



202500 NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip
FIGYELEM! Kizárólag az Egyesült Államokból történő exportra



A NeuMoDx™ 288 és NeuMoDx™ 96 Molecular System rendszerrel való *in vitro* diagnosztikai használatra

A csomaghoz mellékelt terméktájékoztatót figyelmesen el kell olvasni a termék használata előtt. A csomaghoz mellékelt terméktájékoztatónak megfelelően kell eljárni.



Az assay csomaghoz mellékelt terméktájékoztatójától való bármilyen eltérés esetén nem garantálhatók megbízható eredmények.

Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx™ 288 Molecular System kezelői kézikönyvét (cikkszám: 40600108)

Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx™ 96 Molecular System kezelői kézikönyvét (cikkszám: 40600317)



ALKALMAZÁSI TERÜLET

A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay egy automatizált, *in vitro* nukleinsav-amplifikációs teszt a humán béta-herpeszvírus 6A (HHV-6A) és/vagy humán béta-herpeszvírus 6B (HHV-6B) DNS-ének differenciálásához és mennyiségi meghatározásához transzplantáción átesett, immunkomprimált betegektől származó EDTA-s plazmában^{1,2}.

A NeuMoDx™ 288 Molecular System és a NeuMoDx™ 96 Molecular System készülékeken használt NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay részét képezi a célnukleinsavak mintától történő izolálására szolgáló automatikus DNS-extrakció, valamint a HHV-6A és HHV-6B genomban található két, erősen konzervált régiót megcélzó valós idejű PCR.

Az assay EDTA-s plazmában a HHV-6A és/vagy HHV-6B DNS-szintek monitorozásához ad segítséget. Ezt az assay-t a klinikai képpel és a betegségprogresszió más laboratóriumi markereivel együtt kell értékelni a HHV-6A és/vagy HHV-6B fertőzés klinikai kezeléséhez és monitorozásához.

A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay nem használható a HHV-6A és/vagy HHV-6B DNS vérben vagy vérkészítményekben való jelenlétének szűrésére.

A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay tesztet olyan szakképzett klinikai laboratóriumi személyzet használhatja, aki speciális képzéssel és gyakorlattal rendelkezik a valós idejű PCR-technikák és az *in vitro* diagnosztikai eljárások és/vagy a NeuMoDx™ Molecular System készülékek használatának terén. A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay nem használható öntesztelésre, és nem alkalmazható betegség mellett.

ÖSSZEFOGLALÁS ÉS MAGYARÁZAT

A plazma előkészítéséhez antikoagulánsként EDTA-t tartalmazó steril vérvételi csövekbe vagy plazmaelőkészítő csövekbe (Plasma Preparation Tube, PPT) gyűjtött humán teljes vér használható. A vizsgálat előkészítéséhez a NeuMoDx™ System készülékkel elsődleges vagy másodlagos kompatibilis mintacsöbben lévő plazmát be kell tölteni a NeuMoDx™ System készülékbe egy erre a célra szolgáló mintacsőtartóban az automatizált feldolgozás elkezdéséhez.

A plazmaminta egy 550 µl-es alikvotját össze kell keverni a NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 lízispufferrel, majd a NeuMoDx™ System készülék automatikusan elvégzi a célnukleinsavak extrakciójához szükséges valamennyi lépést, előkészíti az izolált DNS-t a valós idejű PCR-amplifikációra, és ha jelen vannak, amplifikálja és detektálja az amplifikációs termékeket. A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay tartalmaz egy DNS mintafeldolgozási kontrollt (Sample Process Control, SPC1), amely lehetővé teszi a potenciális gátló anyagok jelenlétének, valamint a NeuMoDx™ System rendszerrel vagy reagensekkel kapcsolatos, az extrakciós és amplifikációs folyamatok során esetleg felmerülő hibáknak a monitorozását.

A humán herpeszvírus 6 (HHV-6) a béta-herpeszvírusok alcsaládjába tartozik, melyet két eltérő faj, a HHV-6A és a HHV-6B alkot². Ez egy olyan DNS-vírus, mely a központi idegrendszer szöveteit, a mandulákat, a nyálmirigyeket, a vesét, a májat, a nyirokcsomókat, az endoteliális sejteket és a monocitákat/makrofágokat rezessíti előnyben⁴. A HHV-6 fertőzés elsődleges tünete az exanthea subitum (roseola infantum vagy háromnapos láz)^{1,2,3,4}. A betegség szinte kizárólag kisgyerekeket érint, és ez teszi ki a sürgősségi ellátásra kerülő, 2 évesnél fiatalabb gyerekek 10–30%-át¹. Mint minden más herpeszvírus, a kezdeti fertőzést követően a HHV-6 is élethosszig lappanghat többek közt a haemopoetikus őssejtekben és a csírasejtekben, ami mind a vertikális, mind a horizontális átvitel lehetővé teszi². Ezt a jelenséget az általános populáció 0,2–1%-ában írták le⁴. Immunkomprimált személyekben a látens vírus reaktiválódva súlyos megbetegedést, többek között vírusos tüdőgyulladást, központi idegrendszeri betegséget, valamint késleltetett csontvelő-átültetési és graft versus host (Graft Versus Host Disease, GVHD) betegséget okozhat. A HHV-6 reaktiválódásának incidenciája körülbelül 0% és 80% között mozog (átlagosan 30–50%) a szolid szervtranszplantáción (Solid Organ Transplant, SOT) vagy csontvelő-transzplantáción (Bone Marrow Transplant, BMT) átesett betegekben, a BMT valamivel nagyobb arányával¹. A HHV-6B-vel ellentétben a HHV-6A reaktiválódását ritkán tapasztalják az átültetés után. A HHV-6B reaktiválódása az érintettek közel 40%-ában előfordul az első néhány hónapban. A haemopoetikus sejttranszplantáció (Haematopoietic Cell Transplant, HCT) után ez az encephalitis leggyakoribb fertőzések oka (az esetek 1%-a). A HHV-6B okozta encephalitisben érintett betegek plazmájában a betegséggel egyidejűleg rendszerint $\geq 10\,000$ kópia/ml³ HHV-6B vírusszám mérhető.

AZ ELJÁRÁS ELVE

A NeuMoDx™ System készüléken elvégzett NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay a következőket használja az elemzés elvégzéséhez: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators, NeuMoDx™ HHV-6 External Controls, NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 és NeuMoDx™ általános felhasználású reagensek. A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay az automatikus DNS-extrakciót és a valós idejű PCR segítségével történő amplifikációt és detektálást kombinálja. A NeuMoDx™ System készülékkel kompatibilis elsődleges vagy másodlagos mintacsövekben lévő plazmamintákat mintacsőtartóba kell helyezni, amelyet aztán be kell tölteni a NeuMoDx™ System készülékbe a feldolgozáshoz. További kezelői beavatkozásra nincs szükség.

A NeuMoDx™ System készülékek hő, lítikus enzim és extrakciós reagensek kombinálásával automatikusan végzik a sejtízist, a DNS-extrakciót és az inhibitorok eltávolítását. A felszabaduló nukleinsavakat mágneses affinitású mikrogömbök fogják be. A mikrogömbök a hozzájuk kötődő nukleinsavakkal együtt betöltésre kerülnek a NeuMoDx™ Cartridge kazettába, ahol a NeuMoDx™ Wash Reagent kimossa a nem kötődő, nem DNS-összetevőket, a NeuMoDx™ Release Reagent pedig eluálja a kötött DNS-t. A NeuMoDx™ Systems rendszer ezután az eluált DNS segítségével rehidratálja a szabadalmaztatott, fagyasztással szárított SENTINEL CH. S.p.A. amplifikációs reagenseket, amelyek a HHV-6 specifikus és az SPC1-célszekvenciák PCR-amplifikációjához szükséges összes elemet tartalmazzák. A liofilizált PCR-reagensek rekonstitúciója után a NeuMoDx™ System kiadagolja az elkészített, PCR-hez szükséges, használatra kész keveréket a NeuMoDx™ Cartridge kazettába. A kontroll és a cél DNS-szekvenciák (ha jelen vannak) amplifikációja és detektálása a NeuMoDx™ Cartridge kazetta PCR-kamrájának területén történik. Kialakítása révén a valós idejű PCR-t követően a NeuMoDx™ Cartridge kazetta tartalmazza az amplikont, ezáltal lényegében kiküszöbölhető az amplifikáció utáni kontamináció kockázata.

A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip genomi célszekvenciái a HHV-6A és HHV-6B vírusgenom U31 és U67 génei. Ezeknek az amplifikált célszekvenciáknak a detektálása valós időben, hidrolízispróba (általánosan használt elnevezése TaqMan® próba) segítségével történik, ahol a megfelelő célszekvenciákat tekintve az amplikonokra specifikus fluorogén oligonukleotid próbamolekulákat használnak. A TaqMan® próbák egy, az oligonukleotid próba 5' végéhez kovalens kötéssel kötődő fluorofór és a 3' végen egy quencher molekulát tartalmaznak. Amíg a próba ép, a fluorofór és a quencher molekula egymáshoz közel helyezkednek el, ami azt eredményezi, hogy a quencher molekula FRET (Förster Resonance Energy Transfer, Förster-féle rezonáns energiaátadás) révén kialszítja a fluorofór által kibocsátott fluoreszcenciát. Kialakításuk révén a TaqMan® próbák feltapadnak a primerek specifikus csoportja által amplifikált DNS-régióin belül. Amint a Taq DNS-polimeráz meghosszabbítja a primert és szintetizálja az új szálát, a Taq DNS-polimeráz 5'–3' exonukleáz aktivitása lebontja a templátra feltapadt próbát. A próba lebomlásakor a fluorofór felszabadul és távolabb kerül a quencher-től, így a FRET (Förster Resonance Energy Transfer, Förster-féle rezonáns energiaátadás) révén leküzdödi a kioltó hatást és lehetővé teszi a fluorofór fluoreszcenciás detektálását. A NeuMoDx™ System kvantitatív PCR-készülékben detektált fluoreszcens jel egyenesen arányos a felszabadult fluorofórral, és összefügg a jelen lévő cél DNS mennyiségével⁵.

A HHV-6A DNS, a HHV-6B DNS és az SPC1 DNS detektálásához az 5' végen fluorofórokkal, a 3' végen pedig quencher molekulákkal megjelölt TaqMan® próbákat használnak. A NeuMoDx™ System szoftvere monitorozza a TaqMan® próbák által az egyes amplifikációs ciklusok végén kibocsátott fluoreszcens jeleket. Az amplifikáció befejeztével a NeuMoDx™ System szoftvere elemzi az adatokat és eredményt ad (POSITIVE [Pozitív] / NEGATIVE [Negatív] / INDETERMINATE [Nem eldönthető] / UNRESOLVED [Megoldatlan] / NO RESULT [Nincs eredmény]). Ha az eredmény pozitív és a kiszámított koncentráció a mennyiségi meghatározás határain belül van, a NeuMoDx™ System szoftvere kvantitatív értéket is megad a mintához, vagy jelenti, ha a kiszámított koncentráció a lineáris tartományon kívül esik.

REAGENSEK/FOGYÓESZKÖZÖK

Szállított anyagok

REF	Tartalom	Teszt/egység	Teszt/csomag
202500	NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip <i>HHV-6A-ra specifikus TaqMan® próbákat és primereket, HHV-6B-re specifikus TaqMan® próbákat és primereket, valamint SPC1-re specifikus TaqMan® próbákat és primereket tartalmazó, fagyasztva szárított PCR-reagensek.</i>	16	96

Szükséges, de nem biztosított reagensek és fogyóeszközök (külön kaphatók a NeuMoDx vállalattól)

REF	Tartalom
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Szártított paramágneses részecskék, lítikus enzim és mintafeldolgozási kontrollok.</i>
801000	NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators <i>A standard görbék meghatározására szolgáló, magas és alacsony koncentrációjú HHV-6A és HHV-6B szárított kalibrátorokat tartalmazó, egyszer használatos készletek.</i>
901000	NeuMoDx™ HHV-6 External Controls <i>HHV-6A és HHV-6B pozitív és negatív szárított kontrollból álló, egyszer használatos készletek a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay napi érvényességének megállapításához</i>
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Szűrővel ellátott Hamilton CO-RE hegyek (300 µl)
235905	Szűrővel ellátott Hamilton CO-RE hegyek (1000 µl)

A reagensek és fogyóeszközök részleteivel kapcsolatban lásd a megfelelő tájékoztatót

Szükséges készülékek

NeuMoDx™ 288 Molecular System (REF 500100) vagy NeuMoDx™ 96 Molecular System (REF 500200).
NeuMoDx System szoftver, 1.9.2.6-os vagy újabb verzió.

FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

- A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip kizárólag a NeuMoDx™ System készülékekkel használható in vitro diagnosztikai célra.
- A teszt elvégzése előtt olvassa el a kithoz mellékelt tájékoztatóban szereplő összes utasítást.
- A reagensek és a fogyóeszközök a címkén feltüntetett lejárati időn túl nem használhatók.
- Ha sérült a biztonsági plomba, vagy az átvételkor a csomagoláson sérülések láthatók, ne használja a reagenseket.
- Tilos a fogyóeszközöket vagy a reagenseket felhasználni, ha a védőtasak felbontott állapotban van vagy sérült érzéskor.
- Ne keverje össze más kereskedelmi forgalomban elérhető készletekből származó amplifikációs reagensekkel.
- Ne használja újra.
- A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips tesztcsíkokat tartsa alumínium csomagolásukban, fénytől és nedvességtől védett helyen.
- Klinikai minták teszteredményeinek generálásához rendelkezni kell érvényes, a NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators (REF 801000) készletekből származó magas és alacsony koncentrációjú kalibrátorok feldolgozásával generált tesztkalibrálással.
- A NeuMoDx™ HHV-6 External Controls (REF 901000) külső kontrollokat 24 óránként fel kell dolgozni, a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip tesztcsíkokkal történő vizsgálatok alatt mindvégig.
- A minimális mintatérfogot a cső méretétől, a mintatartótól és a mintatérfogattól függ, az alábbiak szerint. Az előírt minimumnál kisebb mennyiségek „Quantity Not Sufficient” (Nem elegendő mennyiség) hibát eredményezhetnek.
- A nem megfelelő hőmérsékleten vagy a megadott tárolási időn túl tárolt minták használata érvénytelen vagy hibás eredményeket adhat.
- Ügyeljen arra, hogy egyik reagensbe és fogyóeszközre se kerüljön mikrobiális vagy dezoxiribonukleáz (Dnáz) szennyeződés. Steril, DNázmentes, egyszer használatos transzferpipetták használata ajánlott másodlagos mintacsövek használata esetén. Minden egyes mintához használjon új pipettát.
- A kontamináció elkerülése érdekében amplifikáció után ne manipulálja és ne bontsa fel a NeuMoDx™ Cartridge kazettákat. Semmilyen körülmények között se vegye ki a NeuMoDx™ Cartridge kazettákat a biológia veszélyt jelentő hulladékok tartályából (NeuMoDx™ 288 Molecular System) vagy a biológiai veszélyt jelentő hulladékok tárolójából (NeuMoDx™ 96 Molecular System). A NeuMoDx™ Cartridge úgy lett kialakítva, hogy megakadályozza a szennyeződést.
- Olyan esetekben, amikor a laboratórium nyitott csöves PCR-teszteket is végez, különös figyelmet kell arra fordítani, hogy a teszthez szükséges NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, a további fogyóeszközök és reagensek, az egyéni védőfelszerelés (pl. kesztyű és laboratóriumi köpeny), valamint a NeuMoDx™ System ne szennyeződjenek.
- NeuMoDx™ reagensek és fogyóeszközök kezelésekor tiszta, púdermentes nitril védőkesztyűt kell használni. Ügyeljen arra, hogy ne érintse meg a NeuMoDx™ Cartridge felső felületét, a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip vagy a NeuMoDx™ Extraction Plate záró fóliájának felületét vagy a NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 puffert tartalmazó edény felső felületét. A fogyóeszközök és reagensek manipulálása során csak az oldalfelületeket szabad megérinteni.
- Minden reagenshez a www.neumodx.com/client-resources weboldalon biztosítunk (szükség szerint) biztonsági adatlapot (Safety Data Sheet, SDS).
- A szöveg szélén található függőleges sáv az előző tájékoztatóhoz képest mutatja a módosításokat.
- A teszt végrehajtását követően alaposan mosson kezét.
- Tilos szájjal pipettázni. Tilos enni, inni, dohányozni az olyan területeken, ahol mintákat vagy reagenseket kezelnek.
- A mintákat mindig potenciálisan fertőző anyagként, biztonságos, például a vér útján terjedő kórokozókra vonatkozó OSHA szabvány szerinti dokumentumban leírt laboratóriumi eljárásoknak megfelelően kell kezelni⁶. A fertőző ágenseket tartalmazó vagy feltehetően tartalmazó anyagokkal a 2. biológiai biztonsági szintnek⁷ megfelelően vagy egyéb megfelelő biológiai biztonsági gyakorlat^{8,9} szerint kell eljárni.
- A nem használt reagenseket és a hulladékokat az országos, szövetségi, tartományi, állami és helyi jogszabályok szerint kell ártalmatlanítani. Kövesse a biztonsági adatlapon (Safety Data Sheet, SDS) található ajánlásokat.

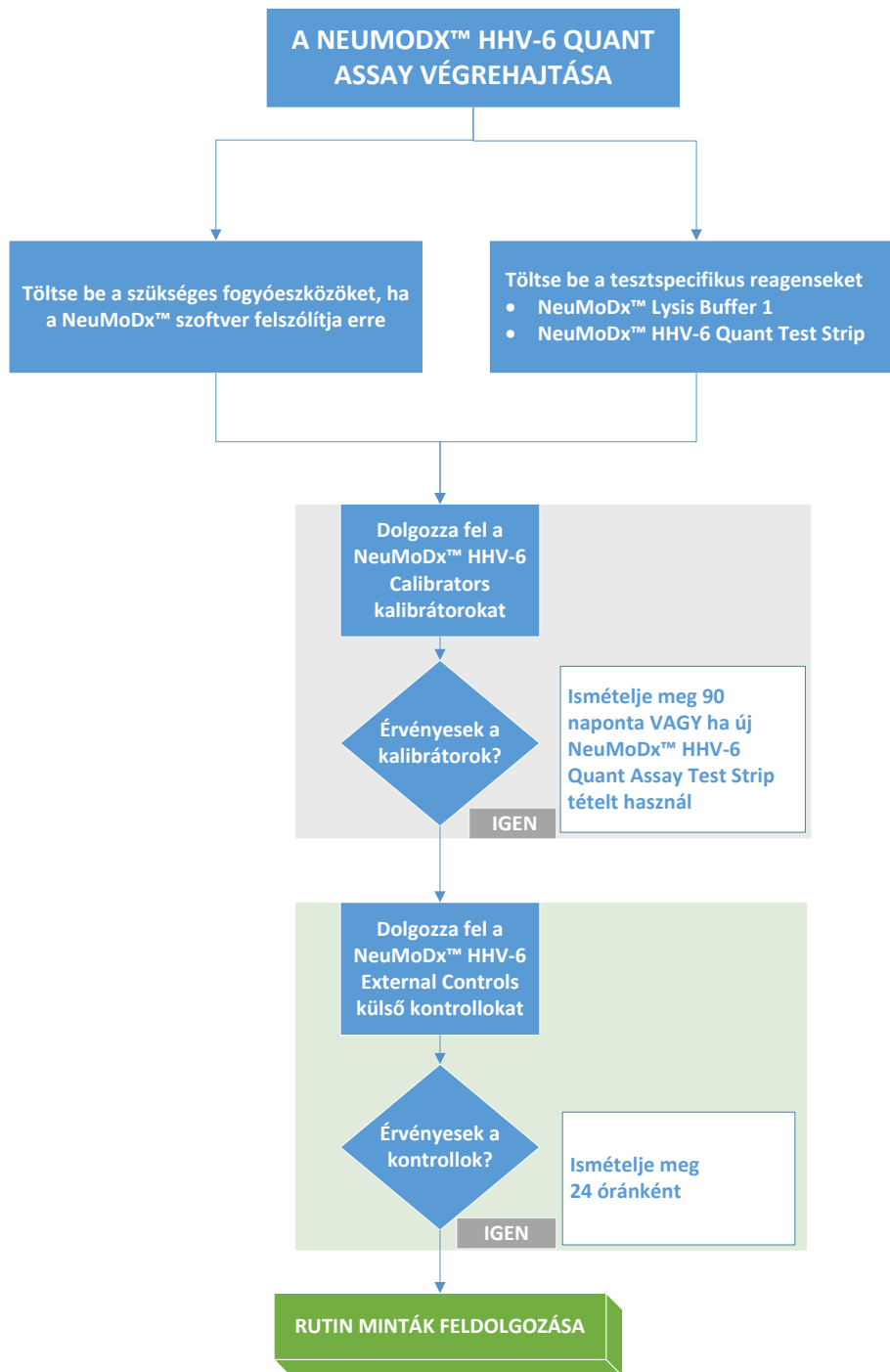
A TERMÉK TÁROLÁSA, KEZELÉSE ÉS STABILITÁSA

- A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips tesztcsíkok elsődleges csomagolásukban +15 °C/+30 °C között tárolva, a termék közvetlen címkéjén feltüntetett lejárati ideig stabilak.
- A NeuMoDx™ System készülékbe betöltött NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip tesztcsík 32 napig stabil. A NeuMoDx™ System szoftvere felszólítja a felhasználót, hogy távolítsa el a több mint 32 napja a NeuMoDx™ System készülékben használatban lévő tesztcsíkokat. Ezt követően új NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips tesztcsíkokat kell felbontani (kivenni a csíkokat a tasakból) és betölteni a NeuMoDx™ System készülékbe. Ne távolítsa el az alumíniumfóliát a csíkról a tesztcsíktartóba történő betöltés során.
- A NeuMoDx™ HHV-6 kalibrátorok és kontrollok nem fertőzőek, de használat után a laboratórium biológiai veszélyt jelentő hulladékainak tartályába kell kidobni őket, mivel célanyagot fognak tartalmazni, ami nem megfelelő kezelés esetén kontaminációt okozhat.

MINTAGYŰJTÉS, -SZÁLLÍTÁS ÉS -TÁROLÁS

1. Minden mintát potenciális fertőzésforrásként kell kezelni.
2. Az elsődleges csövekben tárolt teljesvér- vagy plazmamintákat tilos lefagyasztani.
3. Plazmaminták készítéséhez a teljes vért antikoagulánsként EDTA-t tartalmazó steril csövekbe kell venni. Kövesse a mintagyűjtő cső gyártójának utasításait.
4. A fent felsorolt eszközökbe gyűjtött teljes vért legfeljebb 24 órán át, +2 °C/+8 °C-on szabad tárolni és/vagy szállítani a plazma előkészítése előtt. A minta-előkészítést a gyártó utasításainak megfelelően kell végezni.
5. Az előkészített plazmamintákat a feldolgozás előtt legfeljebb 24 órán át tárolhatják a NeuMoDx™ System készülékben. Ha ennél hosszabb tárolási időre van szükség, javasolt a mintákat másodlagos alikvotok formájában lehűteni vagy lefagyasztani.
6. Az előkészített plazmaminták vizsgálat előtt +2 °C/+8 °C-on legfeljebb 8 napig, szobahőmérsékleten pedig legfeljebb 24 órán át tárolhatók.
7. Az előkészített minták < -20 °C-on legfeljebb 8 hétig tárolhatók feldolgozás előtt. A mintákat nem szabad alávetni több mint 2 fagyasztási/kiolvasztási ciklusnak felhasználás előtt:
 - a. Ha a mintákat lefagyasztották, a tesztelés előtt hagyja, hogy szobahőmérsékleten (+15 °C/+30 °C-on) teljesen kiolvadjanak. Ezt követően keverje meg a mintákat vortex keverővel az egyenletes eloszlás érdekében.
 - b. A lefagyasztott minták kiolvasztása után a tesztet 24 órán belül el kell végezni.
8. Szállítás esetén a mintákat a vonatkozó országos és/vagy nemzetközi szabályozásoknak megfelelően kell becsomagolni és felcímkézni.
9. Lásza el a mintákat egyértelmű címkefelirattal, megjelölve azt, hogy HHV-6A és/vagy HHV-6B vizsgálatára szolgálnak.
10. Lépjen tovább „A teszt előkészítése” című részhez.

A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay végrehajtásának általános folyamatát az 1. ábrán foglaltuk össze.



1. ábra: A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay teszt végrehajtásának munkafolyamata.

HASZNÁLATI ÚTMUTATÓ

A teszt előkészítése

Plazmaminták esetében a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay közvetlenül az elsődleges vérvételi csövekből vagy másodlagos csövekben lévő mintaalkotokból futtatható.

1. Ragasszon fel egy vonalkódcímkét a NeuMoDx™ System készülékkel kompatibilis mintacsőre. Az elsődleges vérvételi cső felcímkézhető, és centrifugálást követően közvetlenül behelyezhető egy megfelelő mintacsőtartóba, a gyártó utasításainak megfelelően.
2. Ha a plazmamintát az elsődleges gyűjtőcsőben teszteli, helyezze a vonalkódcímkével ellátott csövet egy mintacsőtartóba, ügyelve arra, hogy eltávolítsa a kupakot a NeuMoDx™ System készülékbe történő behelyezés előtt. A gél/középső réteg **fölötti** minimális térfogatok az alábbiakban vannak megadva. Elérésükhöz a mintákat a cső gyártójának utasításai szerint kell gyűjteni és feldolgozni. A teljesítmény nem garantálható nem megfelelően gyűjtött minták esetén.
3. Ha plazmaminták esetében másodlagos csövet használ, adagoljon egy mintaalkotot a NeuMoDx™ System készülékkel kompatibilis vonalkódos mintacsőbe, az alábbiakban megadott térfogatok szerint:

Mintacsőtartó	Csőméret	Minimálisan szükséges mintatérfogat
32 csöves mintacsőtartó	11–14 mm átmérőjű, 60–120 mm magas	750 µl
24 csöves mintacsőtartó	14,5–18 mm átmérőjű, 60–120 mm magas	1100 µl
Kis térfogatú mintacsőtartó	1,5 ml-es, kúpos aljú mikrocentrifuga-cső	650 µl

A NeuMoDx™ System használata

Részletes útmutatásért olvassa el a NeuMoDx™ 288, illetve 96 Molecular System kezelői kézikönyvét (cikkszám: 40600108 és 40600317)

1. Töltse be a tesztkerést a NeuMoDx™ System készülékbe a kívánt mintatípus alapján.
2. Vágja fel a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip alumíniumtasakjait az oldalsó, bemetszésekkel jelölt ponton.
3. A csíkokat közvetlenül használat előtt vegye ki a tasakból.
4. A tasak használata előtt mindig győződjön meg arról, hogy szorosan le van zárva és a szárítótasak még benne van. Kizárólag sértetlen tasakok használjon fel.
5. Dobja ki az alumíniumtasakokat és tartalmukat, ha a szárítótasak színe narancssárgáról zöldre vált.
6. Töltsön fel egy vagy több NeuMoDx™ System Test Strip Carrier tartót NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip tesztcsík(ok)kal, és az érintőképernyő segítségével töltsse be a Test Strip Carrier tartó(ka)t a NeuMoDx™ System készülékbe.
7. Amikor a NeuMoDx™ System szoftvere felszólítja erre, helyezze be a szükséges fogyóeszközöket a NeuMoDx™ System fogyóeszköztartójába, és az érintőképernyő segítségével töltsse be a tartó(ka)t a NeuMoDx™ System készülékbe.
8. Ha a NeuMoDx™ System szoftvere felszólítja erre, szükség szerint cserélje ki a NeuMoDx™ Wash Reagent, illetve NeuMoDx™ Release Reagent reagenseket, ürítse ki a feltöltési hulladékot, a biológia veszélyt jelentő hulladékok tartályát (csak a NeuMoDx 288 Molecular System esetében), a hegyek hulladékátrolóját (csak a NeuMoDx™ 96 Molecular System esetében) vagy a biológiai veszélyt jelentő hulladékok tárolóját (csak a NeuMoDx™ 96 Molecular System esetében).
9. Ha a NeuMoDx™ System szoftvere felszólítja erre, dolgozza fel szükség szerint a kalibrátorokat (REF 801000) és/vagy külső kontrollokat (REF 901000). A kalibrátorokkal és kontrollokkal kapcsolatos további információk „Az eredmények feldolgozása” című részben található.
10. Helyezze be a kalibrátor-/kontrollcsöve(ke)t egy standard 32 csöves tartóba és ügyeljen arra, hogy minden csőről eltávolítsa a kupakot.
11. Helyezze a mintacsőtartó(ka)t az automatikus betöltőpolcra, ügyelve arra, hogy minden csőről eltávolítsa a kupakot, majd az érintőképernyő segítségével töltsse be a tartó(ka)t a NeuMoDx™ System készülékbe. Ez elindítja az azonosított teszt(ek)re vonatkozó betöltött minták feldolgozását, amennyiben a rendszerben jelen van érvényes tesztkerés.

KORLÁTOZÁSOK

- A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip csak a NeuMoDx™ System készülékeken használható.
- A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip teljesítményét antikoagulánsként EDTA-t tartalmazó, csövekbe vett teljes vérből készített plazmamintákkal határozták meg. A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip más mintatípusokkal való használatát nem vizsgálták és más mintatípusok esetén a teljesítményjellemzők nem ismertek.
- A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay tesztet tilos heparinnal kezelt betegektől származó mintákkal együtt használni.
- Mivel a HHV-6A és/vagy HHV-6B DNS detektálása függ a mintában jelen lévő mikroorganizmusok számától, az eredmények megbízhatósága a megfelelő mintagyűjtéstől, -kezeléstől és -tárolástól függ.
- A minta nem megfelelő gyűjtése, kezelése és tárolása, a technikai hibák és a mintacsövek felcserélése hibás eredményekhez vezethet. Ezenkívül álnegatív eredményeket kaphat, ha a vírusrészecskék a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay detektálási határértéke alatti számban vannak jelen a mintában.
- A NeuMoDx™ System rendszert kizárólag a NeuMoDx™ System használatával kapcsolatos képzésben részesült személyek működtethetik.
- Ha a HHV-6A, a HHV-6B és az SPC1 célszekvenciák nem amplifikálódnak, akkor a rendszer érvénytelen eredményt ad (Indeterminate [Nem eldönthető] vagy Unresolved [Nem meghatározható]), és a tesztet meg kell ismételni.
- Ha a mintafeldolgozás befejezése előtt rendszerhiba következik be, a készülék „No Result” (Nincs eredmény) jelölést ad, és a tesztet meg kell ismételni.
- Ha a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay eredménye Positive (pozitív), de a mennyiségi meghatározási érték a mennyiségi meghatározás határain kívül esik, a NeuMoDx™ System jelenteni fogja, hogy a detektált HHV-6A és/vagy HHV-6B DNS a mennyiségi meghatározás alsó határa (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) alatti vagy a mennyiségi meghatározás felső határa (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) feletti értékű volt.
- Ha a detektált HHV-6A és/vagy HHV-6B DNS a mennyiségi meghatározás felső határa (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) fölötti értékű volt, a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay megismételhető az eredeti minta egy hígított alikotijával. HHV-6A és HHV-6B DNS-negatív plazmában vagy Basematrix 53 Diluent (Basematrix)(SeraCare, Milford, MA) oldószerben végzett 1:100 vagy 1:1000 arányú hígítás javasolt. A rendszer automatikusan kiszámolja az eredeti minta koncentrációját az alábbiak szerint: Az eredeti mintakonzentráció = \log_{10} (hígítási tényező) + a hígított minta jelentett koncentrációja, amennyiben a hígítási tényezőt megfelelően választották ki a szoftverben az ismétlés előtt.
- A PCR-gátló anyagok esetleges jelenléte a plazmában a rendszer mennyiségi meghatározási hibájához vezethet. A tesztet javasolt megismételni Basematrix oldószerben 1:10 vagy 1:100 arányban hígított azonos mintával.
- A pozitív eredmény nem feltétlenül jelenti életképes mikroorganizmusok jelenlétét. Azonban a pozitív eredmény HHV-6A és/vagy HHV-6B DNS jelenlétére utal.
- A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay által megcélzott konzervált régiókban létrejött deléció vagy mutációk befolyásolhatják a detektálást, vagy hibás eredményeket adhatnak a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip használatakor.
- A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay eredményeit a klinikai megfigyelések és az orvos számára rendelkezésre álló egyéb információk kiegészítéseként kell felhasználni. A teszt nem alkalmas fertőzés diagnosztizálására.
- A szennyeződés elkerülése érdekében javasolt a helyes laboratóriumi gyakorlat alkalmazása, ilyen például az egyes betegminták kezelése közötti védőkesztyűcseré.

AZ EREDMÉNYEK FELDOLGOZÁSA

A rendelkezésre álló eredmények megtekinthetők a NeuMoDx™ System érintőképernyőjén, a Results (Eredmények) ablak „Results” (Eredmények) lapján, ahonnan ki is nyomtathatók. A NeuMoDx™ System szoftvere a döntési algoritmus és a NeuMoDx™ HHV-6 assay-definíciós fájlban (HHV-6 Assay Definition File, HHV-6 ADF) megadott eredményfeldolgozási paraméterek segítségével automatikusan generálja a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay eredményeit. A célszekvencia és a mintafeldolgozási kontroll amplifikációs státusza alapján a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay eredménye lehet Negative (Negatív), Positive (Pozitív) a HHV-6A- és/vagy HHV-6B-koncentráció megadásával, Positive above ULoQ (Felső mennyiségi meghatározási határ feletti pozitív), Positive below LLoQ (Alsó mennyiségi meghatározási határ alatti negatív), Indeterminate (IND) (Nem eldönthető), Unresolved (UNR) (Megoldatlan) vagy No Result (NR) (Nincs eredmény). Az eredményeket az alábbi 1. táblázatban összefoglalt ADF eredményfeldolgozó algoritmus alapján jelentik.

A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip tesztcsíkok eredményeit más klinikai és laboratóriumi eredményekkel együtt kell kiértékelni.

1. táblázat: A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay eredmények értelmezésének összefoglalása

Eredmény	HHV-6A/HHV-6B	Mintafeldolgozási kontroll (Sample Process Control, SPC1)	Eredmények értelmezése
Positive (Pozitív) a koncentráció megadásával	Amplified (Amplifikált) $2,30 \leq [\text{HHV-6A}] \leq 6,0 \log_{10}$ kópia/ml	Amplified (Amplifikált) vagy Not Amplified (Nem amplifikált)	A mennyiségi meghatározási tartományon belül detektált HHV-6A DNS
	Amplified (Amplifikált) $2,30 \leq [\text{HHV-6B}] \leq 6,0 \log_{10}$ NE/ml	Amplified (Amplifikált) vagy Not Amplified (Nem amplifikált)	A mennyiségi meghatározási tartományon belül detektált HHV-6B DNS
Positive (Pozitív), a mennyiségi meghatározás felső határa [Upper Limit of Quantitation, ULOQ] fölött	Amplified (Amplifikált) $[\text{HHV-6A}] > 6,0 \log_{10}$ kópia/ml	Amplified (Amplifikált) vagy Not Amplified (Nem amplifikált)	A mennyiségi meghatározási tartomány felett detektált HHV-6A DNS
	Amplified (Amplifikált) $[\text{HHV-6B}] > 6,0 \log_{10}$ NE/ml	Amplified (Amplifikált) vagy Not Amplified (Nem amplifikált)	A mennyiségi meghatározási tartomány felett detektált HHV-6B DNS
Positive (Pozitív), a mennyiségi meghatározás alsó határa [Lower Limit of Quantitation, LLOQ] alatt	Amplified (Amplifikált) $[\text{HHV-6A}] < 2,30 \log_{10}$ kópia/ml	Amplified (Amplifikált) vagy Not Amplified (Nem amplifikált)	A mennyiségi meghatározási tartomány alatt detektált HHV-6A DNS
	Amplified (Amplifikált) $[\text{HHV-6B}] < 2,30 \log_{10}$ NE/ml	Amplified (Amplifikált) vagy Not Amplified (Nem amplifikált)	A mennyiségi meghatározási tartomány alatt detektált HHV-6B DNS
Negative (Negatív)*	Not Amplified (Nem amplifikált)	Amplified (Amplifikált)	Nem detektált HHV-6A/HHV-6B DNS
Indeterminate (Nem eldönthető)	Not Amplified (Nem amplifikált), System Error Detected (Rendszerhiba detektálva), Sample Processing Completed (Minta feldolgozása befejezve)		Az összes célszekvencia-eredmény érvénytelen volt; a mintát újra kell tesztelni†
No Result (Nincs eredmény)	Not Amplified (Nem amplifikált), System Error Detected (Rendszerhiba detektálva), Sample Processing Aborted (Minta feldolgozása megszakadt)		A minta feldolgozása megszakadt; a mintát újra kell tesztelni†
Unresolved (Nem meghatározható)	Not Amplified (Nem amplifikált), No System Error Detected (Nincs detektált rendszerhiba)		Az összes célszekvencia-eredmény érvénytelen volt; a mintát újra kell tesztelni†

* Mint minden más teszt esetében, a negatív eredmények nem zárják ki a HHV-6A- és/vagy HHV-6B-fertőzést.

†A NeuMoDx™ System automatikus újrafuttatás/ismétlés funkcióval rendelkezik, amelyet a végfelhasználó kiválaszthat annak biztosítása érdekében, hogy az IND/NR/UNR eredmény esetén a rendszer automatikusan újrafeldolgozza a mintát, ezzel minimálisra csökkentve a leletkiadás késleltetését.

Teszttel kapcsolatos számítások

- A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay mennyiségi meghatározási tartományán belül eső minták esetében a HHV-6A DNS és HHV-6B DNS koncentrációját a kalibrációs koefficienssel együtt használt, tárolt standard görbék segítségével határozzák meg.
 - A standard görbe érvényességének megállapításához használt kalibrációs koefficiens a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip egy adott tételére vonatkozóan egy adott NeuMoDx™ System készüléken feldolgozott NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators kalibrátorok eredményei alapján számolható ki az egyes célszekvenciákhoz.
 - A kalibrációs koefficiens a HHV-6A DNS és HHV-6B DNS koncentrációjának végső meghatározásakor használatos.
- A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay eredményei a HHV-6A célszekvenciák esetén \log_{10} kópia/ml és kópia/ml, a HHV-6B célszekvenciák esetén pedig \log_{10} NE/ml és NE/ml mértékegységben jelennek meg.
- Az ismeretlen minták mennyiségi meghatározási eredményei a digitális droplet PCR (ddPCR) módszerrel kifejezett EDX HHV-6A verifikációs panelre (Exact Diagnostics), valamint a WHO 1. nemzetközi HHV-6B vírus DNS standardjára (Biológiai Standardok és Kontrollok Országos Intézete [National Institute for Biological Standards and Control], NIBSC-kód: 15/266) vezethetők vissza.

Tesztkalibrálás

A HHV-6A DNS és/vagy HHV-6B DNS mintákban történő mennyiségi meghatározásához standard görbén alapuló érvényes kalibrálásra van szükség. Érvényes eredmények generálásához tesztkalibrálást kell végezni mind a HHV-6A-hoz, mind a HHV-6B-hez a NeuMoDx™ Molecular, Inc. által biztosított kalibrátorokkal.

Kalibrátorok

1. A kitben kapható NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators (REF 801000) kalibrátorok szárított, szintetikus HHV-6A DNS és HHV-6B DNS pelletből és specifikus pufferből állnak.
2. A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips tesztcsíkok minden új tételével fel kell dolgozni egy HHV-6 kalibrátorkészletet, ha új HHV-6 assay-definíciós fájlt töltenek fel a NeuMoDx™ System készülékbe, ha az aktuális kalibrátorkészlet meghaladta a validitási időszakot (ami jelenleg 90 napra van beállítva), vagy ha a NeuMoDx™ System szoftverét módosítják.
3. A NeuMoDx™ System szoftvere értesíti a felhasználót, amikor szükség van a kalibrátorok feldolgozására. Új tesztcsíktétel addig nem használható vizsgálathoz, amíg a kalibrátorokat sikeresen fel nem dolgozták.
4. Ha új HHV-6 kalibrátorkészletet kell feldolgozni, olvassa el a NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators terméktájékoztatójában található összes utasítást, mielőtt elvégezné a tesztet.
5. A kalibráció érvényessége a következőképpen állapítható meg:
 - a. Az egyes görbék érvényességének biztosításához két kalibrációs koefficienset kell készíteni, egyet a HHV-6A és egy másikat a HHV-6B számára, célszervenciánként két-két (magas és alacsony) kalibrátorból álló készlet felhasználásával.
 - b. Érvényes eredmények generálásához a 3 párhuzamos közül legalább 2-nek az előre meghatározott paramétertartományba eső eredményeket kell adnia. Az alacsony koncentrációjú kalibrátor névleges célértéke 3,0 log₁₀ kópia/ml, a magas koncentrációjú kalibrátor névleges célértéke pedig 5,0 log₁₀ kópia/ml a HHV-6A kalibrátor készlet esetében, míg az alacsony koncentrációjú kalibrátor névleges célértéke 3,0 log₁₀ NE/ml, a magas koncentrációjú kalibrátor névleges célértéke pedig 5,0 log₁₀ NE/ml a HHV-6B kalibrátor készlet esetében.
 - c. A készülék kiszámítja a kalibrációs koefficienset a tesztcsíktételek közötti várható eltérések kompenzálása érdekében. A kalibrációs koefficienset a végső ki a HHV-6A és/vagy HHV-6B koncentráció meghatározásához használják.
6. Ha a kalibrátorok egyikénél vagy mindegyikénél sikertelen az érvényességi vizsgálat, egy új üveggel ismétlje meg a sikertelen kalibrátor(ok) feldolgozását. Ha egy kalibrátor érvénytelen, elég lehet csak a sikertelen kalibrátor feldolgozását megismételni, mivel a rendszer nem kéri a felhasználót mindkét kalibrátor újrafuttatására.
7. Ha a kalibrátor(ok) érvényességi tesztje második alkalommal is sikertelen, lépjen kapcsolatba a QIAGEN műszaki támogatásával.

Minőség-ellenőrzés

A helyi szabályozások jellemzően megadják, hogy a laboratórium a felelős a teljes analitikai folyamat pontosságának és precizitásának monitorozását végző kontroll eljárásokért, és meg kell határozni a tesztkontrollanyagok számát, típusát és alkalmazásuk gyakoriságát a módosítatlan, jóváhagyott tesztrendszerre vonatkozó ellenőrzött teljesítményjellemzők segítségével.

Külső kontrollok

1. A HHV-6A és HHV-6B External Controls (REF 901000) külső kontrollokat a NeuMoDx™ bocsátja rendelkezésre. A pozitív kontrollok szárított, szintetikus HHV-6A és HHV-6B DNS pelletet tartalmaznak. A negatív kontroll pufferből áll.
2. Pozitív és negatív külső kontrollokat 24 óránként fel kell dolgozni. Ha nem áll rendelkezésre érvényes külsőkontroll-készlet, a NeuMoDx™ System szoftvere felszólítja a felhasználót, hogy dolgozzon fel kontrollokat, mielőtt a mintaeredményeket jelenteni lehetne.
3. Ha külső kontrollokra van szükség, a teszt elvégzése előtt készítse elő a pozitív és negatív kontrollokat a HHV-6 External Controls terméktájékoztatójában leírtak szerint.
4. Az érintőképernyő és az automatikus betöltőpocra helyezett mintacsőtartó segítségével tölts be a pozitív és negatív kontrollokat a NeuMoDx™ System készülékbe. A NeuMoDx™ System felismeri a vonalkódot, és amennyiben rendelkezésre állnak a vizsgálathoz szükséges reagensok és fogyóeszközök, megkezdje a külsőkontroll-csövek feldolgozását.
5. A külső kontrollok érvényességét a NeuMoDx™ System vizsgálja meg a várható eredmények alapján. A pozitív kontroll HHV-6A és HHV-6B pozitív eredményt, a negatív kontroll pedig HHV-6A és HHV-6B negatív eredményt kell, hogy adjon.
6. A külső kontrollokkal kapcsolatos ellentmondó eredményeket a következőképpen kell kezelni:
 - a. A negatív kontrollminta esetén jelentett pozitív teszteredmény a minta szennyeződését jelezheti; a háttérben álló ok feltárásához meg kell vizsgálni a laboratórium minőség-ellenőrzési eljárásait. Ügyeljen rá, hogy külön területeken történjen a minta-előkészítés, a kontrollok kezelése, és a valós idejű PCR összeállítása. További hibaelhárítási javaslatokat a *NeuMoDx 288 vagy 96 Molecular System kezelői kézikönyvében* találhat.
 - b. Pozitív kontrollminta esetén jelentett negatív teszteredmény reagenssel vagy készülékkel kapcsolatos problémára utalhat.
 - c. A fentiek bármelyike, illetve No Result (NR) (Nincs eredmény), Unresolved (UNR) (Megoldatlan) vagy Indeterminate (IND) (Nem eldönthető) eredmény esetén ismétlje meg a sikertelen kontroll(oka)t az érvényességi teszten sikertelennek bizonyult kontrollok frissen előkészített üvegével.
 - d. Ha a pozitív NeuMoDx™ HHV-6 External Controls külső kontrollok továbbra is negatív eredményt adnak, forduljon a QIAGEN műszaki támogatásához.
 - e. Ha a negatív NeuMoDx™ HHV-6 External Controls külső kontrollok továbbra is pozitív eredményt adnak, próbáljon meg kiküszöbölni minden potenciális kontaminációs forrást, ideértve az ÖSSZES reagens cseréjét is, mielőtt a QIAGEN műszaki támogatásához fordulna.
7. Ha a külső kontrollok nem a várt eredményt adják, ismételten le kell futtatni egy készlet pozitív és negatív kontrollt. A rendszer csak a külső kontrollok egy érvényes készletének feldolgozása után végzi el a minták feldolgozását. Abban az esetben, ha a külső kontrollok mintafeldolgozás közben járnak le, a rendszer a futtatáshoz a külső kontrollok egy érvényes készletének a behelyezését fogja kérni. Ha a külső kontrollkészlet nem ad érvényes eredményt, akkor készülék nem adja ki a minták eredményeit.

Mintafeldolgozási (belső) kontrollok

A NeuMoDx™ Extraction Plate extrakciós lemeznek része egy exogén mintafeldolgozási kontroll (Sample Process Control, SPC1), amely minden minta/kontroll/kalibrátor esetében átesik a teljes nukleinsav-extrakciós és valós idejű PCR-amplifikációs folyamaton. Az SPC1-re specifikus primerek és próbák a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip tesztcsíkok részét képezik, ami lehetővé teszi az SPC1 detektálását a HHV-6A és/vagy HHV-6B DNS célszekvenciák mellett (ha jelen vannak), multiplex valós idejű PCR útján. Az SPC1 amplifikációja lehetővé teszi a NeuMoDx™ System szoftvere számára a DNS-extrakciós és a PCR-amplifikációs folyamatok hatását monitorozását.

Érvénytelen eredmények

Ha a NeuMoDx™ System készüléken elvégzett NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay vizsgálat nem ad érvényes eredményt, az a jelentésben Indeterminate (IND) (Nem eldönthető), No Result (NR) (Nincs eredmény) vagy Unresolved (UNR) (Megoldatlan) jelöléssel jelenik meg, a bekövetkezett hibától függően. Érvényes eredmény elérése érdekében a tesztet meg kell ismételni.

Az eredmény akkor kap Indeterminate (Nem eldönthető) jelölést, ha a mintafeldolgozás során a NeuMoDx™ System hibáját észleli a készülék. IND (Nem eldönthető) eredmény esetén a tesztet ajánlott megismételni.

Az eredmény akkor kap No Result (Nincs eredmény) jelölést, ha a mintafeldolgozás során a NeuMoDx System hibáját észleli a készülék. No Result (Nincs eredmény) jelölés esetén a tesztet ajánlott megismételni.

UNR (Megoldatlan) eredmény közlésére olyankor kerül sor, ha nem detektálható célszekvencia, és a HHV-6A DNS, a HHV-6B DNS vagy az SPC1 nem amplifikálódik, ami esetleges reagenshibára vagy inhibitorok jelenlétére utal. UNR (Megoldatlan) eredmény esetén első lépésként megismételhető a teszt. Ha az ismételt tesztelés sikertelen, hígított minta használható az esetleges mintagátló anyagok hatásainak csökkentésére (további útmutatásért lásd a „Korlátozások” című szakaszt).

A NeuMoDx 288 Molecular System kezelői kézikönyvében (cikkszám: 40600108) vagy a NeuMoDx 96 Molecular System kezelői kézikönyvében (cikkszám: 40600317) megtalálja az érvénytelen eredményekkel összefüggő hibakódok listáját.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK^{10,11,15}

Analitikai szenzitivitás – detektálási határ¹²

A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay analitikai szenzitivitásának jellemzésére az EDX HHV-6A verifikációs panel (Exact Diagnostics) és a HHV-6B verifikációs panel (Exact Diagnostics, a WHO 1. nemzetközi HHV-6B standardja szerint kalibrálva, 15/266) hígítási sorozatát vizsgálták, HHV-6A/HHV-6B negatív plazmamintákban, a NeuMoDx™ Systems készülék detektálási határának (Limit of Detection, LoD) megállapításához. A detektálási határ definíció szerint a legkisebb detektálható koncentráció, 95%-os találati aránnyal. Ezt a kísérleti adatokra alkalmazott probit-elemzéssel számították ki, 95%-os konfidenciaintervallum (Confidence Interval, CI) mellett. A vizsgálatot 3 napon keresztül végezték több készüléken, több NeuMoDx™ reagenstétellel. Minden készülékkel naponta 42 párhuzamost dolgoztak fel minden hígítási szinten (pozitív minták) és 8 párhuzamost a negatív minták esetében. A detektálási arányok a 2. táblázatban láthatók.

2. táblázat: A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay detektálási határának (Limit of Detection, LoD) meghatározása esetén kapott pozitív detektálási arányok

HHV-6A					HHV-6B				
Célkoncentráció [kópia/ml]	Célkoncentráció [log ₁₀ kópia/ml]	Az érvényes tesztek száma	Pozitív minták száma	Detektálási arány	Célkoncentráció [NE/ml]	Célkoncentráció [log ₁₀ NE/ml]	Az érvényes tesztek száma	Pozitív minták száma	Detektálási arány
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%

A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay LoD-értéke probit-elemzés alapján 123,5 kópia/ml (2,09 log₁₀ kópia/ml) (95%-os konfidenciaintervallum: 102,1–145,0 kópia/ml) a HHV-6A esetén, illetve 178,2 NE/ml (2,25 log₁₀ NE/ml) (95%-os konfidenciaintervallum: 151,3–205,0 NE/ml) a HHV-6B esetén.

Analitikai szenzitivitás – A mennyiségi meghatározás alsó határa (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) és a mennyiségi meghatározás felső határa (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)¹²

A mennyiségi meghatározás alsó határa (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) és a mennyiségi meghatározás felső határa (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) meghatározása: a legalacsonyabb célkoncentráció és a legmagasabb célkoncentráció, amely mellett > 95%-os detektálási arány érhető el és a TAE ≤ 1,0. Az LLoQ és az ULoQ meghatározásához kiszámolták a teljes analitikai hibát (Total Analytical Error, TAE) minden olyan HHV-6A és HHV-6B célkoncentráció esetében, amelynél az LoD-teszt részeként > 95%-os értékűnek találták a kimutathatóságot. A TAE meghatározása:

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

A torzítás az átlagos számított koncentráció és a várható koncentráció közötti különbség abszolút értéke. A szórás a minta mért értékének szórása.

Az LLoQ-/ULOQ-vizsgálatban felhasznált HHV-6A/HHV-6B plazmaminták 5 koncentrációsintjének megfelelő eredmények összefoglalása a 3. és a 4. táblázatban látható. Erre az adatkészletre és a korábban meghatározott LoD-re alapozva a következő LLoQ- és ULOQ-értékeket határozták meg: 200 kópia/ml (2,30 log₁₀ kópia/ml) és 1 × 10⁶ kópia/ml a HHV-6A esetén, illetve 200 NE/ml (2,30 log₁₀ NE/ml) és 1 × 10⁶ NE/ml a HHV-6B esetén.

3. táblázat: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip; HHV-6A ULOQ és LLoQ, torzítással és teljes analitikai hibával (Total Analytical Error, TAE)

Célkonc. [kópia/ml]	Célkonc. [log ₁₀ kópia/ml]	Átlagos konc. [log ₁₀ kópia/ml]	Detektálás (%)	Szórás	Torzítás	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.

4. táblázat: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip; HHV-6B ULOQ és LLoQ, torzítással és teljes analitikai hibával (Total Analytical Error, TAE)

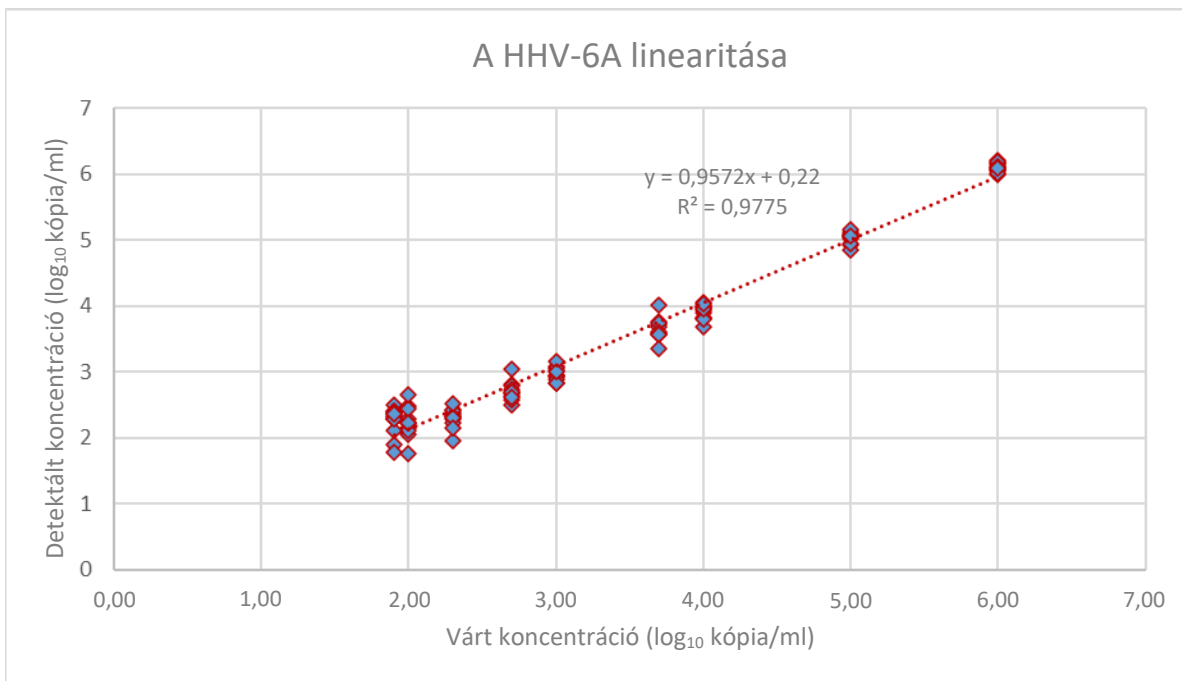
Célkonc. [NE/ml]	Célkonc. [log ₁₀ NE/ml]	Átlagos konc. [log ₁₀ NE/ml]	Detektálás (%)	Szórás	Torzítás	TAE
10 ⁶	6,00	6,06	100%	0,32	0,06	0,71
200	2,30	2,12	95,7%	0,22	0,18	0,62
100	2,00	2,04	57,1%	0,24	0,04	0,52
80	1,90	1,99	43,2%	0,26	0,08	0,61
60	1,78	1,92	32,6%	0,26	0,15	0,67
40	1,60	1,79	11,6%	0,22	0,19	0,62

A vizsgálatok kimenetele alapján a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay LoD-értéke 123,5 kópia/ml (2,09 log₁₀ kópia/ml) a HHV-6A esetén, illetve 178,2 NE/ml (2,25 log₁₀ NE/ml) a HHV-6B esetén. Az LoQ-értéke 200 kópia/ml (2,30 log₁₀ kópia/ml) a HHV-6A esetén, illetve 200 NE/ml (2,30 log₁₀ NE/ml) a HHV-6B esetén. Az ULOQ 1 × 10⁶ kópia/ml a HHV-6A esetén és 1 × 10⁶ NE/ml a HHV-6B esetén.

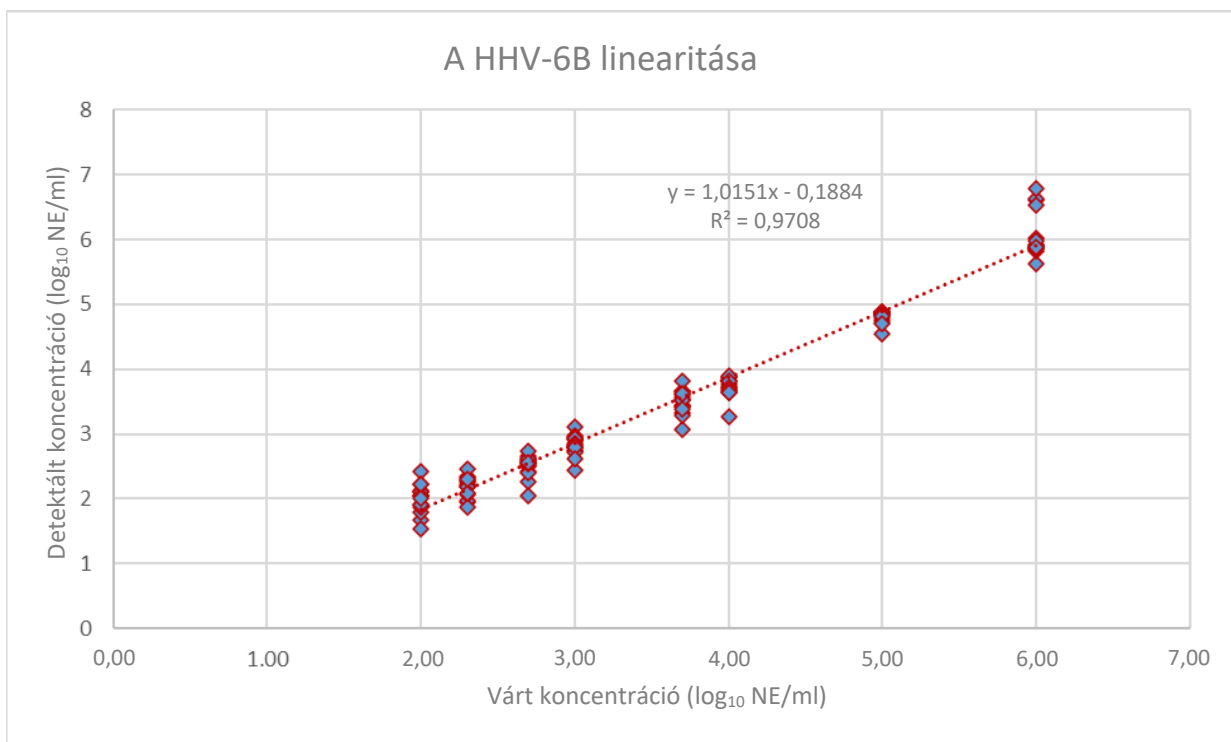
Linearitás¹³

A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip linearitását plazmában határozták meg, hígítási sor készítésével, HHV-6A verifikációs panel (Exact Diagnostics) és EDX HHV-6B verifikációs panel (Exact Diagnostics) használatával. HHV-6A/HHV-6B negatív humán plazmában elkészítve a HHV-6A/HHV-6B panelek nyolc (8) hígítási sorát hozták létre, hogy lefedjék a 6–2 log₁₀ kópia/ml közötti koncentrációtartományt.

A NeuMoDx™ System készülék által jelentett HHV-6A/HHV-6B assay-koncentrációk összehasonlítása a várható értékekkel a 2. és 3. ábrán látható.



2. ábra: A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay linearitása HHV-6A esetén



3. ábra: A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay linearitása HHV-6B esetén

Analitikai specificitás – keresztreaktivitás^{10, 11}

Az analitikai specificitást a plazmamintákban gyakran előforduló 22 mikroorganizmus, valamint a HHV-6A-hoz és HHV-6B-hez filogenetikailag hasonló fajok keresztreaktivitás tekintetében történő szűrésével igazolták. A mikroorganizmusokat 5/6-os poolokban készítették elő és magas koncentrációkban vizsgálták (3,48 log₁₀ kópia/ml). A tesztelt mikroorganizmusok az 5. táblázatban láthatók. Keresztreaktivitás a tesztelt mikroorganizmusok egyikével sem volt megfigyelhető, ami igazolta a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay 100%-os analitikai specificitását.

5. táblázat: Az analitikai specificitás igazolásához használt kórokozók

Nem célmikroorganizmusok					
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Humán immundeficiencia vírus 1	Hepatitis B vírus	Adenovírus 5-ös típus	Epstein–Barr-vírus	Varicella zoster vírus	Enterovírus 68
BK-vírus	Herpes simplex vírus 1	Herpes simplex vírus 2	Humán gamma-herpeszvírus 8	Cytomegalovírus	Humán béta-herpeszvírus 7
HTVL-1	HTVL-2	JC-vírus	SV40	Humán immundeficiencia vírus 2	

Analitikai specificitás – zavaró anyagok, kommenzális mikroorganizmusok^{10, 11}

A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay tesztet interferencia tekintetében nem cél-mikroorganizmusok jelenlétében, a keresztreaktivitás-vizsgálathoz készítettékkel megegyező, a fenti 6. táblázatban felsorolt mikroorganizmus-poolok felhasználásával értékelték. A HHV-6A/HHV-6B negatív plazmát 4–7-es csoportokba poolozott mikroorganizmusokkal, valamint 2,78 log₁₀ NE/ml (600 NE/ml; 3 × LoD) koncentrációban HHV-6A/HHV-6B célszekvenciával preparálták. A kommenzális mikroorganizmusok jelenlétében nem volt megfigyelhető jelentős interferencia, amint azt a zavaró ágenst nem tartalmazó kontrollminták mennyiségi meghatározási eredményeinek minimális eltérése is jelzi.

Analitikai specificitás – zavaró anyagok, endogén és exogén anyagok^{10, 11}

A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay tesztet a klinikai HHV-6A/HHV-6B plazmában jellemzően előforduló exogén és endogén zavaró anyagok jelenlétében vizsgálták. Ide sorolhatók a vérösszetevők rendellenesen magas szintjei, valamint a gyakori vírusellenes gyógyszerek is, amelyek csoportosítása a 6. táblázatban látható. Az egyes anyagokat 2,78 log₁₀ NE/ml (600 NE/ml; 3 × LoD) HHV-6A-val/HHV-6B-vel preparált, szűrt HHV-6A/HHV-6B negatív humán plazmához adták hozzá, és a mintákat megvizsgálták interferencia tekintetében.

Az összes vizsgált anyag átlagos koncentrációját és a HHV-6A/HHV-6B azonos koncentrációjával preparált kontrollmintákhoz viszonyított torzítást a 7. táblázat tartalmazza. A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay specificitását egyik exogén vagy endogén anyag sem befolyásolta.

6. táblázat: Interferenciavizsgálat – exogén ágensek (gyógyszerek osztályozása)

Pool	Gyógyszernév	Besorolás
1. pool	Valganciklovir	VÍRUSELLENES SZER
	Prednizon	IMMUNSZUPPRESSZÍV SZER
	Cidofovir	VÍRUSELLENES SZER
	Cefotaxim	ANTIBIOTIKUM
	Mikofenolát-mofetil	IMMUNSZUPPRESSZÍV SZER
2. pool	Vankomicin	ANTIBIOTIKUM
	Takrolimusz	IMMUNSZUPPRESSZÍV SZER
	Famotidin	HISZTAMINANTAGONISTA
	Valaciclovir	VÍRUSELLENES SZER
	Leflunomid	IMMUNSZUPPRESSZÍV SZER

7. táblázat: Interferenciavizsgálat – exogén és endogén ágensek

Endogén (plazma)	HHV-6A		HHV-6B	
	Átlagos konc.	Torzítás	Átlagos konc.	Torzítás
	log ₁₀ kópia/ml	log ₁₀ kópia/ml	log ₁₀ NE/ml	log ₁₀ NE/ml
Trigliceridek (500 mg/dl)	1,91	0,24	2,10	-0,13
Konjugált bilirubin (0,25 g/l)	2,14	0,01	2,07	-0,10
Nem konjugált 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
Hemoglobin (2,9 g/l)	2,23	-0,08	1,98	-0,01
Humán DNS (2 mg/ml)	1,74	0,41	1,86	0,12
Exogén (gyógyszerek)	Átlagos konc.	Torzítás	Átlagos konc.	Torzítás
	log ₁₀ kópia/ml	log ₁₀ kópia/ml	log ₁₀ NE/ml	log ₁₀ NE/ml
1. pool: valganciklovir, prednizon, cidofovir, cefotaxim, mikofenolát-mofetil	1,65	0,28	2,07	0,06
2. pool: vankomicin, takrolimusz, famotidin, valaciklovir, leflunomid	2,18	-0,25	1,97	0,16

Megismételhetőség és laboratóriumon belüli precizitás¹⁴

A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip precizitásának meghatározásához HHV-6A és HHV-6B plazmával preparált HHV-6A/HHV-6B minták 3 tagú panelének 2 párhuzamosát vizsgálták naponta kétszer, 20 napon át egyetlen NeuMoDx™ 96 System készüléken. Meghatározták a futtatáson belüli és napon belüli precizitást, és azt találták, hogy az általános szórás $\leq 0,25$ log₁₀ kópia/ml a HHV-6A esetén és $\leq 0,25$ log₁₀ NE/ml a HHV-6B esetén. Kitérő precizitást igazoltak az összes nap és futtatás tekintetében, lásd a 8. táblázatot. A kezelők közötti precizitást nem vizsgálták, mivel a kezelő nem játszik jelentős szerepet a minták feldolgozásában a NeuMoDx™ System használata esetén.

8. táblázat: Laboratóriumon belüli precizitás – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay NeuMoDx™ System 96 készüléken

Minta	A megismételhetőség szórása	Futtatáson belüli szórás	Napon belüli szórás	Napok közötti szórás	Általános (laboratóriumi belüli) szórás
HHV-6A					
5,67 log ₁₀ kópia/ml	0,166	0,000	0,166	0,051	0,173
4,67 log ₁₀ kópia/ml	0,071	0,000	0,071	0,048	0,086
3,67 log ₁₀ kópia/ml	0,190	0,028	0,192	0,059	0,200
2,48 log ₁₀ kópia/ml	0,151	0,051	0,159	0,000	0,159
HHV-6B					
5,14 log ₁₀ NE/ml	0,217	0,000	0,217	0,070	0,228
4,14 log ₁₀ NE/ml	0,155	0,000	0,155	0,056	0,165
3,14 log ₁₀ NE/ml	0,141	0,000	0,141	0,038	0,146
2,70 log ₁₀ NE/ml	0,225	0,079	0,239	0,000	0,239

Tételek közötti reprodukálhatóság¹⁴

A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip tételek közötti reprodukálhatóságát három különböző NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip tétel használatával igazolták. A teljesítmény meghatározására a HHV-6A és HHV-6B 4 tagú panelét használták, HHV-6A verifikációs panellel (Exact Diagnostics) vagy EDX HHV-6B verifikációs panellel (Exact Diagnostics), egy NeuMoDx™ 96 Molecular System készüléken, 5 külön futtatás során. A tételen belüli és a tételek közötti eltérések elemzésének eredményeit a tételek közötti szórással fejezték ki, lásd 9. táblázat. A legnagyobb maximális szórás 0,257 kópia/ml volt. Egymással egyenértékű teljesítményt igazoltak a különböző tételek esetében, mivel az összes paneltag szórása a megadott toleranciahatárokon belülre esett (a reprodukálhatóság szórása $\leq 0,3$ log₁₀ kópia/ml).

9. táblázat: Tételek közötti reprodukálhatóság – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

Minta	A megismételhetőség szórása	Napok közötti szórás	Tételen belüli szórás	Tételek közötti szórás	A reprodukálhatóság szórása
HHV-6A					
4,73 × 10 ⁵ kópia/ml	0,160	0,061	0,171	0,073	0,186
4,73 × 10 ³ kópia/ml	0,166	0,087	0,188	0,069	0,200
600 kópia/ml	0,099	0,088	0,132	0,091	0,160
HHV-6B					
1,38 × 10 ⁵ NE/ml	0,199	0,161	0,256	0,025	0,257
1,38 × 10 ³ NE/ml	0,214	0,068	0,224	0,093	0,243
600 NE/ml	0,120	0,069	0,139	0,062	0,152

Készülékek közötti reprodukálhatóság¹⁴

A NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip készülékek közötti reprodukálhatóságát három különböző rendszer (egy NeuMoDx™ 288 Molecular System és két NeuMoDx™ 96 Molecular System) használatával határozták meg. A teljesítmény meghatározására a HHV-6A/HHV-6B 4 tagú panelét használták, HHV-6A verifikációs panellel (Exact Diagnostics) vagy EDX HHV-6B verifikációs panellel (Exact Diagnostics). A vizsgálatot a rendszereken 5 napig végezték. Meghatározták a napon belüli és a rendszerek közötti eltérést, és azt találták, hogy az általános szórás ≤ 0,30 log₁₀ kópia/ml a HHV-6A esetén és ≤ 0,30 log₁₀ NE/ml a HHV-6B esetén. Egymással egyenértékű teljesítményt igazoltak a különböző készülékek esetében, mivel az összes paneltag mennyiségi meghatározásával kapcsolatos szórás a megadott toleranciahatárokon belül esett (10. táblázat).

10. táblázat: Készülékek közötti reprodukálhatóság – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip

Minta	A megismételhetőség szórása	Napok közötti szórás	Készüléken belüli szórás	Készülékek közötti szórás	A reprodukálhatóság szórása
HHV-6A					
5,67 log ₁₀ kópia/ml	0,228	0,000	0,228	0,000	0,228
4,67 log ₁₀ kópia/ml	0,149	0,000	0,149	0,021	0,151
3,67 log ₁₀ kópia/ml	0,210	0,101	0,233	0,000	0,233
2,48 log ₁₀ kópia/ml	0,157	0,079	0,176	0,000	0,176
HHV-6B					
5,14 log ₁₀ NE/ml	0,215	0,072	0,227	0,000	0,227
4,14 log ₁₀ NE/ml	0,259	0,014	0,260	0,023	0,261
3,14 log ₁₀ NE/ml	0,178	0,062	0,189	0,000	0,189
2,70 log ₁₀ NE/ml	0,149	0,079	0,169	0,000	0,169

HIVATKOZÁSOK

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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,
- 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.

11. CLSI. Quantitative Molecular Methods for Infectious 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.

VÉDJEJEGYEK















A NeuMoDx™ a NeuMoDx Molecular, Inc. védjegye.

A TaqMan® a Roche Molecular Systems, Inc. bejegyzett védjegye.

A Seracare® a Seracare Life Sciences, Inc. bejegyzett védjegye.

A dokumentumban előforduló minden más terméknév, védjegy vagy bejegyzett védjegy a megfelelő tulajdonos tulajdonát képezi.

SZIMBÓLUMOK

SZIMBÓLUM	JELENTÉS
	Kizárólag orvosi rendelvényre
	Gyártó
	A forgalmazó adatai
	<i>In vitro</i> diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Katalógusszám
	Sarzsorszám
	Lásd a használati útmutatót
	Figyelem, olvassa el a mellékelt dokumentumokat!
	Hőmérsékleti korlátozás
	Száraz helyen tárolandó
	Ne használja újra
	Ne tegye ki fény hatásának
	<n> teszthez elegendő mennyiséget tartalmaz
	Lejárat dátum



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

www.sentinel diagnostics.com



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

+1 888 301 NMDX (6639)

Műszaki támogatás: support.qiagen.com
Vigilanciajelentés: support.qiagen.com

Szabadalom: www.neumodx.com/patents