra = \log_{10} (factor de dilución) + concentración notificada de la muestra diluida, siempre que el factor de dilución se haya seleccionado correctamente en el software antes de la repetición.
- La presencia ocasional de inhibidores de la PCR en el plasma puede dar lugar a un error de cuantificación del sistema; si esto ocurre, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra diluida en el Basematrix a 1:10 o 1:100.
- Un resultado positivo no indica necesariamente la presencia de organismos viables. Sin embargo, un resultado positivo indica la presencia de ADN de VHS-1 y/o VHS-2.
- La eliminación o las mutaciones en las regiones conservadas a las que se dirige el NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay pueden afectar a la detección o pueden dar lugar a un resultado erróneo al utilizar la NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip.
- Los resultados del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay deben utilizarse como complemento de las observaciones clínicas y otra información disponible para el médico; la prueba no tiene por objeto diagnosticar la infección.
- Se recomiendan las buenas prácticas de laboratorio, incluido el cambio de guantes entre la manipulación de las muestras de los pacientes, para evitar la contaminación.

PROCESAMIENTO DE LOS RESULTADOS

Los resultados disponibles pueden verse o imprimirse desde la pestaña "Resultados" de la ventana de resultados de la pantalla táctil del NeuMoDx™ System. Los resultados del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay son generados automáticamente por el NeuMoDx™ System utilizando el algoritmo de decisión y los parámetros de procesamiento de resultados especificados en el archivo de definición del NeuMoDx™ HSV 1/2 Assay (VHS 1/2 ADF versión 4.0.0). Un resultado de un NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay puede ser notificado como Negativo, Positivo con una concentración de VHS-1 y/o VHS-2 notificada, Positivo por encima de ULOQ, Positivo por debajo de LLOQ, Indeterminado (IND), No resuelto (UNR), o Sin resultado (NR) basado en el estado de amplificación del objetivo y el control del proceso de la muestra. Los resultados se notifican en base al algoritmo de procesamiento de los resultados de ADF, que se resume a continuación en la *Tabla 1*.

Los resultados obtenidos con la NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip deben interpretarse junto con otros datos clínicos y de laboratorio.

Tabla 1: Resumen de la interpretación de los resultados del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

Resultado	VHS-1/VHS-2	Control del proceso de muestra (SPC1)	Interpretación del resultado
Positivo con Concentración Notificada	Amplificado $2.05 \leq [\text{HSV-1}] \leq 6.0 \log_{10}$ copias/mL	Amplificado o No Amplificado	ADN de HSV-1 detectado dentro del rango cuantitativo
	Amplificado $1.78 \leq [\text{HSV-2}] \leq 6.0 \log_{10}$ copias/mL	Amplificado o No Amplificado	ADN de HSV-2 detectado dentro del rango cuantitativo
Positivo, por encima del Límite Superior de Cuantificación [ULOQ]	Amplificado $[\text{HSV-1}] > 6.0 \log_{10}$ copias/mL	Amplificado o No Amplificado	ADN de VHS-1 detectado por encima del rango cuantitativo

Resultado	VHS-1/VHS-2	Control del proceso de muestra (SPC1)	Interpretación del resultado
	Amplificado [HSV-2] > 6.0 log ₁₀ copias/mL	Amplificado o No Amplificado	ADN de VHS-2 detectado por encima del rango cuantitativo
Positivo, por debajo del Límite Inferior de Cuantificación [LLOQ]	Amplificado [HSV-1] < 2.05 log ₁₀ copias/mL	Amplificado o No Amplificado	ADN de VHS-1 detectado por debajo del rango cuantitativo
	Amplificado [HSV-2] < 1.78 log ₁₀ copias/mL	Amplificado o No Amplificado	ADN de VHS-2 detectado por debajo del rango cuantitativo
Negativo*	No Amplificado	Amplificado	ADN de VHS-1/VHS-2 no detectado
Indeterminado	No amplificado, detectado error de sistema, procesamiento de muestra completado		Todos los resultados objetivo fueron no válidos; volver a probar la muestra†
Sin Resultado	No amplificado, detectado error de sistema, procesamiento de muestra cancelado		El procesamiento de la muestra fue cancelado; volver a probar la muestra†
No resuelto	No Amplificado, No se ha detectado ningún error de sistema		Todos los resultados objetivo fueron no válidos; volver a probar la muestra†

*Al igual que con otras pruebas, los resultados negativos no descartan la infección por VHS-1 y/o VHS-2.

†El NeuMoDx™ System está equipado con una capacidad de repetición/relanzamiento automáticos que el usuario final puede elegir para asegurar que un resultado IND/NR/UNR se vuelva a procesar automáticamente para minimizar los retrasos en el informe de resultados.

Calculo de la prueba

- En el caso de las muestras que se encuentran dentro del rango de cuantificación del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay, la concentración de ADN de VHS-1 y ADN de VHS-2 en las muestras se calcula utilizando las correspondientes curvas estándar almacenadas junto con los coeficientes de calibración.
 - El coeficiente de calibración se calcula sobre la base de los resultados del NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators procesados para establecer la validez de la curva estándar, para un lote determinado de la NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip, en un NeuMoDx™ System específico, para cada objetivo.
 - El coeficiente de calibración se incorpora en la determinación final de la concentración de ADN de VHS-1 y ADN de VHS-2.
- Los resultados del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay son notificados en log₁₀ copias/mL y copias/mL.
- La cuantificación resultante de las muestras desconocidas es trazable al panel de verificación VHS-1 (Diagnóstico exacto) y al panel de verificación VHS-2 (Diagnóstico exacto), ambos cuantificados por PCR digital de gota (ddPCR).

Calibración de la prueba

Se requiere una calibración válida basada en la Curva Estándar para cuantificar el ADN del VHS-1 y/o ADN del VHS-2 en las muestras. Para generar resultados válidos, se debe completar una calibración de prueba para el VHS-1 y el VHS-2 utilizando los calibradores proporcionados por NeuMoDx™ Molecular, Inc.

Calibradores

- Los NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators se suministran en un kit (REF 800900) y se componen de un pellet seco de ADN sintético de VHS-1 y ADN de VHS-2 y un tampón específico.
- Es necesario procesar un juego de calibradores VHS-1/VHS-2 con cada nuevo lote de NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips, si se carga un nuevo archivo de definición de ensayo VHS-1/VHS-2 en el NeuMoDx™ System, si el juego actual de calibradores ha superado el período de validez (actualmente fijado en 90 días) o si se modifica el software del NeuMoDx™ System.
- El software del NeuMoDx™ System notificará al usuario cuando sea necesario procesar los calibradores; no se puede utilizar un nuevo lote de tiras de prueba para realizar pruebas hasta que los calibradores se hayan procesado con éxito.
- Si es necesario procesar un nuevo juego de calibradores VHS-1/VHS-2, lea todas las instrucciones contenidas en el folleto del NeuMoDx™ HSV 1/2 Calibrators antes de realizar la prueba.
- La validez de la calibración se establece de la siguiente manera:
 - Es necesario generar dos coeficientes de calibración, uno para el VHS-1 y otro para el VHS-2, procesando un conjunto de dos calibradores para cada objetivo -alto y bajo- para establecer la validez de cada curva.
 - Para generar resultados válidos, al menos 2 de las 3 réplicas deben dar resultados dentro de parámetros predefinidos. El objetivo nominal del calibrador bajo es de 3.12 log₁₀ copias/mL y el objetivo nominal del calibrador alto es de 5.12 log₁₀ copias/mL para los conjuntos de calibradores VHS-1 y VHS-2.
 - Se calcula un coeficiente de calibración para tener en cuenta la variación prevista entre los lotes de tiras de prueba; este coeficiente de calibración se utiliza en la determinación de la concentración final de VHS-1 y/o VHS-2.

- Si uno o ambos calibradores fallan en el control de la validez, repita el procesamiento de los calibradores fallidos usando un nuevo vial. En caso de que un calibrador falle en su validez, sólo se puede repetir el calibrador fallido ya que el sistema no requiere que el usuario ejecute de nuevo ambos calibradores.
- Si el calibrador o calibradores no superan la comprobación de validez por segunda vez consecutiva, póngase en contacto con la asistencia técnica de QIAGEN.

Control de Calidad

Los reglamentos locales suelen especificar que el laboratorio es responsable de los procedimientos de control que monitorizan la exactitud y la precisión del proceso analítico completo, y debe establecer el número, el tipo y la frecuencia de las pruebas de los materiales de control utilizando especificaciones de rendimiento verificadas para un sistema de pruebas aprobado y no modificado.

Controles Externos

- Los controles externos de HSV-1 y HSV-2(REF 900901) son proporcionados por NeuMoDx™. Los controles positivos contienen un pellet seco de ADN sintético de VHS-1 y VHS-2. El control negativo es el tampón.
- Los controles externos positivos y negativos deben ser procesados una vez cada 24 horas. Si no existe un juego de controles externos válidos, el software del NeuMoDx™ System solicitará al usuario que estos controles se procesen antes de que se puedan comunicar los resultados de las muestras.
- Si se requieren controles externos, prepare los controles positivos y negativos como se indica en el folleto de los Controles externos VHS 1/2 antes de realizar la prueba.
- Utilizando la pantalla táctil y una gradilla de tubo de muestra colocada en el estante del cargador automático, cargue los viales de control positivo y negativo en el NeuMoDx™ System. El NeuMoDx™ System reconocerá el código de barras y comenzará a procesar los tubos de control externos, a menos que no se disponga de los reactivos o consumibles necesarios para la prueba.
- La validez de los controles externos será evaluada por el NeuMoDx™ System en función de los resultados previstos. El control positivo debe proporcionar un resultado positivo de VHS-1 y VHS-2 y el control negativo debe proporcionar un resultado negativo de VHS-1 y VHS-2.
- La manipulación de resultados discrepantes para los controles externos debe realizarse de la siguiente manera:
 - Un resultado positivo de una muestra de control negativa indica un problema de contaminación de la muestra y será necesario examinar los procedimientos de control de calidad del laboratorio para encontrar la causa principal. Asegúrese de utilizar zonas separadas para la preparación de las muestras, la manipulación de los controles y la preparación de la Real-Time PCR. Consulte el *NeuMoDx 288 o el Manual del Operador de 96 Molecular System* para obtener consejos adicionales sobre la solución de problemas.
 - Un resultado de prueba negativo notificado para una muestra de control positivo puede indicar que existe un problema relacionado con el reactivo o el instrumento.
 - En cualquiera de los casos anteriores, o en el caso de un Sin Resultado (NR), un No resuelto (UNR) o Indeterminado (IND), repita el control o controles externos de fallidos con un nuevo vial del control o controles que no superen la prueba de validez.
 - Si NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls positivos siguen notificando un resultado negativo, póngase en contacto con la Asistencia técnica de QIAGEN.
 - Si el NeuMoDx™ HSV 1/2 External Controls negativo continúa notificando un resultado positivo, intente eliminar todas las fuentes de contaminación potencial, incluyendo la sustitución de TODOS los reactivos antes de contactar a la Asistencia técnica QIAGEN.
- Si los controles externos no proporcionan los resultados esperados, es necesario repetir un conjunto de controles positivos y negativos. Las muestras no se procesarán hasta que el sistema procese un conjunto válido de Control Externo. En el caso de que las muestras estén en proceso mientras los controles externos expiran, el sistema requerirá un conjunto válido de Control Externo para ser ejecutado. Si el conjunto de control externo no da resultados válidos, no se notificarán los resultados de la muestra.

Controles (internos) del proceso de muestra

En la NeuMoDx™ Extraction Plate se incorpora un Control del Proceso de Muestras (SPC1) exógeno que se somete a todo el proceso de extracción de ácido nucleico y a la amplificación de la real-time PCR con cada muestra/control/calibrador. En cada NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip también se incluyen cebadores y una sonda específicos para SPC1, lo que permite detectar la presencia de SPC1 junto con el ADN del VHS-1 y el ADN de VHS-2 objetivo (si está presente) mediante una real-time PCR múltiple. La detección de la amplificación del SPC1 permite que el software del NeuMoDx™ System supervise la eficacia de los procesos de extracción de ADN y de amplificación por PCR.

Resultados no válidos

Si un NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay realizado en el NeuMoDx™ System no produce un resultado válido, se notificará como Indeterminado (IND), Sin resultado (NR) o No resuelto (UNR) en función del tipo de error que se haya producido. La prueba debe repetirse para obtener un resultado válido.

Se notificará un resultado Indeterminado (IND) si se detecta un error del NeuMoDx™ System durante el procesamiento de la muestra. En caso de que se notifique un resultado IND, se recomienda repetir la prueba.

Se notificará un Sin resultado (NR) si se detecta un error del sistema NeuMoDx durante el procesamiento de la muestra. En caso de que se notifique un No resuelto (UNR), se recomienda repetir la prueba.

Se notificará un resultado No resuelto (UNR) si no se detecta ningún objetivo y no hay amplificación del ADN del VHS-1, del ADN del VHS-2 o del SPC1, lo que indica un posible fallo del reactivo o la presencia de inhibidores. En el caso de que se notifique un resultado UNR, se puede volver a realizar la prueba como primer paso. Si la repetición de la prueba falla, se puede utilizar una muestra diluida para mitigar los efectos de cualquier inhibición de la muestra (para más instrucciones, consulte la sección de limitaciones).

Véase el Manual del Operador del NeuMoDx 288 Molecular System (PN: 40600108) o el Manual del Operador del NeuMoDx 96 Molecular System (PN: 40600317) para obtener una lista de códigos de error que pueden estar asociados a Resultados no válidos.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO^{11,12,16}

Sensibilidad analítica – Límite de detección¹³

La sensibilidad analítica del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay se caracterizó probando una serie de diluciones del panel de verificación VHS-1 (Diagnóstico exacto) y del panel de verificación VHS-2 (Diagnóstico exacto), en muestras de plasma VHS-1/VHS-2 negativas, para determinar el límite de detección (LoD) en el NeuMoDx™ Systems. El LoD se definió como el nivel objetivo más cercano, determinado experimentalmente, por encima de la concentración determinada por el análisis tipo Probit con un intervalo de confianza (IC) del 95%. El estudio se realizó durante 3 días en múltiples sistemas con múltiples lotes de reactivos NeuMoDx™. Cada sistema procesó 42 réplicas en cada nivel de dilución (muestras positivas) y 8 réplicas para muestras negativas por día. Las tasas de detección se muestran en las *Tablas 2 y 3*.

Tabla 2: Tasas de detección positiva para la determinación de LoD del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

VHS-1					VHS-2				
Concentración objetivo [copias/mL]	Concentración objetivo [log ₁₀ copias/mL]	Número de pruebas válidas	Número de Positivos	Tasa de detección	Concentración objetivo [copias/mL]	Concentración objetivo [log ₁₀ copias/mL]	Número de pruebas válidas	Número de Positivos	Tasa de detección
160	2.20	42	40	95.24 %	100	2.00	42	41	97.62 %
100	2.00	42	40	95.24 %	60	1.78	41	39	95.12 %
80	1.90	42	35	83.33 %	40	1.60	42	40	95.24 %
40	1.60	38	26	68.42 %	20	1.30	42	27	64.29 %
NEG	0.00	20	0	0 %	NEG	0.00	24	0	0 %

El LoD del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay se determinó mediante un análisis de tipo probit como 114 copias/mL (2.05 log₁₀ copias/mL) (intervalo de confianza del 95%: 93.5 a 133.7 copias/mL) para el VHS-1 y 56 copias/mL (1.75 log₁₀ copias/mL) (Intervalo de confianza del 95%: 44.7 a 66.2 copias/mL) para el VHS-2.

La concentración deLoD (114 copias/mL) del VHS-1 fue confirmada por el análisis de la tasa de aciertos en aislados de diferentes áreas geográficas: Asia, Europa, África y América del Norte (Tabla 3).

Tabla 3: Análisis de la tasa de aciertos en diferentes aislamientos geográficos de VHS-1 que confirman el límite inferior de detección. Nivel de concentración probado: 114 copias/mL.

Zona geográfica aislada	Pruebas válidas	Muestras detectadas	Tasa de detección
América del Norte	24	24	100
Europa	24	24	100
Asia	24	24	100
África	24	24	100

Sensibilidad analítica - Límite Inferior de Cuantificación (LLOQ) y Límite Superior de Cuantificación (ULOQ)¹³

El Límite Inferior de Cuantificación (LLOQ) y el Límite Superior de Cuantificación (ULOQ) se definen como el nivel objetivo inferior y el nivel objetivo superior en el que se logra una detección de >95% Y el TAE ≤ 1.0. Para determinar el LLOQ y el ULOQ, se calculó el error analítico total (TAE) para cada uno de los niveles objetivo del VHS-1 y VHS-2 que notificaban > 95% de detección en la prueba del Límite de Detección. El TAE se define de la siguiente manera:

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

El sesgo es el valor absoluto de la diferencia entre el promedio de la concentración calculada y la concentración esperada. El DE se refiere a la desviación estándar del valor cuantificado de la muestra.

Los resultados recopilados para los 5 niveles de muestras de suero de VHS-1/VHS-2 utilizados en el estudio LLOQ/ULOQ se muestran en las Tablas 4 y 5. Sobre la base de este conjunto de datos y de la LoD previamente determinada, se determinó que el LLOQ y el ULOQ eran de 114 copias/mL (2.05 log₁₀ copias/mL) y 1.26x10⁶ copias/mL (aquí aproximado a 6 log₁₀ copias/mL) para el VHS-1, y 60 copias/mL (1.78 log₁₀ copias/mL) y 1.19x10⁶ copias/mL (aquí aproximado a 6 log₁₀ copias/mL) para el VHS-2.

Tabla 4: NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip; HSV-1 ULOQ y LLOQ, con Bias y TAE

Concentración Objetivo [copias/mL]	Concentración Objetivo [log ₁₀ copias/mL]	Concentración media [log ₁₀ copias/mL]	Detección (%)	DE	Sesgo	TAE
------------------------------------	--	---	---------------	----	-------	-----

1.26x10 ⁶	6.10	6.10	100	0.22	0.10	0.54
160	2.20	2.46	95.24	0.26	0.25	0.78
100	2.00	2.37	95.24	0.31	0.37	0.98
80	1.90	2.33	83.33	0.29	0.42	1.01
40	1.60	2.25	68.42	0.38	0.65	1.41

Tabla 5: NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip; VHS-2 ULoQ y LLoQ, con sesgo y TAE

Concentración Objetivo [copias/mL]	Concentración Objetivo [log ₁₀ copias/mL]	Concentración media [log ₁₀ copias/mL]	Detección (%)	DE	Sesgo	TAE
1.19x10 ⁶	6.08	5.95	100	0.07	0.13	0.27
100	2.00	2.29	97.62%	0.20	0.29	0.69
60	1.78	2.21	95.12%	0.21	0.43	0.84
40	1.60	2.21	95.24%	0.21	0.61	1.02
20	1.30	2.00	64.29%	0.27	0.69	1.24

Basándose en el resultado de estos estudios, se determinó que el LLoQ del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay es de 114 copias/mL (2.05 log₁₀ copias/mL) para el VHS-1 y de 60 copias/mL (1.78 log₁₀ copias/mL) para el VHS-2. El ULoQ para todos los tipos de muestras es de 1.26x10⁶ copias/mL (6 log₁₀ copias/mL) para el VHS-1 y 1.19x10⁶ copias/mL (6 log₁₀ copias/mL) para el VHS-2.

Linealidad¹⁴

La linealidad de la NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip se estableció en plasma mediante la preparación de una serie de diluciones utilizando el panel de verificación VHS-1 (Diagnóstico exacto) y el panel de verificación VHS-2 (Diagnóstico exacto). Se crearon ocho (8) diluciones seriadas de paneles de VHS-1/VHS-2, preparadas en plasma humano negativo de VHS-1/VHS-2, para abarcar un rango de concentración de 6 - 2 log₁₀ copias/mL.

Las concentraciones del ensayo de VHS-1/VHS-2 notificadas por el NeuMoDx™ System en comparación con los valores esperados se presentan en las figuras 2 y 3.

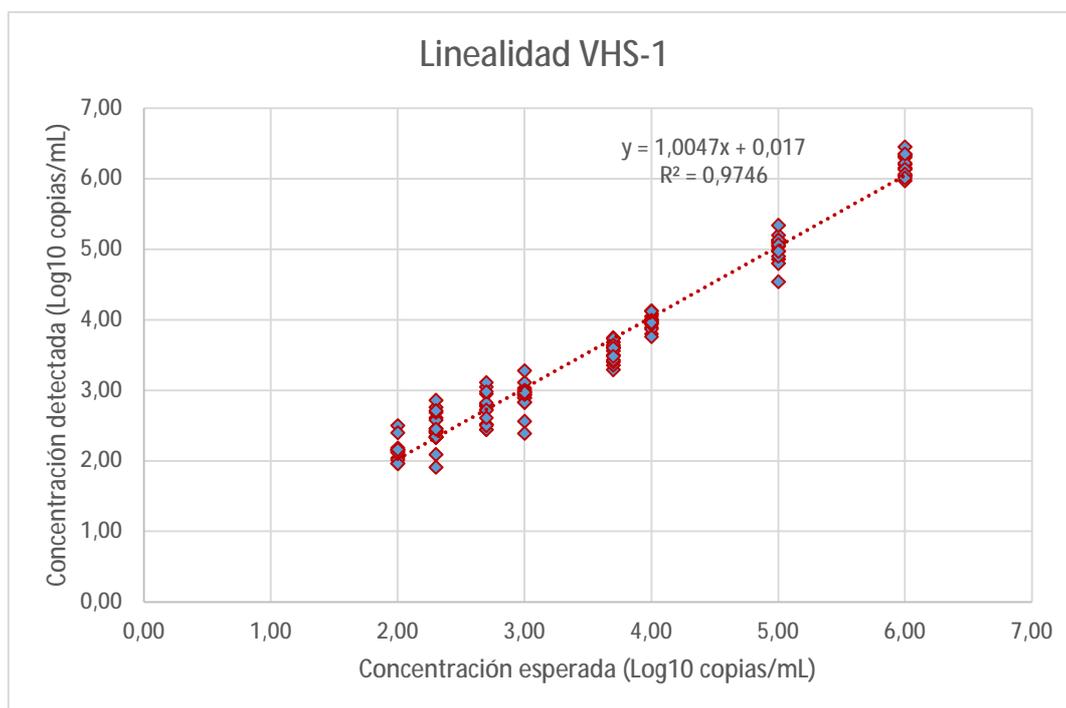


Figura 2: Linealidad del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay para el VHS-1

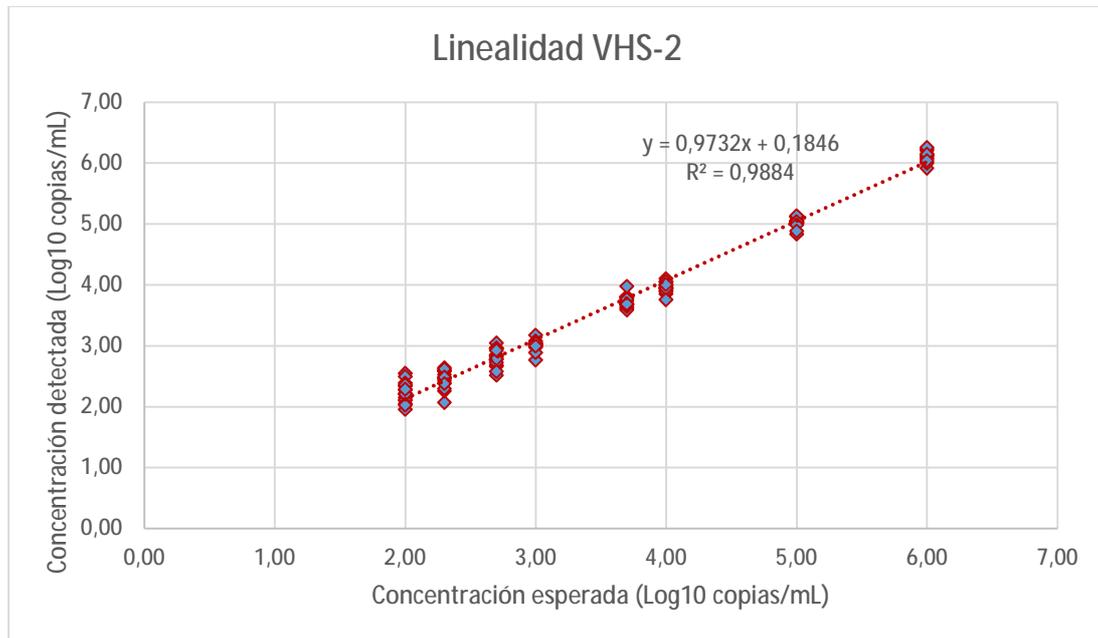


Figura 3: Linealidad del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay para el VHS-2

Especificidad Analítica – Reactividad Cruzada ^{11, 12}

La especificidad analítica se demostró mediante el examen de 22 organismos que se encuentran comúnmente en muestras de plasma, así como de especies filogenéticamente similares al VHS-1 y VHS-2 para determinar su reactividad cruzada. Los organismos se prepararon en grupos de entre 5 y 6 organismos y se probaron en una alta concentración. Los organismos analizados se muestran en la *Tabla 6*. No se observó ninguna reactividad cruzada con ninguno de los organismos ensayados, lo que confirma el 100% de especificidad analítica del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

Tabla 6: Patógenos utilizados para demostrar la especificidad analítica

Organismos no objetivo					
<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Virus de la Inmunodeficiencia Humana-1	Virus Hepatitis B	Adenovirus tipo 5	Virus de Epstein-Barr	Virus Varicela-Zoster	Enterovirus 68
Virus BK	Virus del herpes humano tipo 6	Virus del herpes humano tipo 8	Citomegalovirus	HHV-7	HTVL-1
HTVL-2	Virus JC	SV40	Virus de la Inmunodeficiencia Humana-2		

Especificidad analítica – Sustancias interferentes, organismos comensales ^{11, 12}

El NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay se evaluó para determinar si había interferencias en presencia de organismos no objetivo utilizando los mismos grupos de organismos preparados para las pruebas de reactividad cruzada que figuran en la *Tabla 7*. El plasma de VHS-1/VHS-2 negativo se enriqueció con los organismos agrupados en grupos de 4-7, y también se enriqueció con el VHS-1/VHS-2 objetivo a una concentración de 2.47 log₁₀ copias/mL (300 copias/mL). No se observó ninguna interferencia significativa en presencia de estos organismos comensales, como lo indica la mínima desviación de la cuantificación de las muestras de control que no contenían ningún agente de interferencia.

Especificidad Analítica – Sustancias interferentes, sustancias endógenas y exógenas ^{11, 12}

El NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay se evaluó en presencia de las típicas sustancias de interferencia exógena y endógena que se encuentran en el plasma clínico del VHS-1/VHS-2. Entre ellas se incluían niveles anormalmente altos de componentes de sangre, así como medicamentos antivirales comunes, que se clasifican en la *tabla 8*. Cada sustancia se añadió a un Basematrix 53 negativo para el VHS-1/VHS-2 examinado, enriquecido con 2.47 log₁₀ copias/mL (300 copias/mL) del VHS-1/VHS-2, y se analizaron las muestras para detectar interferencias.

En la *Tabla 9* se indica la concentración media y el sesgo de todas las sustancias analizadas en comparación con las muestras de control enriquecidas con el mismo nivel de VHS-1/VHS-2. Ninguna de las sustancias exógenas y endógenas afectó la especificidad del NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay.

Tabla 7: Pruebas de interferencia - Agentes exógenos (Clasificación de fármacos)

Grupo	Nombre del fármaco	Clasificación
Grupo 1	Valganciclovir	ANTIVIRAL
	Prednisona	INMUNOSUPRESOR
	Cidofovir	ANTIVIRAL
	Cefotaxima	ANTIBIÓTICO
	Mofetil micofenolato	INMUNOSUPRESOR
Grupo 2	Vancomicina	ANTIBIÓTICO
	Tacrolimus	INMUNOSUPRESOR
	Famotidina	ANTAGONISTA DE LA HISTAMINA
	Valacyclovir	ANTIVIRAL
	Leflunomida	INMUNOSUPRESOR

Tabla 8: Pruebas de interferencia - Agentes exógenos y endógenos

Endógeno (Plasma)	VHS-1		VHS-2	
	Concentración media	Sesgo	Concentración media	Sesgo
	log ₁₀ copias/mL	log ₁₀ copias/mL	log ₁₀ copias/mL	log ₁₀ copias/mL
Triglicéridos (500 mg/dL)	3.04	-0.19	2.51	0.07
Bilirrubina conjugada (0.25 g/L)	3.18	-0.18	2.72	0.15
Bilirrubina no conjugada (0.25 g/L)	3.62	-0.27	2.53	0.24
Albumina (58.7 g/L)	2.88	-0.14	1.99	0.01
Hemoglobina (2.9 g/L)	2.8	-0.07	2.69	-0.01
Exógeno (Fármaco)	Concentración media	Sesgo	Concentración media	Sesgo
	log ₁₀ copias/mL	log ₁₀ copias/mL	log ₁₀ copias/mL	log ₁₀ copias/mL
	Grupo 1: Valganciclovir, Prednisona, Cidofovir, Cefotaxima, Mofetil micofenolato	2.16	0.33	2.18
Grupo 2: Vancomicina, Tacrolimus, Famotidina, Valaciclovir, Leflunomida	2.53	0.32	2.44	0.56

Repetibilidad y precisión en el laboratorio¹⁵

La precisión de la NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip fue determinada probando 2 réplicas de un panel de 3 miembros de muestras de VHS-1/VHS-2 preparadas con plásmido de VHS-1 o VHS-2 dos veces al día, usando un NeuMoDx™ 96 System a lo largo de 20 días. Se caracterizaron las precisiones en un ciclo de análisis y en un día, y se determinó que la desviación estándar general era ≤ 0.30 log₁₀ copias/mL. Se demostró una excelente precisión entre días y ciclos como se muestra en la *Tabla 9*. No se caracterizó la precisión entre los operadores, ya que el operador no desempeña un papel significativo en el procesamiento de las muestras con el NeuMoDx™ System.

Tabla 9: Precisión en laboratorio – NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay en NeuMoDx™ System 96

Muestra	Repetibilidad DE (log ₁₀ copias/mL)	DE entre ciclos (log ₁₀ copias/mL)	DE en un día (log ₁₀ copias/mL)	Entre días (log ₁₀ copias/mL)	DE total (en el laboratorio) (log ₁₀ copias/mL)
VHS-1					
5.5 log ₁₀ copias/mL	0.18	0.00	0.18	0.10	0.20
4.5 log ₁₀ copias/mL	0.16	0.10	0.19	0.00	0.19
3.0 log ₁₀ copias/mL	0.19	0.09	0.21	0.10	0.23
VHS-2					
5.7 log ₁₀ copias/mL	0.14	0.05	0.15	0.07	0.16
4.7 log ₁₀ copias/mL	0.11	0.00	0.11	0.07	0.13
3.1 log ₁₀ copias/mL	0.16	0.13	0.20	0.00	0.20

Reproducibilidad de lote a lote ¹⁵

La reproducibilidad lote a lote de la NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip se determinó usando tres lotes diferentes de NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strips. Se utilizó un panel de 4 miembros de VHS-1 y VHS-2 preparado con el Panel de Verificación de VHS-1 (Diagnóstico exacto) o el Panel de Verificación de VHS-2 (Diagnóstico exacto) para evaluar el rendimiento en un NeuMoDx™ 96 Molecular System a través de 5 ciclos separados. Se analizó la variación dentro y a través de los lotes y los resultados se expresaron como desviación estándar entre lotes, que se presenta en la *Tabla 10*. La mayor desviación estándar máxima fue de 0.26 log₁₀ copias/mL. Se demostró un rendimiento equivalente en todos los lotes, ya que la desviación estándar de todos los miembros del panel estaba dentro de la especificación de tolerancia (Reproducibilidad DE ≤ 0.3 log₁₀ copias/mL).

Tabla 10: Reproducibilidad de lote a lote – NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Assay

Muestra	Repetibilidad DE (log ₁₀ copias/mL)	DE entre días (log ₁₀ copias/mL)	DE en un lote (log ₁₀ copias/mL)	DE entre lotes (log ₁₀ copias/mL)	Reproducibilidad DE (log ₁₀ copias/mL)
VHS-1					
1.26 x10 ⁵ copias/mL	0.12	0.22	0.25	0.00	0.25
1.26 x10 ⁴ copias/mL	0.16	0.19	0.25	0.00	0.25
300 copias/mL	0.18	0.17	0.25	0.00	0.25
VHS-2					
1.26 x10 ⁵ copias/mL	0.13	0.12	0.17	0.00	0.18
1.26 x10 ⁴ copias/mL	0.77	0.10	0.13	0.00	0.13
300 copias/mL	0.21	0.12	0.24	0.00	0.24

Reproducibilidad de instrumento a instrumento ¹⁵

La reproducibilidad de instrumento a instrumento de la NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip se determinó utilizando tres sistemas diferentes (un NeuMoDx™ 288 Molecular System y dos NeuMoDx™ 96 Molecular System). Se utilizó un panel de 4 miembros de VHS-1 y VHS-2 preparado con el Panel de Verificación de VHS-1 (Diagnóstico exacto) o el Panel de Verificación de VHS-2 (Diagnóstico exacto) para evaluar el rendimiento. Las pruebas se realizaron en los sistemas durante 5 días. Se caracterizó la variación dentro del día y entre los sistemas, y se determinó que la desviación estándar general era ≤ 0.30 log₁₀ copias/mL. Se demostró un rendimiento equivalente en todos los sistemas, ya que la DE en la cuantificación de todos los miembros del panel estaba dentro de la especificación de la tolerancia (Tabla 11).

Tabla 11: Reproducibilidad de instrumento a instrumento – NeuMoDx™ HSV 1/2 Quant Test Strip

Muestra	Repetibilidad DE (log10 copias/mL)	DE entre días (log10 copias/mL)	DE en un sistema (log10 copias/mL)	DE entre sistemas (log10 copias/mL)	Reproducibilidad DE (log10 copias/mL)
VHS-1					
1.26 x10 ⁵ copias/mL	0.25	0.04	0.26	0.13	0.29
1.26 x10 ⁴ copias/mL	0.26	0.08	0.28	0.07	0.28
300 copias/mL	0.19	0.08	0.21	0.08	0.23
VHS-2					
1.26 x10 ⁵ copias/mL	0.15	0.16	0.22	0.00	0.22
1.26 x10 ⁴ copias/mL	0.14	0.18	0.23	0.08	0.24
300 copias/mL	0.14	0.20	0.25	0.00	0.25

REFERENCIAS

- Rifai, N., Horvath, A.R., Wittwer, C.T., Tietz, N.W. (Eds.), 2018. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics, Sixth edition. ed. Elsevier, St. Louis, Missouri.
- Lee, D.H., Zuckerman, R.A., AST Infectious Diseases Community of Practice, 2019. Herpes simplex virus infections in solid organ transplantation: Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. Clin Transplant 33, e13526. <https://doi.org/10.1111/ctr.13526>
- Reid GE, Lynch JP 3rd, Weigt S, Sayah D, Belperio JA, Grim SA, Clark NM. Herpesvirus Respiratory Infections in Immunocompromised Patients: Epidemiology, Management, and Outcomes. Semin Respir Crit Care Med. 2016 Aug;37(4):603-30. doi: 10.1055/s-0036-1584793. Epub 2016 Aug 3. PMID: 27486740; PMCID: PMC7171758.
- Fernandez-Nieto D, Jimenez-Cauhe J, Ortega-Quijano D, Burgos-Blasco P, Pindado-Ortega C, Bea-Ardebol S. A case of atypical disseminated herpes simplex virus 1 with hepatitis in a liver transplant recipient: the need for dermatologic evaluation. Dermatol Online J. 2020 Feb 15;26(2):13030/qt3k90n5s9. PMID: 32239894.
- Rostamzadeh Khameneh Z, Sepehrvand N, Taghizadeh-Afshari A, Motazakker M, Ghafari A, Masudi S. Seroprevalence of herpes simplex virus-2 in kidney transplant recipients: a single-center experience. Iran J Kidney Dis. 2010 Apr;4(2):158-61. PMID: 20404429.
- Navarro E, Serrano-Heras G et al. 2015. Real-time PCR Detection Chemistry. Clin Chim Acta.15;439:231-50. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. Bloodborne Pathogens, <https://www.osha.gov/lawsregs/regulations/standardnumber/1910/1910.1030>
- US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington,DC: US Government Printing Office, January 2009.
- World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed.Geneva: World Health Organization, 2004.
- CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
- CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline—Second Edition CLSI Document MM13. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020
- CLSI. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases. Approved Guideline – Third Edition. CLSI document MM03. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015.
- CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document MM06-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2010.
- CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2012.
- CLSI. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline – First Edition. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2003.
- CLSI. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2014.
- CLSI. Metrological Traceability and Its Implementation; Approved Guideline – Second Edition. CLSI Report EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute: 2006.

MARCAS COMERCIALES

NeuMoDx™ es una marca comercial de NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® es una marca comercial registrada de Roche Molecular Systems, Inc.

Seracare® es una marca comercial registrada de Seracare Life Sciences, Inc.

Todos los demás nombres de productos, marcas comerciales y marcas comerciales registradas que puedan aparecer en este documento son propiedad de sus respectivos dueños

SÍMBOLOS

SÍMBOLO	SIGNIFICADO
	Sólo para uso con receta médica
	Fabricante
	Distribuidor
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>In vitro</i>
	Número de catálogo
	Código de lote
	Consulte las instrucciones de uso
	Precaución, consulte los documentos adjuntos
	Límite de temperatura
	Mantener seco
	No volver a usar
	No exponer a la luz
	Contiene suficiente para <n> pruebas
	Usar antes del



SENTINEL CH. S.p.A.
Via Robert Koch, 2
20152 Milán, Italia

www.sentinel diagnostics.com



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

+1 888 301 NMDX (6639)
Asistencia técnica: support.qiagen.com
Informe de vigilancia: support.qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents