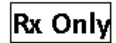


**202500 NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip****LET OP: Voor VS: uitsluitend bestemd voor export****Voor *in-vitro*diagnostisch gebruik met de NeuMoDx™ 288 en NeuMoDx™ 96 Molecular Systems**

Lees deze bijsluiter aandachtig voordat u het product gebruikt. De instructies in de bijsluiter moeten altijd opgevolgd worden. De betrouwbaarheid van assayresultaten kan niet gegarandeerd worden indien er wordt afgeweken van de instructies in deze bijsluiter.

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx™ 288 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600108

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx™ 96 Molecular System voor gedetailleerde instructies; O/N 40600317



BEOOGD GEBRUIK

De NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay is een geautomatiseerde, *in-vitro* nucleïnezuur-amplificatietest voor de kwantificering en differentiëring van DNA van het humaan bètaherpesvirus 6A (HHV-6A) en/of DNA van het humaan bètaherpesvirus 6B (HHV-6B) in EDTA-plasma van transplantatiepatiënten met immunosuppressies^{1,2}.

De NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, zoals uitgevoerd in het NeuMoDx™ 288 Molecular System en het NeuMoDx™ 96 Molecular System, maakt gebruik van geautomatiseerde DNA-extractie om het doelnucleïnezuur van het monster te isoleren en van realtime PCR om zich te richten op de sterk geconserveerde gebieden in het HHV-6A- en HHV-6B-geenoom.

De assay is bedoeld voor gebruik als hulpmiddel bij het monitoren van HHV-6A- en/of HHV-6B DNA-gehalten in EDTA-plasma. Deze assay moet in combinatie met het klinische beeld en andere laboratoriummarkers van het ziekteverloop worden gebruikt om HHV-6A- en/of HHV-6B-infecties klinisch te behandelen en monitoren.

De NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay is niet bedoeld voor gebruik als screeningstest die erop gericht is de aanwezigheid van HHV-6A- en/of HHV-6B-DNA in bloed of bloedproducten op te sporen.

De NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay is bedoeld voor gebruik door getraind klinisch laboratoriumpersoneel dat specifiek geïnstrueerd en getraind is in de technieken van realtime PCR en *in-vitro*diagnostische procedures en/of NeuMoDx™ Molecular Systems. De NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay is niet bedoeld voor zelftests of voor gebruik op de plaats van zorgverlening.

SAMENVATTING EN UITLEG

Voor de bereiding van plasma kan menselijk volbloed worden gebruikt, dat verzameld is in steriele bloedafnamebuisjes met EDTA als antistollingsmiddel of in plasma-bereidingsbuisjes (Plasma Preparation Tubes; PPT). Om de test te initiëren, wordt het plasma overgebracht naar een primair of secundair specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx™ System. Dit buisje wordt in een speciale specimenendrager in het NeuMoDx™ System geplaatst om de geautomatiseerde verwerking in gang te zetten.

Een aliquot van 550 µl van het plasmaspecimen wordt gemengd met NeuMoDx™ Lysis Buffer 1. Het NeuMoDx™ System voert vervolgens automatisch alle stappen uit die nodig zijn voor de extractie van de beoogde nucleïnezuren, het voorbereiden van het geïsoleerde DNA voor realtime PCR-amplificatie en, indien aanwezig, het amplificeren en detecteren van de amplificatieproducten. De NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay omvat een DNA-monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control; SPC1) als hulpmiddel voor het opsporen van zowel mogelijke remmers als fouten van het NeuMoDx™ System of van reagentia die tijdens het extractie- en het amplificatieproces kunnen optreden.

Humaan herpesvirus 6 (HHV-6) maakt deel uit van de bètaherpesvirus-subfamilie en omvat twee verschillende species: HHV-6A en HHV-6B². Het is een DNA-virus, dat tropisme voor weefsels van het centrale zenuwstelsel, de amandelen, speekselklieren, nieren, lever, lymfeknopen, endotheliale cellen en monocyt/macrofagen heeft⁴. Het primaire symptoom dat gepaard gaat met HHV-6-infectie is exanthema subitum (roseola of zesde ziekte)^{1,2,3,4}. Dit is vrijwel uitsluitend een kinderziekte en is verantwoordelijk voor 10% tot 30% van bezoeken aan de spoedeisende hulp voor kinderen onder de 2 jaar¹. Net als alle herpesvirussen kan HHV-6 een levenslange latentie doormaken na de initiële infectie, onder andere in hematopoïetische stamcellen en germinale cellen, waardoor zowel horizontale als verticale overdracht mogelijk wordt². Dit fenomeen is waargenomen in 0,2 tot 1% van de algehele bevolking⁴. In een gastheer met immunosuppressies kan een latent virus zich heractiveren om ernstige ziekte te veroorzaken, met inbegrip van pneumonitis, aandoeningen aan het centrale zenuwstelsel en vertraagde nesteling in het beenmerg of graft versus host-ziekte (graft versus host disease; GVHD). De incidentie van HHV-6-heractivatie ligt tussen ongeveer 0% en 80% (gem. 30% tot 50%) in transplantatiepatiënten die vaste organen (Solid Organ Transplant; SOT) of beenmerg (Bone Marrow Transplant; BMT) hebben ontvangen, waarbij BMT een geringe voorkeur heeft¹. In tegenstelling tot HHV-6B wordt HHV-6A-heractivatie zelden waargenomen na transplantatie. HHV-6B-heractivatie treft ongeveer 40% van de patiënten binnen de eerste paar maanden. Het is de meestvoorkomende infectieuze oorzaak van encefalitis na HCT (1% van de gevallen). Bij patiënten die HHV-6B-encefalitis oplopen, wordt vaak een gelijktijdige detectie van HHV-6B in het plasma waargenomen met een virale belasting van ≥ 10.000 kopieën/ml³.

UITGANGSPUNT VAN DE PROCEDURE

Voor het uitvoeren van de analyse maakt de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay op het NeuMoDx™ System gebruik van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators, NeuMoDx™ HHV-6 External Controls, NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 en reagentia van NeuMoDx™ voor algemeen gebruik. De NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay combineert geautomatiseerde extractie, amplificatie en detectie van DNA door realtime PCR. Plasmaspecimens in een primair of secundair specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx™ System wordt overgebracht naar een specimenbuisjesdrager, die vervolgens in het NeuMoDx™ System wordt geplaatst voor verwerking. De bediener hoeft verder niets meer te doen.

De NeuMoDx™ Systems gebruiken een combinatie van hitte, lytisch enzym en extractiereagentia om automatisch cellysis en DNA-extractie uit te voeren en remmers te verwijderen. De vrijgekomen nucleïnezuren worden opgenomen door magnetische microbolletjes. De microbolletjes met

de gebonden nucleïnezuren worden in de NeuMoDx™ Cartridge geplaatst, waar vervolgens de ongebonden bestanddelen die geen DNA zijn, worden weggevoerd met het NeuMoDx™ Wash Reagent en het gebonden DNA wordt geëluëerd met het NeuMoDx™ Release Reagent. De NeuMoDx™ Systems gebruiken het geëluëerde DNA vervolgens om de bedrijfseigen, gevriesdroogde amplificatiereagentia van SENTINEL CH. S.p.A. te rehydrateren, die alle benodigde elementen voor PCR-amplificatie van de HHV-6-specifieke targets en de SPC1-target bevatten. Na reconstitutie van de gelyofiliseerde PCR-reagentia brengt het NeuMoDx™ System het bereide PCR-mengsel over naar de NeuMoDx™ Cartridge. De amplificatie en detectie van de controle- en doel-DNA-sequenties (indien aanwezig) vinden plaats in de PCR-kamer van de NeuMoDx™ Cartridge. De NeuMoDx™ Cartridge is ook zodanig ontworpen dat hij na realtime PCR het amplicon vasthoudt en zo het risico op besmetting na amplificatie vrijwel elimineert.

De genomische targets voor NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip zijn U31- en U67-genen van virale HHV-6A- en HHV-6B-genomen. Deze geamplificeerde targets worden in real time gedetecteerd met behulp van hydrolyseprobeverbindingen (meestal aangeduid met TaqMan®-verbindingen) die gebruikmaken van fluorogene, amplificatiespecifieke oligonucleotideprobleemoleculen voor hun respectievelijke doelen. TaqMan®-probes bestaan uit een fluorofoor die covalent is bevestigd aan het 5'-uiteinde van de oligonucleotideprobe en een quencher die is bevestigd aan het 3'-uiteinde. De fluorofoor en de quencher bevinden zich vlak bij elkaar op de intacte probe, waardoor het quenchermolecuul het fluorescent dat wordt uitgestraald door de fluorofoor dooft door middel van Förster-resonantie-energieoverdracht (Förster Resonance Energy Transfer; FRET). TaqMan®-probes zijn zo ontworpen dat ze hybridiseren binnen een DNA-gebied dat is geamplificeerd door een specifieke set primers. Terwijl de Taq-DNA-polymerase de primer verlengt en de nieuwe streng synthetiseert, degradeert de activiteit van de 5'- tot 3'-exonuclease van de Taq-DNA-polymerase de probe die aan de template is gehybridiseerd. Door de degradatie geeft de probe de fluorofoor vrij en wordt de nabijheid met de quencher verbroken, waardoor het dovende effect door middel van FRET wordt doorbroken en fluorescentiedetectie van de fluorofoor mogelijk wordt. Het resulterende fluorescente signaal dat wordt gedetecteerd in de kwantitatieve PCR-thermocycler van het NeuMoDx™ System is recht evenredig aan de vrijgekomen fluorofoor en kan worden gecorreleerd met de hoeveelheid doel-DNA dat aanwezig is⁵.

TaqMan®-probes gemerkt met fluoroforen aan het 5'-uiteinde en quenchers aan het 3'-uiteinde worden gebruikt voor detectie van HHV-6A-DNA, HHV-6B-DNA en SPC1-DNA. De software van het NeuMoDx™ System meet het fluorescentiesignaal dat aan het einde van elke amplificatiecyclus wordt uitgezonden door de TaqMan®-probes. Wanneer de amplificatie is voltooid, analyseert de software van het NeuMoDx™ System de gegevens en geeft het systeem de uitslag POSITIVE (Positief), NEGATIVE (Negatief), INDETERMINATE (Onbepaald), UNRESOLVED (Onbekend) of NO RESULT (Geen resultaat). Als een resultaat positief is en de berekende concentratie binnen de limieten van kwantificering ligt, geeft de software van het NeuMoDx™ System ook een kwantitatieve waarde die met het monster wordt geassocieerd en verschijnt er een melding als de berekende concentratie zich buiten het lineaire bereik bevindt.

REAGENTIA/VERBRUIKARTIKELEN

Meegeleverde materialen

REF	Inhoud	Tests per eenheid	Tests per verpakking
202500	NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip <i>Gevriesdroogde PCR-reagentia met HHV-6A-specifieke TaqMan®-probes en -primers, HHV-6B-specifieke TaqMan®-probes en -primers en SPC1-specifieke TaqMan®-probe en -primers.</i>	16	96

Reagentia en verbruiksartikelen die benodigd zijn, maar niet worden meegeleverd (afzonderlijk verkrijgbaar via NeuMoDx)

REF	Inhoud
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Gedroogde paramagnetische deeltjes, lytisch enzym en monsterverwerkingscontroles.</i>
801000	NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators <i>Sets met hoog- en laag-gedroogde HHV-6A- en HHV-6B-kalibrators voor eenmalig gebruik om de standaardcurve vast te stellen.</i>
901000	NeuMoDx™ HHV-6 External Controls <i>Sets met HHV-6A- en HHV-6B-positieve gedroogde controles en negatieve controles voor eenmalig gebruik om dagelijks de validiteit van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay vast te stellen.</i>
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Hamilton CO-RE-tips (300 µl) met filters
235905	Hamilton CO-RE-tips (1000 µl) met filters

Voor details van de reagentia en verbruiksartikelen raadpleegt u de gerelateerde bijsluiters

Benodigde instrumenten

NeuMoDx™ 288 Molecular System (REF 500100) of NeuMoDx™ 96 Molecular System (REF 500200).

NeuMoDx System Software versie 1.9.2.6 of hoger.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

- De NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip is uitsluitend geschikt voor in-vitrodiagnostisch gebruik in combinatie met NeuMoDx™ Systems.
- Lees alle instructies in de bijsluiter van de kit voordat u de test uitvoert.
- Gebruik de reagentia en de verbruiksartikelen niet na de vermelde houdbaarheidsdatum.
- Gebruik de reagentia niet als de verzegeling is verbroken of als de verpakking bij aankomst is beschadigd.
- Gebruik de verbruiksartikelen of reagentia niet als de beschermhoes bij levering is geopend of beschadigd.
- Meng geen reagentia voor amplificatie uit andere commerciële kits.
- Niet hergebruiken.
- Bescherm alle NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips tegen licht en vocht in hun aluminium verpakkingen.
- Er moet een geldige testkalibratie beschikbaar zijn, verkregen door het verwerken van hoge en lage kalibrators uit de set NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators (REF 801000), voordat er testresultaten kunnen worden gegenereerd voor klinische monsters.
- De NeuMoDx™ HHV-6 External Controls (REF 901000) moeten om de 24 uur worden verwerkt door het testen met de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip.
- Het minimale specimenvolume is afhankelijk van de grootte van het buisje, de specimendrager en het specimenvolume volgens de onderstaande specificaties. Een volume onder het opgegeven minimum kan leiden tot de fout 'Quantity Not Sufficient' (Te weinig volume).
- Het gebruik van specimen die bij ongeschikte temperaturen of langer dan de gespecificeerde opslagtijd zijn bewaard, kan leiden tot ongeldige of foutieve resultaten.
- Voorkom besmetting van reagentia en verbruiksartikelen met microben en deoxyribonuclease (DNase) te allen tijde. Bij het gebruik van secundaire specimenbuisjes wordt aanbevolen steriele DNase-vrije wegwerppipetten te gebruiken. Gebruik voor elk specimen een nieuwe pipet.
- Hanteer of demonteer na het amplificatieproces geen NeuMoDx™ Cartridges om contaminatie te voorkomen. Haal onder geen enkele omstandigheid NeuMoDx™ Cartridges uit de container voor biologisch gevaarlijk afval (NeuMoDx™ 288 Molecular System) of de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval (NeuMoDx™ 96 Molecular System). De NeuMoDx™ Cartridge is ontworpen om contaminatie te voorkomen.
- Let goed op dat de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, de aanvullende benodigde verbruiksartikelen en reagentia voor de test, de persoonlijke beschermingsuitrusting zoals handschoenen en een laboratoriumjas, en het NeuMoDx™ System niet worden verontreinigd wanneer er in het laboratorium ook PCR-tests met open buisjes worden uitgevoerd.
- Draag schone, poedervrije handschoenen van nitril bij het hanteren van NeuMoDx™-reagentia en -verbruiksartikelen. Let goed op dat u de bovenkant van de NeuMoDx™ Cartridge, de folielaag van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip of de NeuMoDx™ Extraction Plate, of de bovenkant van het buisje met NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 niet aanraakt; pak de verbruiksartikelen en reagentia alleen bij de zijanten vast.
- Voor elk reagens zijn veiligheidsinformatiebladen (VIB's) beschikbaar (waar van toepassing) via www.neumodx.com/client-resources.
- Een verticale balk in de tekstmarge wijst op wijzigingen in vergelijking met de vorige versie van de bijsluiter.
- Was uw handen grondig na het uitvoeren van de test.
- Pipetteer niet met de mond. Rook, drink of eet niet in ruimten waarin specimen of reagentia worden verwerkt.
- Behandel specimen altijd alsof ze infectieus zijn en volg procedures voor veilig werken in het laboratorium, zoals beschreven in OSHA Standard on Bloodborne Pathogens⁶. Bioveiligheidsniveau 2⁷ of andere praktijken inzake bioveiligheid^{8,9} die moeten worden toegepast voor materialen die infectieuze agentia bevatten of zouden kunnen bevatten.
- Voer ongebruikte reagentia en afval af in overeenstemming met nationale, federale, provinciale en lokale regelgeving. Volg de aanbevelingen in het veiligheidsinformatieblad (VIB).

OPSLAG, HANTERING EN STABILITEIT VAN HET PRODUCT

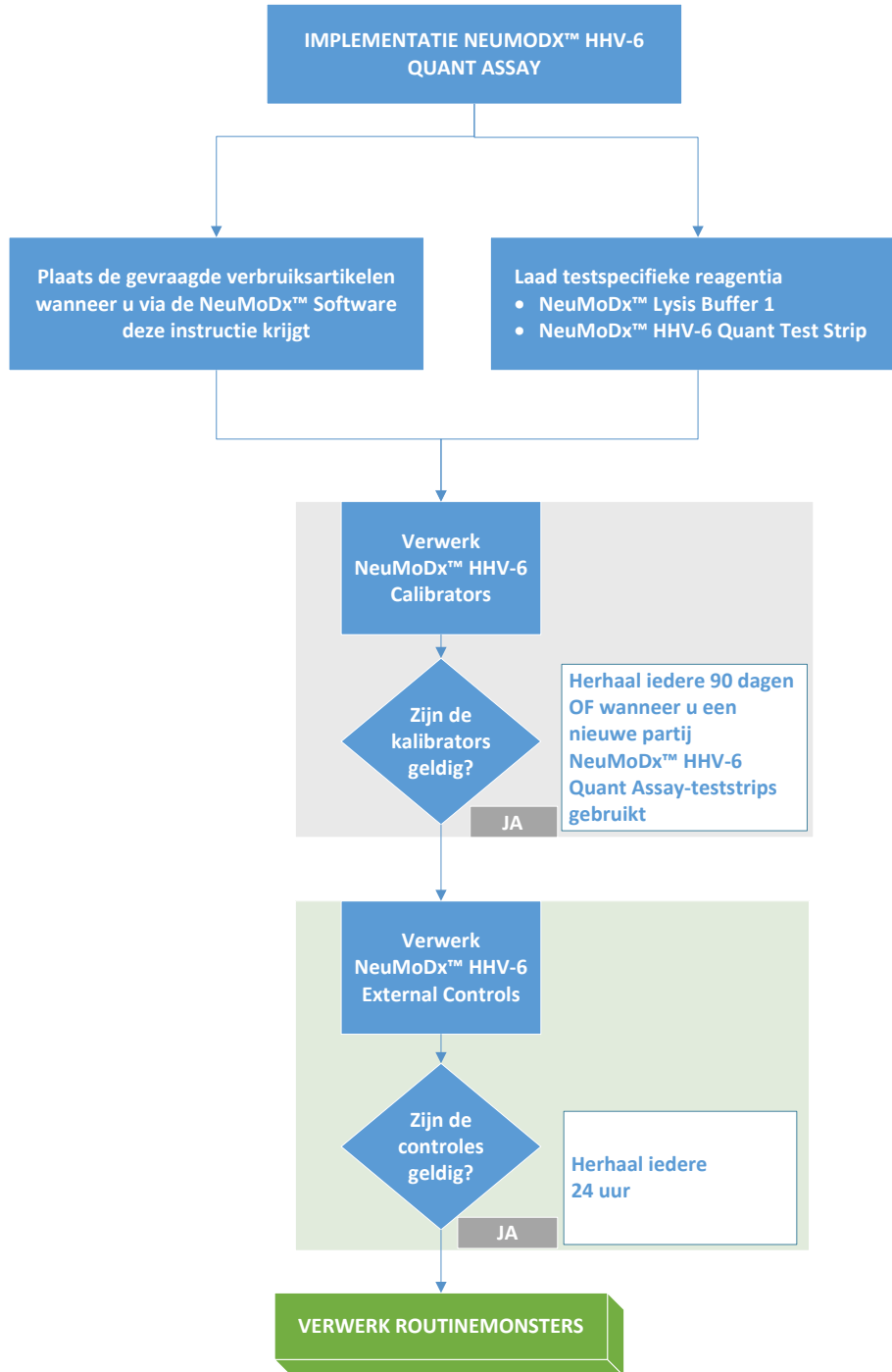
- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips blijven in de primaire verpakking bij een temperatuur van +15 °C/+30 °C tot de op het productlabel vermelde uiterste gebruiksdatum stabiel.
- Een NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip die in het NeuMoDx™ System is geplaatst, is 32 dagen stabiel; de software van het NeuMoDx™ System geeft een melding wanneer gebruikte teststrips langer dan 32 dagen in het NeuMoDx™ System zijn geplaatst en geeft aan dat er nieuwe NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips in het NeuMoDx™ System moeten worden geplaatst (de strips moeten uit de zak worden gehaald). Haal de aluminiumfolie niet van de strip wanneer deze in de teststripdrager wordt geplaatst.
- De NeuMoDx™ HHV-6-kalibrators en controles zijn niet-infectieus, maar moeten na gebruik worden weggegooid in de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval, omdat ze doelmateriaal bevatten waardoor er besmetting kan plaatsvinden als ze niet correct worden behandeld.

AFNAME, TRANSPORT EN OPSLAG VAN SPECIMENS

1. Hanteer alle specimen alsof ze infectieuze agentia zouden kunnen overdragen.
2. Vries geen volbloed- of plasmaspecimen in die in primaire buisjes worden bewaard.
3. Voor het bereiden van plasmaspecimen moet volbloed worden afgenomen in steriele buisjes met EDTA als antistollingsmiddel. Volg de instructies van de fabrikant van de buisjes voor specimenafname.

4. Volbloed dat is afgenomen met de bovengenoemde hulpmiddelen kan maximaal 24 uur worden bewaard en/of getransporteerd bij een temperatuur van +2 °C/+8 °C voorafgaand aan het bereiden van het plasma. Monsters moeten worden bereid conform de instructies van de fabrikant.
5. Bereid plasma kan maximaal 24 uur in het NeuMoDx™ System worden bewaard voorafgaand aan de verwerking. Als bijkomende opslagtijd vereist is, wordt aanbevolen dat de specimens worden gekoeld of bevroren als secundaire aliquots.
6. Bewaar bereide plasmaspecimens voorafgaand aan het testen maximaal 8 dagen bij +2 °C/+8 °C en maximaal 24 uur bij kamertemperatuur.
7. Bereide specimens kunnen voorafgaand aan verwerking maximaal 8 weken worden bewaard bij een temperatuur van < -20 °C. Monsters dienen niet aan meer dan 2 cycli van invriezen/ontdooien te worden onderworpen voorafgaand aan gebruik:
 - a. Als de monsters bevroren zijn, laat u ze voorafgaand aan het testen bij kamertemperatuur (+15 °C/+30 °C) volledig ontdooien; vortex om een gelijkmatig verdeeld monster te verkrijgen.
 - b. Zodra de bevroren monsters ontdooit zijn, dienen de tests binnen 24 uur te worden uitgevoerd.
8. Als specimens worden verzonden, moeten ze worden verpakt en gelabeld conform de toepasselijke landelijke en/of internationale regelgeving.
9. Label de specimens duidelijk en geef aan dat ze moeten worden getest op HHV-6A en/of HHV-6B.
10. Ga verder met de instructies in de paragraaf *Testvoorbereiding*.

Het volledige implementatieproces van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay is samengevat in *afbeelding 1*.



Afbeelding 1: Workflow voor de toepassing van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.

GEBRUIKSAANWIJZING

Testvoorbereiding

Voor plasmamonsters kan de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay rechtstreeks worden uitgevoerd met primaire bloedafnamebuisjes of met specimenaliquots in secundaire buisjes.

1. Breng het barcodelabel aan op een specimenbuisje dat compatibel is met het NeuMoDx™ System. Het primaire bloedafnamebuisje kan worden gelabeld en direct in de betreffende specimenbuisjesdrager worden geplaatst, na centrifugatie volgens de richtlijnen van de fabrikant.
2. Als u het plasmaspecimen in het primaire afnamebuisje test, plaatst u het buisje met barcode in een specimenbuisjesdrager. Zorg er daarbij voor dat de dop is verwijderd alvorens het buisje in het NeuMoDx™ System te plaatsen. De minimale volumes **boven** gel/buffy-laag worden hieronder gedefinieerd en er is aan voldaan indien specimens worden verzameld en verwerkt volgens de instructies van de fabrikant van de buisjes. De prestaties worden niet gegarandeerd voor verkeerd verzamelde specimens.
3. Voor plasmamonsters in een secundair buisje brengt u een aliquot van het specimen over naar een specimenbuisje dat voorzien is van een barcode en dat compatibel is met het NeuMoDx™ System (zie hieronder voor het juiste volume):

Specimenbuisjesdrager	Grootte buisje	Minimaal vereist specimenvolume
Specimenbuisjesdrager voor 32 buisjes	Diameter 11–14 mm met hoogte 60–120 mm	750 µl
Specimenbuisjesdrager voor 24 buisjes	Diameter 14,5-18 mm met hoogte 60–120 mm	1100 µl
Specimenbuisjesdrager met laag volume	Microcentrifugebuisje van 1,5 ml met conische bodem	650 µl

Bediening van het NeuMoDx™ System

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van de NeuMoDx™ 288 en 96 Molecular Systems (o/n 40600108 en 40600317) voor gedetailleerde instructies.

1. Laad de testopdracht op het NeuMoDx™ System aan de hand van het gewenste type buisje.
2. Snijd de aluminium zakken van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips open aan de ingekeepte kant.
3. Haal de strips onmiddellijk voor gebruik uit de zakken.
4. Voordat u de zakken gebruikt, moet u altijd controleren of ze goed afgedicht zijn en het zakje met droogmiddel er nog in zit. Gebruik uitsluitend zakken die niet beschadigd zijn.
5. Verwijder de aluminium zakken en hun inhoud indien het zakje met droogmiddel van oranje verandert in groen.
6. Plaats NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip(s) in een of meer NeuMoDx™ System-teststripdrager(s) en plaats deze met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx™ System.
7. Plaats de benodigde verbruiksartikelen in de betreffende dragers van het NeuMoDx™ System als de software van het NeuMoDx™ System dat aangeeft. Laad de dragers vervolgens met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx™ System.
8. Vervang het NeuMoDx™ Wash Reagent en het NeuMoDx™ Release Reagent en leeg het primerafval en de container voor biologisch gevaarlijk afval (alleen NeuMoDx 288 Molecular System), de bak voor tipafval (alleen NeuMoDx™ 96 Molecular System) of de afvalbak voor biologisch gevaarlijk afval (alleen NeuMoDx™ 96 Molecular System) als u de instructie hiervoor krijgt op het scherm van het NeuMoDx™ System.
9. Verwerk de Calibrators (REF 801000) en/of External Controls (REF 901000) als u de instructie hiervoor krijgt via de software van het NeuMoDx™ System. Meer informatie over kalibrators en controles vindt u terug in de paragraaf Resultaten verwerken.
10. Plaats de kalibrator-/controlebuisjes in een standaarddrager voor 32 buisjes en controleer of alle dopjes van de buisjes zijn verwijderd.
11. Plaats de specimenbuisjesdrager(s) in het autoladerrek, controleer of de doppen van alle buisjes zijn verwijderd en plaats de drager(s) met behulp van het aanraakscherm in het NeuMoDx™ System. Omdat er een geldige testopdracht in het systeem aanwezig is, wordt hierdoor de verwerking van de geladen specimens voor de aangegeven test(s) gestart.

BEPERKINGEN

- De NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip kan alleen in NeuMoDx™ Systems worden gebruikt.
- De prestaties van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip zijn vastgesteld voor plasmaspecimens die zijn bereid met volbloed dat is afgenomen met EDTA als antistollingsmiddel. Het gebruik van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip met andere specimensoorten is niet beoordeeld en de prestatiekenmerken van de test voor andere soorten specimens zijn onbekend.
- De NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay mag niet worden gebruikt met monsters van gehepariniseerde mensen.
- Aangezien detectie van HHV-6A- en/of HHV-6B-DNA afhankelijk is van het aantal organismen dat in het monster aanwezig is, is de betrouwbaarheid van de resultaten afhankelijk van de manier waarop specimens worden afgenomen, gehanteerd en opgeslagen.
- Foutieve resultaten kunnen worden veroorzaakt door onjuiste afname, hantering of opslag van specimens, door technische fouten of door het door elkaar halen van specimenbuisjes. Bovendien kunnen fout-negatieve resultaten voorkomen wanneer het aantal virusdeeltjes in het monster lager is dan de detectielimiet van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.
- Het bedienen van het NeuMoDx™ System mag alleen worden uitgevoerd door medewerkers die zijn getraind in het gebruik van het NeuMoDx™ System.
- Als de HHV-6A-, HHV-6B- en SPC1-targets niet geamplificeerd worden, wordt er een ongeldig resultaat (Indeterminate [Onbepaald] of Unresolved [Onbekend]) gerapporteerd en moet de test worden herhaald.
- Als er een systeemfout optreedt voor de monsterverwerking wordt voltooid, wordt 'No Result' (Geen resultaat) gemeld en moet de test worden herhaald.
- Als het resultaat van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay positief is, maar de kwantificeringswaarde niet binnen het kwantificeringsbereik ligt, geeft het NeuMoDx™ System aan of de gedetecteerde waarde van het HHV-6A- en/of HHV-6B-DNA lager dan de ondergrens voor kwantificering (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) was of hoger dan de bovengrens voor kwantificering (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Als de gedetecteerde waarde van HHV-6A- en/of HHV-6B-DNA hoger dan de ULoQ was, kan de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay worden herhaald met een verdund aliquot van het oorspronkelijke specimen. Een verdunding van 1:100 of 1:1000 in HHV-6A- en HHV-6B-DNA-negatief plasma of Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare, Milford, MA) is aanbevolen. Zolang voorafgaand aan herhaling de juiste verdunningsfactor is geselecteerd in de software, berekent het systeem automatisch de concentratie van het oorspronkelijke specimen op de volgende manier: Oorspronkelijke concentratie specimen = \log_{10} (verdunningsfactor) + gerapporteerde concentratie van het verdunde monster, mits de verdunningsfactor vooraf herhaling juist in de software is geselecteerd.
- De incidentele aanwezigheid van PCR-remmers in plasma kan resulteren in een kwantificeringsfout in het systeem. Als dat gebeurt, wordt aanbevolen om de test te herhalen met hetzelfde specimen, verdund in Basematrix in een verhouding van 1:10 of 1:100.
- Een positief resultaat is niet altijd een indicatie voor de aanwezigheid van levende organismen. Een positief resultaat duidt echter de aanwezigheid van HHV-6A- en/of HHV-6B-DNA aan.
- Verwijdering of mutaties in de geconserveerde gebieden waar de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay zich op richt, kunnen gevolgen hebben voor de detectie of kunnen tot een foutief resultaat leiden bij gebruik van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip.
- De resultaten van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay moeten door de arts worden beschouwd als aanvulling op klinische observaties en overige beschikbare informatie. De test is niet bedoeld voor het diagnosticeren van de infectie.
- Gebruik de goede laboratoriumpraktijken, zoals het aantrekken van nieuwe handschoenen bij het hanteren van specimens van verschillende patiënten, om besmetting te voorkomen.

RESULTATEN VERWERKEN

Beschikbare resultaten kunnen worden bekeken of afgedrukt vanuit het tabblad 'Results' (Resultaten) in het venster Results (Resultaten) op het aanraakscherm van het NeuMoDx™ System. De resultaten van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay worden automatisch gegenereerd door de software van het NeuMoDx™ System, dat gebruikmaakt van het beslissingsalgoritme en de resultaatverwerkingsparameters die in het NeuMoDx™ HHV-6-assaydefinitiebestand worden vermeld. Een NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay-resultaat kan worden gerapporteerd als Negative (Negatief), Positive (Positief) met een gerapporteerde HHV-6A- en/of HHV-6B-concentratie, Positive (Positief) boven ULoQ, Positive (Positief) onder LLoQ, Indeterminate (Onbepaald; IND), Unresolved (Onbekend; UNR) of No Result (Geen resultaat; NR), afhankelijk van de amplificatiestatus van het doelmateriaal en de monsterverwerkingscontrole. Resultaten worden gerapporteerd op basis van het ADF-algoritme voor verwerking van resultaten, volgens het overzicht in de onderstaande *tabel 1*.

De resultaten van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip moeten worden geïnterpreteerd samen met andere klinische en laboratoriumbevindingen.

Tabel 1: Overzicht van de interpretatie van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay-resultaten

Resultaat	HHV-6A/HHV-6B	Monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control; SPC1)	Interpretatie van het resultaat
Positive (Positief) met gerapporteerde concentratie	Amplified (Geamplificeerd) $2,30 \leq [\text{HHV-6A}] \leq 6,0 \log_{10} \text{kopieën/ml}$	Amplified (Geamplificeerd) of Not Amplified (Niet geamplificeerd)	HHV-6A-DNA gedetecteerd binnen kwantitatief bereik
	Amplified (Geamplificeerd) $2,30 \leq [\text{HHV-6B}] \leq 6,0 \log_{10} \text{IE/ml}$	Amplified (Geamplificeerd) of Not Amplified (Niet geamplificeerd)	HHV-6B-DNA gedetecteerd binnen kwantitatief bereik
Positive (Positief), hoger dan bovengrens voor kwantificering [Upper Limit of Quantitation, ULoQ]	Amplified (Geamplificeerd) $[\text{HHV-6A}] > 6,0 \log_{10} \text{kopieën/ml}$	Amplified (Geamplificeerd) of Not Amplified (Niet geamplificeerd)	HHV-6A-DNA gedetecteerd boven kwantitatief bereik
	Amplified (Geamplificeerd) $[\text{HHV-6B}] > 6,0 \log_{10} \text{IE/ml}$	Amplified (Geamplificeerd) of Not Amplified (Niet geamplificeerd)	HHV-6B-DNA gedetecteerd boven kwantitatief bereik
Positive (Positief), lager dan ondergrens voor kwantificering [Lower Limit of Quantitation, LLoQ]	Amplified (Geamplificeerd) $[\text{HHV-6A}] < 2,30 \log_{10} \text{kopieën/ml}$	Amplified (Geamplificeerd) of Not Amplified (Niet geamplificeerd)	HHV-6A-DNA gedetecteerd onder kwantitatief bereik
	Amplified (Geamplificeerd) $[\text{HHV-6B}] < 2,30 \log_{10} \text{IE/ml}$	Amplified (Geamplificeerd) of Not Amplified (Niet geamplificeerd)	HHV-6B-DNA gedetecteerd onder kwantitatief bereik
Negative* (Negatief*)	Not Amplified (Niet geamplificeerd)	Amplified (Geamplificeerd)	HHV-6A-/HHV-6B-DNA niet gedetecteerd
Indeterminate (Onbepaald)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Niet geamplificeerd, Systeemfout gedetecteerd, Monsterverwerking voltooid)		Alle doelresultaten waren ongeldig; test het monster opnieuw†
No Result (Geen resultaat)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Niet geamplificeerd, Systeemfout gedetecteerd, Monsterverwerking afgebroken)		Verwerking van het monster werd afgebroken; test het monster opnieuw†
Unresolved (Onbekend)	Not amplified, No System Error Detected (Niet geamplificeerd, Geen systeemfout gedetecteerd)		Alle doelresultaten waren ongeldig; test het monster opnieuw†

*Zoals bij andere tests sluiten negatieve resultaten een HHV-6A- en/of HHV-6B-infectie niet uit.

†Het NeuMoDx™ System is uitgerust met een functie voor automatische Rerun (Opnieuw uitvoeren)/Repeat (Herhalen) die de eindgebruiker kan gebruiken om ervoor te zorgen dat een IND (Onbepaald)/NR (Onbekend)/UNR (Geen resultaat) resultaat automatisch opnieuw wordt verwerkt om vertragingen in de resultaatrapportage zoveel mogelijk te beperken.

Testberekening

- Voor monsters binnen het kwantificeringsbereik van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay wordt de concentratie HHV-6A-DNA en HHV-6B-DNA in de monsters berekend met behulp van de relatieve opgeslagen standaardcurven in combinatie met de kalibratiecoëfficiënten.
 - Een kalibratiecoëfficiënt wordt berekend op basis van de resultaten van de NeuMoDx™ HHV-6 Calibrators die zijn verwerkt om de validiteit van de standaardcurve vast te stellen voor een specifieke partij NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips met een specifiek NeuMoDx™ System, voor elke target.
 - De kalibratiecoëfficiënt wordt mee opgenomen in de uiteindelijke bepaling van de concentratie HHV-6A-DNA en HHV-6B-DNA.
- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay resultaten worden gerapporteerd in \log_{10} kopieën/ml en kopieën/ml voor de HHV-6A-target en in \log_{10} IE/ml en IE/ml voor de HHV-6B-target.
- De resulterende kwantificering van de onbekende monsters is herleidbaar naar het EDX HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics), gekwantificeerd door middel van digitale druppel-PCR (digital droplet PCR; ddPCR) en naar de 1^e internationale norm van de WHO voor HHV-6B-virus-DNA (National Institute for Biological Standards and Control, NIBSC-code: 15/266).

Testkalibratie

Om HHV-6A-DNA en/of HHV-6B-DNA in de specimens te kunnen kwantificeren, moet er een geldige kalibratie worden uitgevoerd op basis van de standaardcurve. Om geldige resultaten te genereren, moet voor zowel HHV-6A als HHV-6B een testkalibratie worden uitgevoerd met behulp van door NeuMoDx™ Molecular, Inc. geleverde kalibrators.

Kalibrators

1. NeuMoDx[™] HHV-6 Calibrators worden geleverd in een kit (REF 801000) en bestaan uit een gedroogde pallet van synthetisch HHV-6A-DNA en HHV-6B-DNA, evenals een specifieke buffer.
2. Bij elke nieuwe partij NeuMoDx[™] HHV-6 Quant Test Strips, wanneer een nieuw HHV-6-assaydefinitiebestand naar het NeuMoDx[™] System wordt geüpload, wanneer de validiteitsperiode van de huidige set kalibrators is verstreken (momenteel ingesteld op 90 dagen) of wanneer de software van het NeuMoDx[™] System is gewijzigd, moet een set HHV-6-kalibrators worden verwerkt.
3. De software van het NeuMoDx[™] System geeft een melding wanneer de kalibrators moeten worden verwerkt. Er kan geen nieuwe partij teststrips worden gebruikt voor het uitvoeren van tests voordat de kalibrators zijn verwerkt.
4. Indien een nieuwe set van HHV-6-kalibrators verwerkt moet worden, leest u alle instructies in de bijsluiters van de NeuMoDx[™] HHV-6 Calibrators voordat u de test uitvoert.
5. De kalibratievaliditeit wordt als volgt vastgesteld:
 - a. Er moeten twee coëfficiënten worden gegenereerd: een voor HHV-6A en een voor HHV-6B door een set van twee kalibrators voor elke target (hoog en laag) te verwerken om geldigheid voor elke curve vast te stellen.
 - b. Om geldige resultaten te genereren, moeten ten minste 2 van de 3 replica's resultaten opleveren die zich binnen de vooraf gedefinieerde parameters bevinden. De nominale target van de lage kalibrator is $3,0 \log_{10}$ kopieën/ml en de nominale target van de hoge kalibrator is $5,0 \log_{10}$ kopieën/ml voor de HHV-6A-kalibratorset, terwijl de nominale target van de lage kalibrator $3,0 \log_{10}$ IE/ml en de nominale target van de hoge kalibrator $5,0 \log_{10}$ IE/ml is voor de HHV-6B-kalibratorset.
 - c. De kalibratiecoëfficiënt wordt berekend om de verwachte variatie tussen teststrippartijen te verklaren; deze kalibratiecoëfficiënt wordt gebruikt bij het bepalen van de uiteindelijke HHV-6A- en/of HHV-6B-concentratie.
6. Als één of beide kalibrators ongeldig worden verklaard, herhaalt u de verwerking van de ongeldige kalibrator(s) met een nieuwe flacon. Als één kalibrator de validiteitstest niet heeft doorstaan, kunt u de test ook alleen met de gefaalde kalibrator herhalen, omdat het niet vereist is dat de gebruiker beide kalibrators opnieuw test.
7. Als de kalibrator(s) twee opeenvolgende keren ongeldig worden verklaard, neemt u contact op met de technische diensten van QIAGEN.

Kwaliteitscontrole

Lokale regelgeving stelt meestal dat het laboratorium verantwoordelijk is voor controleprocedures om de nauwkeurigheid en precisie van het gehele analyseproces te bewaken. Ook moet zij het aantal, type en de frequentie van testcontrolemiddelen vaststellen met behulp van geverifieerde werkingspecificaties voor een niet-gemodificeerd, goedgekeurd testsysteem.

Externe controles

1. HHV-6A en HHV-6B External Controls (REF 901000) worden verstrekt door NeuMoDx™. De positieve controles bevatten een gedroogde pellet van synthetisch HHV-6A- en HHV-6B-DNA. De negatieve controle is buffer.
2. Positieve en negatieve externe controles moeten iedere 24 uur worden verwerkt. Als er geen set met geldige externe controles bestaat, attendeert de software van het NeuMoDx™ System de gebruiker erop dat deze controles moeten worden verwerkt voordat monsterresultaten kunnen worden gerapporteerd.
3. Indien externe controles vereist zijn, bereidt u de positieve en negatieve controles zoals beschreven in de bijsluiter van de HHV-6 External Controls voordat u de test uitvoert.
4. Plaats de positieve en negatieve controle in het NeuMoDx™ System met behulp van het aanraakscherm en een specimenbuisjesdrager die op het autoladerrek is geplaatst. Het NeuMoDx™ System herkent de barcode en begint met de verwerking van de externe controlebuisjes, tenzij de voor de test benodigde reagentia of verbruiksartikelen niet aanwezig zijn.
5. De validiteit van externe controles wordt door het NeuMoDx™ System beoordeeld op basis van het verwachte resultaat. De positieve controle dient een HHV-6A en HHV-6B Positive (Positief) resultaat op te leveren en de negatieve controle een HHV-6A en HHV-6B Negative (Negatief) resultaat.
6. In geval van afwijkende resultaten bij externe controles doet u het volgende:
 - a. Een Positive (Positief) testresultaat dat voor een negatief controlemonster is gerapporteerd, duidt een probleem met betrekking specimencontaminatie aan, en de kwaliteitscontroleprocedures van het laboratorium moeten onderzocht worden om een grondoorzaak vast te stellen. Zorg dat u gebruikmaakt van afzonderlijke gebieden voor monsterbereiding, controleverwerking en realtime PCR-opstelling. Raadpleeg de *Gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288/96 Molecular System* voor aanvullende adviezen over probleemoplossing.
 - b. Een Negative (Negatief) testresultaat dat wordt gerapporteerd voor een positieve-controlemonster kan duiden op een probleem met reagentia of het instrument.
 - c. In beide bovengenoemde gevallen of bij een No Result (Geen resultaat; NR), Unresolved (Onbekend; UNR) of Indeterminate (Onbepaald; IND) resultaat herhaalt u de mislukte controle(s) met een nieuwe ontdoode flacon van de controle(s) die de validiteitstest niet heeft/hebben doorstaan.
 - d. Als de positieve NeuMoDx™ HHV-6 External Controls een Negative (Negatief) resultaat blijft opleveren, neemt u contact op met de technische ondersteuning van QIAGEN.
 - e. Als de negatieve NeuMoDx™ HHV-6 External Controls een Positive (Positief) resultaat blijft opleveren, probeert u alle mogelijke besmettingsbronnen te verwijderen, onder meer door ALLE reagentia te vervangen. Neem contact op met de technische ondersteuning van QIAGEN als het probleem aanhoudt.
7. Indien de externe controles niet de verwachte resultaten leveren, moet een set positieve en negatieve controles worden herhaald. Monsters worden niet verwerkt tot een geldige set externe controles door het systeem wordt verwerkt. In het geval dat monsters worden verwerkt terwijl de externe controles vervallen, vereist het systeem dat er een geldige set externe controles wordt uitgevoerd. Indien de set externe controles geen geldige resultaten levert, worden de monsterresultaten niet gerapporteerd.

(Interne) monsterverwerkingscontroles

Een exogene monsterverwerkingscontrole (Sample Process Control, SPC1) is in de NeuMoDx™ Extraction Plate opgenomen en ondergaat met elk monster/elke controle/elke kalibrator het hele proces van nucleïnezuurextractie en realtime PCR-amplificatie. De SPC1-specifieke primers en probe zijn opgenomen in elke NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, waardoor de aanwezigheid van SPC1 en het doel-HHV-6A- en/of -HHV-6B-DNA (indien aanwezig) kan worden gedetecteerd via multiplex realtime PCR. Detectie van SPC1-amplificatie zorgt ervoor dat de software van het NeuMoDx™ System de doeltreffendheid van de DNA-extractie en PCR-amplificatieprocessen kan monitoren.

Ongeldige resultaten

Als een NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay die met het NeuMoDx™ System is uitgevoerd geen geldig resultaat oplevert, wordt dit gerapporteerd als Indeterminate (Onbepaald; IND), No Result (Geen resultaat; NR), Unresolved (Onbekend; UNR), afhankelijk van de fout die is opgetreden. De test moet worden herhaald om een geldig resultaat te leveren.

Een resultaat wordt gerapporteerd als Indeterminate (Onbepaald) als er een fout wordt gedetecteerd bij het NeuMoDx™ System tijdens de verwerking van het monster. Wanneer een IND-resultaat wordt gerapporteerd, wordt aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren.

Een resultaat wordt gerapporteerd als No Result (Geen resultaat) als er een fout wordt gedetecteerd bij het NeuMoDx System en de verwerking van het monster wordt afgebroken. In het geval van No Result (Geen resultaat) wordt aanbevolen om de test opnieuw uit te voeren.

Een resultaat wordt gerapporteerd als UNR (Unresolved; Onbekend) als er geen doel is gedetecteerd en er geen amplificatie van het HHV-6A-DNA, HHV-6B-DNA of de SPC1 heeft plaatsgevonden. Dit wijst mogelijk op een reagensdefect of de aanwezigheid van remmers. Als er een UNR-resultaat wordt gerapporteerd, kunt u als eerste proberen om de test opnieuw uit te voeren. Als deze test ook een ongeldig resultaat oplevert, kan een verdund specimen worden gebruikt om de effecten van eventuele monsterremming te verminderen (zie de paragraaf beperkingen voor verdere instructies).

Raadpleeg de gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 288 Molecular System (O/N: 40600108) of de gebruiksaanwijzing van het NeuMoDx 96 Molecular System (O/N: 40600317) voor een lijst van de foutcodes die kunnen optreden bij Ongeldige resultaten.

PRESTATIEKENMERKEN^{10,11,15}

Analytische gevoeligheid – Detectielimiet¹²

De analytische gevoeligheid van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay werd gekenmerkt door het testen van een verdunningsreeks van het EDX HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) en het HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics, gekalibreerd in overeenstemming met de 1e internationale norm van de WHO voor HHV-6B, 15/266) in HHV-6A-/HHV-6B-negatieve plasmamonsters, om de detectielimiet (Limit of Detection; LoD) in de NeuMoDx™ Systems te bepalen. De detectielimiet wordt gedefinieerd als de minimale detecteerbare concentratie met een trefpercentage van 95%. Deze wordt berekend door een probitanalyse toe te passen op experimentele gegevens, met een betrouwbaarheidsinterval (BI) van 95%. Het onderzoek werd uitgevoerd over een periode van 3 dagen, met meerdere systemen en met meerdere partijen NeuMoDx™-reagentia. Elk systeem verwerkte 42 replica's van elke verdunningsconcentratie (positieve monsters) en 8 replica's voor negatieve monsters per dag. De detectiepercentages zijn weergegeven in tabel 2.

Tabel 2: Positieve detectiepercentages voor de bepaling van de LoD van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

HHV-6A					HHV-6B				
Doelconcentratie [kopieën/ml]	Doelconcentratie [log ₁₀ kopieën/ml]	Aantal geldige tests	Aantal positieve	Detectiepercentage	Doelconcentratie [IE/ml]	Doelconcentratie [log ₁₀ IE/ml]	Aantal geldige tests	Aantal positieve	Detectiepercentage
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%

Aan de hand van de probitanalyse werd de LoD van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay vastgesteld op 123,5 kopieën/ml (2,09 log₁₀ kopieën/ml) (95% betrouwbaarheidsinterval: 102,1 tot 145,0 kopieën/ml) voor HHV-6A en 178,2 IE/ml (2,25 log₁₀ IE/ml) (95% betrouwbaarheidsinterval: 151,3 tot 205,0 IE/ml) voor HHV-6B.

Analytische gevoeligheid – Ondergrens voor kwantificering (Lower Limit of Quantitation; LLoQ) en bovengrens voor kwantificering (Upper Limit of Quantitation; ULoQ)¹²

De ondergrens voor kwantificering (Lower Limit of Quantitation; LLoQ) en bovengrens voor kwantificering (Upper Limit of Quantitation; ULoQ) zijn vastgesteld als de laagste en hoogste doelconcentratie waarbij er een detectie is van > 95% EN een TAE van ≤ 1,0. Om de LLoQ en ULoQ te bepalen, werd de totale analytische fout (Total Analytical Error; TAE) berekend voor elke HHV-6A- en HHV-6B-doelconcentratie waarbij er een detectie van > 95% werd gerapporteerd als onderdeel van de detectielimiettest. TAE wordt als volgt gedefinieerd:

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

De vertekening is de absolute waarde van het verschil tussen het gemiddelde van de berekende concentratie en de verwachte concentratie. SD verwijst naar de standaardafwijking (Standard Deviation) van de gekwantificeerde waarde van het monster.

De verzamelde resultaten voor de 5 niveaus van HHV-6A-/HHV-6B-plasmascapies die bij het LLoQ/ULoQ-onderzoek werden gebruikt, zijn weergegeven in tabel 3 en 4. Op basis van deze gegevens en de eerder bepaalde LoD werden de LLoQ en ULoQ bepaald op 200 kopieën/ml (2,30 log₁₀ kopieën/ml) en 1x10⁶ kopieën/ml voor HHV-6A en 200 IE/ml (2,30 log₁₀ IE/ml) en 1x10⁶ IE/ml voor HHV-6B.

Tabel 3: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip; ULoQ en LLoQ van HHV-6A, met vertekening en TAE

Doelconc. [kopieën/ml]	Doelconc. [log ₁₀ kopieën/ml]	Gemiddelde conc. [log ₁₀ kopieën/ml]	Detectie (%)	SD	Vertekening	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.v.t.	0,87	N.v.t.

Tabel 4: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip; ULoQ en LLoQ van HHV-6B, met vertekening en TAE

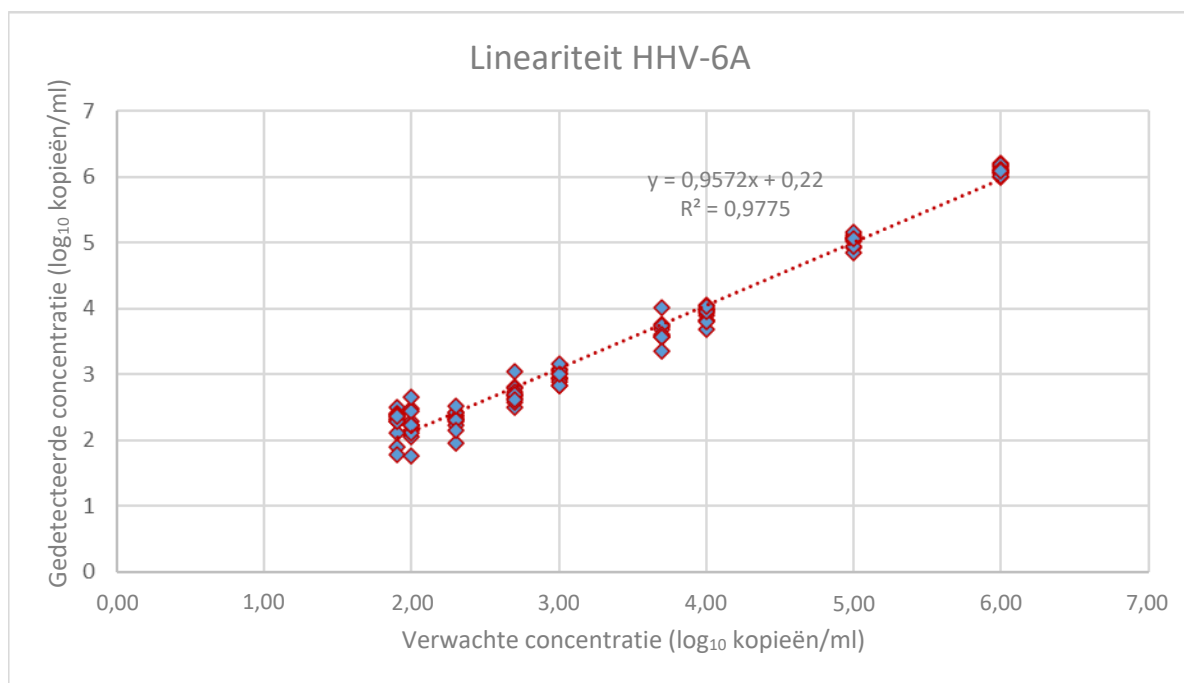
Doelconc. [IE/ml]	Doelconc. [\log_{10} IE/ml]	Gemiddelde conc. [\log_{10} IE/ml]	Detectie (%)	SD	Vertekening	TAE
10^6	6,00	6,06	100%	0,32	0,06	0,71
200	2,30	2,12	95,7%	0,22	0,18	0,62
100	2,00	2,04	57,1%	0,24	0,04	0,52
80	1,90	1,99	43,2%	0,26	0,08	0,61
60	1,78	1,92	32,6%	0,26	0,15	0,67
40	1,60	1,79	11,6%	0,22	0,19	0,62

Op basis van het resultaat van deze onderzoeken werd de LoD van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay bepaald op 123,5 kopieën/ml ($2,09 \log_{10}$ kopieën/ml) voor HHV-6A en 178,2 IE/ml ($2,25 \log_{10}$ IE/ml) voor HHV-6B. De LoQ was 200 kopieën/ml ($2,30 \log_{10}$ kopieën/ml) voor HHV-6A en 200 IE/ml ($2,30 \log_{10}$ IE/ml) voor HHV-6B. De ULoQ is 1×10^6 kopieën/ml voor HHV-6A en 1×10^6 IE/ml voor HHV-6B.

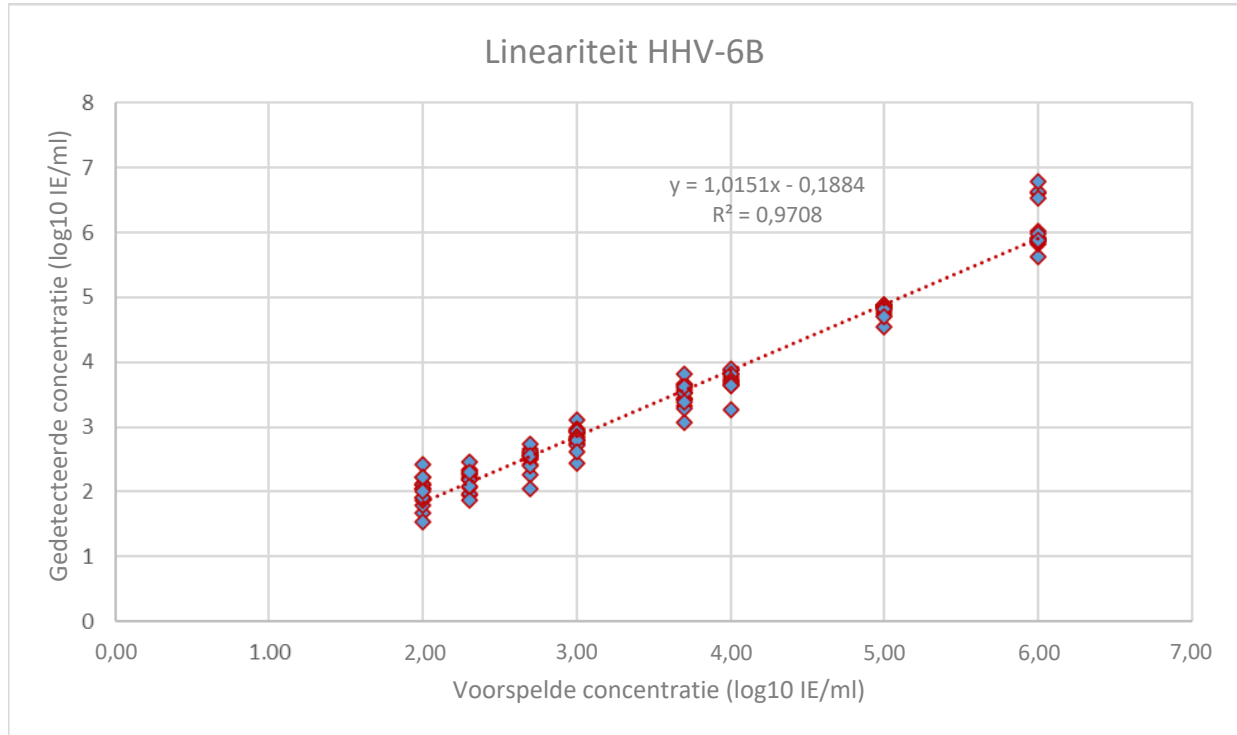
Lineariteit¹³

De lineariteit van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip werd bepaald in plasma door een verdunningsreeks te bereiden met behulp van het HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) en het EDX HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics). Acht (8) seriële verdunningen van HHV-6A-/HHV-6B-panels, bereid in HHV-6A-/HHV-6B-negatief menselijk plasma, zijn aangemaakt om een concentratiebereik van $6 - 2 \log_{10}$ kopieën/ml te dekken.

De vergelijking tussen de HHV-6A-/HHV-6B-assayconcentraties die door het NeuMoDx™ System werden gerapporteerd en de verwachte waarden worden weergegeven in afbeelding 2 en 3.



Afbeelding 2: Lineariteit van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay voor HHV-6A



Afbeelding 3: Lineariteit van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay voor HHV-6B

Analytische specificiteit – Kruisreactiviteit^{10, 11}

De analytische specificiteit is aangetoond door 22 organismen die vaak voorkomen in plasmaspecimens en soorten die fylogenetisch vergelijkbaar zijn met HHV-6A en HHV-6B te testen op kruisreactiviteit. De organismen werden onderverdeeld in groepen van 5/6 organismen en getest bij een hoge concentratie (3,48 log₁₀ kopieën/ml). De geteste organismen staan in tabel 5. Bij geen enkel getest organisme werd kruisreactiviteit waargenomen, waardoor bevestigd is dat de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay een analytische specificiteit van 100% heeft.

Tabel 5: Gebruikte pathogenen voor het aantonen van analytische specificiteit

Niet-doelorganismen					
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Humaan immunodeficiëntievirus-1	Hepatitis B-virus	Adenovirus type 5	Epstein-Barr-virus	Varicella-zostervirus	Enterovirus 68
BK-virus	Herpes simplex virus 1	Herpes simplex virus 2	Humaan gammaherpes virus 8	Cytomegalovirus	Humaan bètaherpesvirus 7
HTVL-1	HTVL-2	JC-virus	SV40	Humaan immunodeficiëntievirus-2	

Analytische specificiteit – Interfererende stoffen, commensale organismen^{10, 11}

De NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay werd beoordeeld op interferentie in de aanwezigheid van niet-doelorganismen met behulp van dezelfde organismegroepen die voor de kruisreactiviteitstest waren bereid, zoals hierboven beschreven in tabel 6. HHV-6A-/HHV-6B-negatief plasma werd verrijkt met 4-7 groepen organismen en verrijkt met HHV-6A-/HHV-6B-doelmateriaal met een concentratie van 2,78 log₁₀ IE/ml (600 IE/ml; 3x LoD). Er werd geen significante interferentie waargenomen in de aanwezigheid van deze commensale organismen, wat wordt aangeduid met de minimale afwijking in kwantificering met de controlespecimens die geen interfererend middel bevatten.

Analytische specificiteit – Interfererende stoffen, endogene en exogene stoffen^{10, 11}

De NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay werd beoordeeld in de aanwezigheid van typische exogene en endogene interfererende stoffen die in klinisch HHV-6A-/HHV-6B-plasma kunnen voorkomen. Dat waren onder meer abnormaal hoge waarden van bloedcomponenten en vaak voorkomende antivirale geneesmiddelen, die zijn geclassificeerd in tabel 6. Iedere stof werd toegevoegd aan gescreend HHV-6A-/HHV-6B-negatief menselijk plasma die was verrijkt met 2,78 log₁₀ IE/ml (600 IE/ml; 3x LoD) HHV-6A-/HHV-6B. Vervolgens werden de monsters geanalyseerd op interferentie.

De gemiddelde concentratie en vertekening van alle geteste stoffen in vergelijking met de controlemonsters die met dezelfde HHV-6A-/HHV-6B-concentratie waren verrijkt, zijn weergegeven in tabel 7. Geen van de exogene en endogene stoffen had invloed op de specificiteit van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.

Tabel 6: Interferentietests - Exogene stoffen (geneesmiddelclassificaties)

Pool	Naam van het geneesmiddel	Classificatie
Pool 1	Valganciclovir	ANTIVIRAAL MIDDEL
	Prednison	IMMUNOSUPPRESSIEF MIDDEL
	Cidofovir	ANTIVIRAAL MIDDEL
	Cefotaxim	ANTIBIOTICUM
	Mycofenolaatmofetil	IMMUNOSUPPRESSIEF MIDDEL
Pool 2	Vancomycine	ANTIBIOTICUM
	Tacrolimus	IMMUNOSUPPRESSIEF MIDDEL
	Famotidine	HISTAMINEANTAGONIST
	Valacyclovir	ANTIVIRAAL MIDDEL
	Leflunomide	IMMUNOSUPPRESSIEF MIDDEL

Tabel 7: Interferentietests - Exogene en endogene stoffen

Endoegen (plasma)	HHV-6A		HHV-6B	
	Gemiddelde conc.	Vertekening	Gemiddelde conc.	Vertekening
	log ₁₀ kopieën/ml	log ₁₀ kopieën/ml	log ₁₀ IE/ml	log ₁₀ IE/ml
Triglyceriden 500 (mg/dl)	1,91	0,24	2,10	-0,13
Geconjugeerde bilirubine (0,25 g/l)	2,14	0,01	2,07	-0,10
Ongeconjugeerde bilirubine (0,25 g/l)	1,71	0,44	1,61	0,37
Albumine (58,7 g/l)	2,27	-0,13	2,04	-0,06
Hemoglobine (2,9 g/l)	2,23	-0,08	1,98	-0,01
Humaan DNA (2 mg/ml)	1,74	0,41	1,86	0,12
Exoegen (geneesmiddelen)	Gemiddelde conc.	Vertekening	Gemiddelde conc.	Vertekening
	log ₁₀ kopieën/ml	log ₁₀ kopieën/ml	log ₁₀ IE/ml	log ₁₀ IE/ml
Pool 1: Valganciclovir, prednison, cidofovir, cefotaxim, mycofenolaatmofetil	1,65	0,28	2,07	0,06
Pool 2: Vancomycine, tacrolimus, famotidine, valacyclovir, leflunomide	2,18	-0,25	1,97	0,16

Herhaalbaarheid en precisie binnen het laboratorium¹⁴

De precisie van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip is bepaald door 2 replica's van een panel met 3 leden met HHV-6A-/HHV-6B-specimens bereid met HHV-6A- of HHV-6B-plasmide tweemaal per dag te testen, met behulp van één NeuMoDx™ 96 System over 20 dagen. De precisie binnen een run en binnen een dag werd gekenmerkt en de algehele standaardafwijking bedroeg $\leq 0,25$ log₁₀ kopieën/ml voor HHV-6A en $\leq 0,25$ log₁₀ IE/ml voor HHV-6B. Er werd een hoge precisie aangetoond binnen verschillende dagen of analyses, zoals weergegeven in tabel 8. Het verschil in precisie tussen bedieners is niet gekenmerkt, aangezien de bediener geen significante rol speelt bij het verwerken van monsters met het NeuMoDx™ System.

Tabel 8: Precisie binnen laboratorium – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay op NeuMoDx™ System 96

Monster	Herhaalbaarheid van SD	SD tussen runs	SD binnen een dag	SD tussen dagen	Algehele SD (binnen laboratorium)
HHV-6A					
5,67 log ₁₀ kopieën/ml	0,166	0,000	0,166	0,051	0,173
4,67 log ₁₀ kopieën/ml	0,071	0,000	0,071	0,048	0,086
3,67 log ₁₀ kopieën/ml	0,190	0,028	0,192	0,059	0,200
2,48 log ₁₀ kopieën/ml	0,151	0,051	0,159	0,000	0,159
HHV-6B					
5,14 log ₁₀ IE/ml	0,217	0,000	0,217	0,070	0,228
4,14 log ₁₀ IE/ml	0,155	0,000	0,155	0,056	0,165
3,14 log ₁₀ IE/ml	0,141	0,000	0,141	0,038	0,146
2,70 log ₁₀ IE/ml	0,225	0,079	0,239	0,000	0,239

Reproduceerbaarheid van partij tot partij¹⁴

De reproduceerbaarheid van partij tot partij van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip werd bepaald met drie verschillende partijen van NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strips. De prestaties zijn beoordeeld met een 4-ledenpaneel van HHV-6A en HHV-6B, bereid met het HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) of het EDX HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics) op één NeuMoDx™ 96 Molecular System in 5 afzonderlijke runs. De variatie binnen en tussen partijen werd geanalyseerd en de resultaten worden uitgedrukt als standaardafwijking tussen partijen, en weergegeven in *tabel 9*. De grootste maximale standaardafwijking bedroeg 0,257 kopieën/ml. Equivalente prestaties werden aangetoond tussen partijen, aangezien de standaardafwijking van alle panelleden binnen de gespecificeerde tolerantie lag (reproduceerbaarheid SD ≤ 0,3 log₁₀ kopieën/ml).

Tabel 9: Reproduceerbaarheid tussen partijen – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

Monster	Herhaalbaarheid van SD	SD tussen dagen	SD binnen partij	SD tussen partijen	Reproduceerbaarheid van SD
HHV-6A					
4,73x10 ⁵ kopieën/ml	0,160	0,061	0,171	0,073	0,186
4,73x10 ³ kopieën/ml	0,166	0,087	0,188	0,069	0,200
600 kopieën/ml	0,099	0,088	0,132	0,091	0,160
HHV-6B					
1,38x10 ⁵ IE/ml	0,199	0,161	0,256	0,025	0,257
1,38x10 ³ IE/ml	0,214	0,068	0,224	0,093	0,243
600 IE/ml	0,120	0,069	0,139	0,062	0,152

Reproduceerbaarheid van instrument tot instrument¹⁴

De reproduceerbaarheid van instrument tot instrument van de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip werd bepaald met drie verschillende systemen (één NeuMoDx™ 288 Molecular System en twee NeuMoDx™ 96 Molecular Systems). De prestaties zijn beoordeeld met een 4-ledenpaneel van HHV-6A/HHV-6B, bereid met het HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) of het EDX HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics). Het testen op de systemen vond gedurende 5 dagen plaats. De variatie binnen een dag en tussen systemen werd gekenmerkt en de algehele standaardafwijking bedroeg ≤ 0,30 log₁₀ kopieën/ml voor HHV-6A en ≤ 0,30 log₁₀ IE/ml voor HHV-6B. Equivalente prestaties werden aangetoond tussen verschillende systemen, aangezien de SD van de kwantificering van alle panelleden binnen de gespecificeerde tolerantie lag (tabel 10).

Tabel 10: Reproduceerbaarheid tussen instrumenten – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip

Monster	Herhaalbaarheid van SD	SD tussen dagen	SD binnen een systeem	SD tussen systemen	Reproduceerbaarheid van SD
HHV-6A					
5,67 log ₁₀ kopieën/ml	0,228	0,000	0,228	0,000	0,228
4,67 log ₁₀ kopieën/ml	0,149	0,000	0,149	0,021	0,151
3,67 log ₁₀ kopieën/ml	0,210	0,101	0,233	0,000	0,233
2,48 log ₁₀ kopieën/ml	0,157	0,079	0,176	0,000	0,176
HHV-6B					
5,14 log ₁₀ IE/ml	0,215	0,072	0,227	0,000	0,227
4,14 log ₁₀ IE/ml	0,259	0,014	0,260	0,023	0,261
3,14 log ₁₀ IE/ml	0,178	0,062	0,189	0,000	0,189
2,70 log ₁₀ IE/ml	0,149	0,079	0,169	0,000	0,169

LITERATUUR

- 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.
- 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.

HANDELSMERKEN















NeuMoDx™ is een handelsmerk van NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® is een gedeponerd handelsmerk van Roche Molecular Systems, Inc.

Seracare® is een gedeponerd handelsmerk van Seracare Life Sciences, Inc.

Alle andere productnamen, handelsmerken en gedeponerde handelsmerken die in dit document kunnen voorkomen, zijn eigendom van hun respectieve eigenaars.

SYMBOLLEN

SYMBOOL	BETEKENIS
	Gebruik uitsluitend op voorschrift
	Fabrikant
	Distributeur
	<i>In-vitro</i> diagnostisch medisch hulpmiddel
	Catalogusnummer
	Batchcode
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing
	Voorzichtig, raadpleeg de meegeleverde documentatie
	Temperatuurbeperving
	Droog bewaren
	Niet hergebruiken
	Niet blootstellen aan licht
	Inhoud voldoende voor <n> tests
	Uiterste gebruiksdatum



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)

Technische ondersteuning: support.qiagen.com
Alertheidsmeldingen: support.qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents