



202500 NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip

ATENȚIE: Doar pentru export din S.U.A.



A se utiliza pentru diagnosticarea *in vitro* cu sistemele NeuMoDx™ 288 și NeuMoDx™ 96 Molecular System

Acest prospect trebuie citit cu atenție înainte de utilizarea produsului. Instrucțiunile din prospect trebuie urmate în mod corespunzător.



Fiabilitatea rezultatelor analizei nu poate fi garantată dacă există abateri de la instrucțiunile din acest prospect. Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx™ 288 Molecular System; Nr.P. 40600108. Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx™ 96 Molecular System; Nr.P. 40600317



DOMENIUL DE UTILIZARE

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay este o testare automată, *in vitro* de amplificare a acidului nucleic, pentru cuantificarea și diferențierea ADN-ului virusului betaherpetic uman 6A (HHV-6A) DNA și/sau a ADN-ului virusului betaherpetic uman 6B (HHV-6B) în plasma în EDTA de la pacienți transplantați imunocompromiși^{1,2}.

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay efectuat pe NeuMoDx™ 288 Molecular System și NeuMoDx™ 96 Molecular System încorporează extracția automatizată a ADN-ului pentru a izola acizii nucleici țintă de eșantion și PCR în timp real pentru a viza două regiuni puternic conservate în genomurile HHV-6A și HHV-6B.

Analiza este destinată utilizării ca ajutor în monitorizarea nivelurilor de ADN de HHV-6A și/sau HHV-6B în plasma în EDTA. Această analiză este destinată utilizării împreună cu simptomele clinice și cu alți markeri de laborator ai evoluției bolii pentru gestionarea clinică și monitorizarea infecțiilor cu HHV-6A și/sau HHV-6B.

Analiza NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay nu este destinată utilizării ca testare de screening pentru prezența ADN-ului HHV-6A și/sau HHV-6B în sânge sau produși sanguini.

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay este destinat utilizării de către personalul instruit al laboratoarelor clinice, pregătit și instruit special în tehnicile PCR în timp real și procedurile de diagnosticare *in vitro* și/sau sistemele NeuMoDx™ Molecular System. NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay nu este destinat autotestării sau utilizării în locații din afara sistemului sanitar.

REZUMAT ȘI EXPLICAȚII

Sângele integral uman recoltat în eprubete sterile de recoltare a sângelui, care conțin EDTA ca agent de anticoagulare sau în eprubete pentru pregătirea plasmei (Plasma Preparation Tubes, PPT), poate fi folosit pentru pregătirea plasmei. Pentru inițierea testării, plasma, într-o eprubetă pentru eșantioane primară sau secundară compatibilă cu NeuMoDx™ System, este încărcată pe NeuMoDx™ System utilizând un suport dedicat de eprubete pentru eșantioane, pentru începerea procesării automate.

O parte alicotă de 550 μl de eșantion plasmatic este amestecată cu NeuMoDx™ Lysis Buffer 1, iar NeuMoDx™ System parcurge automat toate etapele necesare pentru extracția acizilor nucleici țintă, pregătește ADN-ul izolat pentru amplificare PCR în timp real și, dacă aceștia sunt prezenți, amplifică și detectează produșii de amplificare. NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay include o substanță de control pentru procesarea probei de ADN (Sample Process Control, SPC1), care să ajute la monitorizarea prezenței unor substanțe potențial inhibitoare, precum și a erorilor NeuMoDx™ System sau de reactiv, care pot fi întâlnite în timpul procesului de extracție și amplificare.

Virusul herpetic uman 6 (HHV-6) face parte din subfamilia virusului betaherpetic și cuprinde două specii diferite, HHV-6A și HHV-6B². Este un virus ADN, care are tropism pentru țesuturile sistemului nervos central, amigdale, glande salivare, rinichi, ficat, ganglioni limfatici, celule endoteliale și monocite/macrofage⁴. Sindromul primar asociat cu infecția cu HHV-6 este exantema subitum (roseola sau a șasea boală)^{1,2,3,4}. Aceasta este aproape exclusiv o boală a copilăriei și reprezintă 10 până la 30 % din vizitele la urgență ale copiilor cu vârsta sub 2 ani¹. Ca toate virusurile herpetice, HHV-6 poate stabili o latență pe toată durata vieții după infecția inițială, în celulele stem hematopoietice și în celulele germinale, printre altele, permițând astfel transmiterea pe orizontală și pe verticală². Acest fenomen a fost descris la 0,2 până la 1 % din populația generală⁴. În gazda imunocompromisă, virusul latent se poate reactiva și poate provoca o boală severă, inclusiv pneumonie, afecțiuni ale SNC și grefa de măduvă osoasă întârziată sau boala grefă-contra gazdă (Graft Versus Host Disease, GVHD). Incidența reactivării HHV-6 variază de la aproximativ 0 la 80 % (în medie, 30 până la 50 %) la pacienții transplantați cu organe solide (Solid Organ Transplant, SOT) sau de măduvă osoasă (Bone Marrow Transplant, BMT), cu o ușoară preferință pentru BMT¹. Reactivarea HHV-6A este rareori identificată după transplant, spre deosebire de HHV-6B. Reactivarea HHV-6B afectează aproximativ 40 % dintre subiecți în primele câteva luni. Este cea mai frecventă cauză de infecțioasă de encefalită după HCT (1 % din cazuri). Pacienții care dezvoltă encefalită HHV-6B prezintă, de obicei, detecția simultană a HHV-6B în plasmă cu încărcături virale ≥10.000 copii/ml³.

PRINCIPIILE PROCEDURII

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay pe NeuMoDx™ System utilizează NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, calibratoare NeuMoDx™ HHV-6 Calibrator, substanțe de control externe NeuMoDx™ HHV-6 External Control, NeuMoDx™ Lysis Buffer 1 și reactivi NeuMoDx™ de uz general pentru a efectua analiza. NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay combină extracția automatizată a ADN-ului, amplificarea și detecția prin PCR în timp real. Eșantioanele plasmatic din eprubete pentru eșantioane primare sau secundare compatibile cu NeuMoDx™ System sunt amplasate într-un suport de eprubete pentru eșantioane, care este încărcat ulterior pe NeuMoDx™ System pentru procesare. Nu mai este necesară nicio altă intervenție a operatorului.

Sistemele NeuMoDx™ System utilizează o combinație de căldură, enzimă litică și reactivi de extracție pentru a efectua automat liza celulară, extracția ADN-ului și eliminarea inhibitorilor. Acizii nucleici degajați sunt captați de microsferă cu afinitate magnetică. Microsferele, împreună cu acizii nucleici legați, sunt încărcate în NeuMoDx™ Cartridge, unde componenți nelegați, non-ADN sunt spălați ulterior cu NeuMoDx™ Wash Reagent, iar ADN-ul legat este eluat, utilizând NeuMoDx™ Release Reagent. După aceea, sistemele NeuMoDx™ System utilizează ADN-ul eluat pentru rehidratarea reactivilor brevetați Reactivi de amplificare S.p.A. liofilizați, care conțin toate elementele necesare pentru amplificarea PCR a țintelor specifice HHV-6 și a țintei SPC1. La reconstituirea reactivilor PCR liofilizați, NeuMoDx™ System distribuie amestecul pregătit compatibil cu PCR în NeuMoDx™ Cartridge. Amplificarea și detecția secvențelor de ADN de control și țintă (dacă sunt prezente) au loc în zona camerei PCR din NeuMoDx™ Cartridge. De asemenea, NeuMoDx™ Cartridge. este conceput pentru a include ampliconul după PCR în timp real, astfel eliminând, în mod esențial, riscul de contaminare post-amplificare.

Țintele genomice pentru NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip sunt genele U31 și U67 ale genomurilor virale HHV-6A și HHV-6B. Aceste ținte amplificate sunt detectate în timp real, utilizând chimia sondei de hidroliză (denumită în mod popular drept chimie TaqMan®), utilizând molecule depistate cu sonda de testare fluorogenică specifică oligonucleotidelor, specifică ampliconilor pentru țintele respective. Sondele TaqMan® constau în fluorofor legat covalent de capătul 5' al tulpinii sondei specifice oligonucleotidelor și într-o substanță extincătoare de fosforescență la capătul 3'. Deși sonda este intactă, fluoroforul și substanța extincătoare de fosforescență sunt în apropiere, ceea ce face ca molecula de substanță extincătoare de fosforescență să temperaze fluorescența emisă de fluorofor prin Transfer de Energie de Rezonanță Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET). Sondele TaqMan® sunt destinate temperaturii într-o regiune ADN amplificată printr-un set specific de soluții de amorsare. Pe măsură ce Taq ADN-polimeraza extinde soluția de amorsare și sintetizează noua tulpină, activitatea exonucleazică 5'-3' a Taq ADN-polimerazei degradează sonda care a fost temperată la șablon. Degradarea sondei degajă fluorofor și rupe proximitatea față de substanța extincătoare de fosforescență, astfel prevenind efectul de temperare cauzat de FRET și permițând detecția fluorescenței fluoroforului. Semnalul fluorescent rezultat, detectat în ciclatorul termic pentru PCR cantitativ NeuMoDx™ System este direct proporțional cu fluoroforul eliberat și poate fi corelat cu cantitatea prezentă de ADN țintă⁵.

Sondele TaqMan® etichetate cu fluorofori la capătul 5' și substanțele extincătoare de fosforescență la capătul 3' sunt utilizate pentru a detecta ADN-ul HHV-6A, ADN-ul HHV-6B și ADN-ul SPC1. Software-ul sistemului NeuMoDx™ System monitorizează semnalul fluorescent emis de sondele TaqMan® la sfârșitul fiecărui ciclu de amplificare. Când amplificarea este completă, software-ul NeuMoDx™ System analizează datele și raportează un rezultat (POSITIVE (POZITIV)/NEGATIVE (NEGATIV)/INDETERMINATE (NECONCLUDENT)/UNRESOLVED (NEREZOLVAT)/NO RESULT (NICIUN REZULTAT)). Dacă un rezultat este pozitiv și concentrația calculată este în limitele de cuantificare, software-ul NeuMoDx™ System oferă, de asemenea, o valoare cantitativă asociată cu proba sau raportează dacă respectiva concentrație calculată nu se încadrează în intervalul liniar.

REACTIVI/CONSUMABILE

Materiale furnizate

REF	Conținut	Teste pe unitate	Teste per pachet
202500	NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip <i>Reactivi PCR liofilizați care conțin sonde și soluții de amorsare TaqMan® specifice HHV-6A, sonde și soluții de amorsare TaqMan® specifice HHV-6B, pe lângă sondele și soluțiile de amorsare TaqMan® specifice SPC1.</i>	16	96

Reactivi și consumabile necesare, dar nefurnizate (disponibile separat de la NeuMoDx)

REF	Conținut
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Particule paramagnetice deshidratate, enzimă litică și substanțe de control pentru procesarea probei.</i>
801000	Calibratoare NeuMoDx™ HHV-6 Calibrator <i>Seturi de unică folosință de calibratoare puternice și slabe deshidratate pentru HHV-6A și HHV-6B, pentru a stabili curba standard.</i>
901000	Substanțe de control externe NeuMoDx™ HHV-6 External Control <i>Seturi de unică folosință de substanțe de control deshidratate pozitive și negative la HHV-6A și HHV-6B pentru a stabili validitatea zilnică a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay</i>
400400	NeuMoDx™ Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Hamilton CO-RE Tips (300 µL) cu filtre
235905	Hamilton CO-RE Tips (1000 µL) cu filtre

Pentru detalii privind reactivii și consumabilele, consultați prospectul aferent

Instrumentar necesar

NeuMoDx™ 288 Molecular System (REF 500100) sau NeuMoDx™ 96 Molecular System (REF 500200).
NeuMoDx System Software versiunea 1.9.2.6 sau mai recentă.

AVERTISMENTE ȘI PRECAUȚII

- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip este destinat exclusiv diagnosticării in vitro cu sistemele NeuMoDx™ System.
- Citiți toate instrucțiunile incluse în prospectul kitului înainte de a efectua testarea.
- Nu utilizați reactivii sau consumabilele după data de expirare menționată.
- Nu utilizați reactivi în cazul în care sigiliul de siguranță este rupt sau dacă ambalajul este deteriorat la sosire.
- Nu utilizați consumabilele sau reactivii dacă pungă de protecție este deschisă sau ruptă la sosire.
- Nu amestecați cu reactivi pentru amplificarea din alte kituri comerciale.
- A nu se reutiliza.
- Păstrați toate bandelele NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip ferite de lumină și umiditate, în plicurile din aluminiu aferente.
- Înainte ca rezultatele testării să poată fi generate pentru probele clinice trebuie să fie disponibilă o calibrare validă a testării, generată prin procesarea calibratoarelor puternice și slabe din calibratoarele NeuMoDx™ HHV-6 Calibrator (REF 801000).
- Substanțele de control externe NeuMoDx™ HHV-6 External Control (REF 901000) trebuie procesate la fiecare 24 de ore pe parcursul testării cu NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip.
- Volumul minim al eșantionului depinde de dimensiunea eprubetei, de suportul de eșantioane și de volumul eșantionului, conform definiției de mai jos. Volumul sub minimul specificat poate duce la o eroare „Quantity Not Sufficient” (Cantitate insuficientă).
- Utilizarea eșantioanelor depozitate la temperaturi improprie sau în afara timpilor de depozitare specificați poate produce rezultate nevalide sau eronate.
- Evitați contaminarea microbiană și deoxiribonucleică (DNază) a tuturor reactivilor și consumabilelor. Se recomandă folosirea pipetelor de transfer sterile de unică folosință, fără DNază, dacă utilizați eprubete secundare pentru eșantioane. Utilizați câte o pipetă nouă pentru fiecare eșantion.
- Pentru a evita contaminarea nu manipulați și nu desfăcați niciun cartuș NeuMoDx™ Cartridge după amplificarea. În niciun caz nu recuperați cartușele NeuMoDx™ Cartridge din recipientul pentru deșuri biopericuloase (NeuMoDx™ 288 Molecular System) sau din coșul de gunoi pentru deșuri biopericuloase (NeuMoDx™ 96 Molecular System). NeuMoDx™ Cartridge este conceput pentru a preveni contaminarea.
- În cazurile în care testările PCR cu eprubete deschise sunt realizate în laborator, aveți grijă să vă asigurați că NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, consumabilele și reactivii suplimentari necesari pentru testare, echipamentul individual de protecție, precum mănuși și halate de laborator, și NeuMoDx™ System nu sunt contaminate.
- În timpul manipulării reactivilor și a consumabilelor NeuMoDx™ trebuie purtate mănuși curate din nitril, fără pulbere. Aveți grijă să nu atingeți suprafața superioară a NeuMoDx™ Cartridge, suprafața de etanșare cu folie a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip sau NeuMoDx™ Extraction Plate, ori suprafața superioară a recipientului NeuMoDx™ Lysis Buffer 1; manipularea consumabilelor și a reactivilor trebuie făcută doar prin atingerea suprafețelor laterale.
- Fișele cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS) sunt puse la dispoziție pentru fiecare reactiv (după caz), la www.neumodx.com/client-resources.
- O bară verticală la marginea textului indică modificări în comparație cu versiunea anterioară a prospectului.
- Spălați-vă bine pe mâini după efectuarea testării.
- Nu pipetați prin intermediul cavității bucale. Nu fumați, nu consumați băuturi sau alimente în zonele în care se manipulează eșantioane sau reactivi.
- Manipulați întotdeauna eșantioanele ca și cum ar fi infecțioase și în conformitate cu procedurile sigure de laborator, cum ar fi cele descrise în conformitate cu Standardul OSHA privind agenții patogeni transmisibili prin sânge⁶. Pentru materialele care conțin sau care sunt suspectate că ar conține agenți infecțioși trebuie utilizat nivelul de biosecuritate 2⁷ sau alte practici adecvate de biosecuritate^{8,9}.
- Eliminați reactivii nefolosii și deșeurile în conformitate cu reglementările naționale, federale, regionale, statale și locale. Urmați recomandările din fișa cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS).

DEPOZITAREA, MANIPULAREA ȘI STABILITATEA PRODUSULUI

- Bandelele NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip sunt stabile în ambalajul primar la +15 °C/+30 °C până la data de expirare menționată pe eticheta aplicată direct pe produs.
- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip încărcată în NeuMoDx™ System este stabilă timp de 32 de zile; software-ul NeuMoDx™ System va solicita eliminarea bandelelor de testare care au fost utilizate pe NeuMoDx™ System mai mult de 32 de zile și bandelele NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip noi trebuie deschise (extrageți bandelele din pungă) și încărcate pe NeuMoDx™ System. Nu îndepărtați folia de aluminiu de pe bandetă în timpul încărcării pe suportul pentru bandele de testare.
- Calibratoarele și substanțele de control NeuMoDx™ HHV-6 nu sunt infecțioase, dar ar trebui să fie aruncate împreună cu deșeurile biopericuloase de laborator după utilizare, deoarece vor conține materie țintă, care ar putea genera contaminarea dacă nu sunt manipulate corespunzător.

RECOLTAREA, TRANSPORTUL ȘI DEPOZITAREA EȘANTIOANELOR

1. Manipulați toate eșantioanele ca și cum ar fi capabile să transmită agenți infecțioși.
2. Nu congelați eșantioanele de sânge integral sau eșantioanele de plasmă depozitate în eprubete primare.
3. Pentru pregătirea eșantioanelor de plasmă, sângele integral trebuie recoltat în eprubete sterile, utilizând EDTA drept anticoagulant. Urmați instrucțiunile producătorului eprubetelor de recoltare a eșantioanelor.
4. Sângele integral recoltat în dispozitivele enumerate mai sus poate fi depozitat și/sau transportat timp de până la 24 de ore la +2 °C/+8 °C înainte de pregătirea plasmăi. Pregătirea probelor trebuie realizată în conformitate cu instrucțiunile producătorului.
5. Plasma pregătită poate fi depozitată pe NeuMoDx[™] System timp de până la 24 ore înainte de procesare. Dacă este necesar un timp suplimentar de depozitare, se recomandă ca eșantioanele să fie refrigerate sau congelate ca părți alicote secundare.
6. Eșantioanele pregătite de plasmă trebuie depozitate la +2 °C/+8 °C timp de maximum 8 zile înainte de testare, și maximum 24 ore la temperatura camerei.
7. Eșantioanele pregătite pot fi depozitate la < -20 °C timp de până la 8 săptămâni înainte de procesare; probele nu trebuie supuse la mai mult de 2 cicluri de congelare/decongelare înainte de utilizare:
 - a. Dacă probele sunt congelate, lăsați-le să se decongeleze complet la temperatura camerei (+15 °C/+30 °C) înainte de testare; vortexați pentru a genera o probă cu distribuție uniformă.
 - b. După decongelarea probelor congelate, testarea trebuie să aibă loc în decurs de 24 ore.
8. Dacă eșantioanele sunt expediate, acestea trebuie să fie ambalate și etichetate în conformitate cu reglementările naționale ale țării respective și/sau cu reglementările internaționale.
9. Etichetați clar eșantioanele și indicați faptul că acestea sunt dedicate testării HHV-6A și/sau HHV-6B.
10. Accesați secțiunea *Pregătirea testării*.

Procesul global de punere în aplicare a analizei NeuMoDx[™] HHV-6 Quant Assay este sintetizat în *Figura 1*.

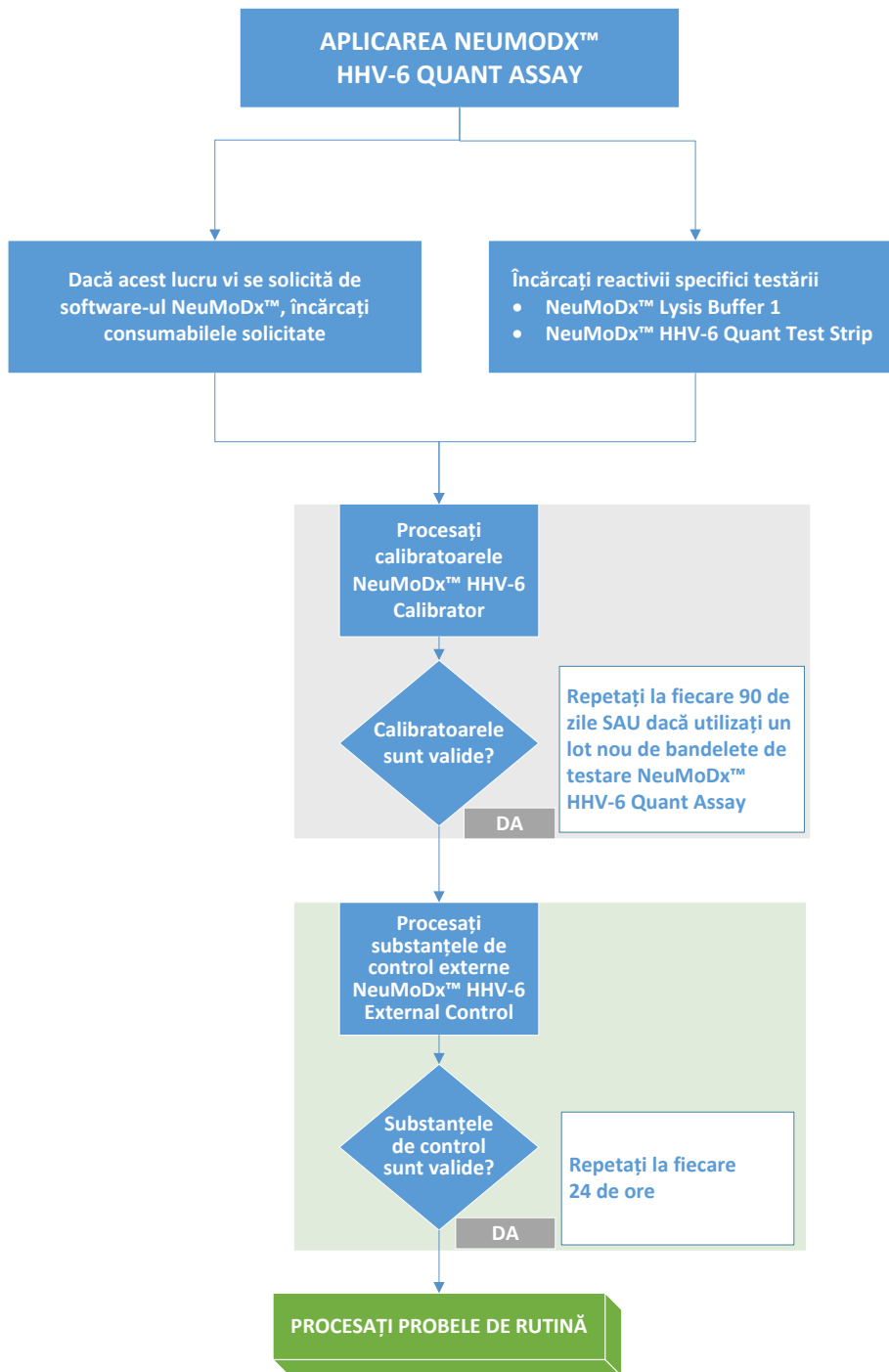


Figura 1: Flux de lucru pentru aplicarea NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Pregătirea testării

Pentru probele plasmatice, analiza NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay poate fi rulată direct din eprubetele primare de recoltare a sângelui sau din părți alicote ale eșantionului, în eprubete secundare.

1. Aplicați o etichetă cu cod de bare pe o eprubetă pentru eșantioane compatibilă cu NeuMoDx™ System. Eprubeta primară de recoltare a sângelui poate fi etichetată și introdusă direct în suportul de eprubete pentru eșantioane corespunzător, după centrifugare, conform instrucțiunilor producătorului.
2. Dacă efectuați testarea eșantionului plasmatic în eprubeta principală de recoltare, amplasați eprubeta cu cod de bare într-un suport de eprubete pentru eșantioane și asigurați-vă că ați scos capacul înainte de încărcarea pe NeuMoDx™ System. Volumele minime **de deasupra** stratului de gel/leuco-trombocitar sunt definite mai jos și vor fi atinse dacă eșantioanele sunt recoltate și procesate în conformitate cu instrucțiunile producătorului de eprubete. Nu este garantată performanța pentru eșantioanele recoltate în mod necorespunzător.
3. Pentru probele plasmatice într-o eprubetă secundară, transferați o parte alicotă de eșantion în eprubeta pentru eșantioane marcată cu cod de bare compatibilă cu NeuMoDx™ System, în funcție de volumele definite mai jos:

Suport de eprubete pentru eșantioane	Dimensiune eprubetă	Volum minim necesar eșantion
Suport de eprubete pentru eșantioane pentru 32 de eprubete	Diametru 11-14 mm cu înălțimea 60-120 mm	750 µl
Suport de eprubete pentru eșantioane pentru 24 de eprubete	Diametru 14,5-18 mm cu înălțimea 60-120 mm	1100 µl
Suport de eprubete cu volum redus pentru eșantioane	Eprubetă de 1,5 ml cu fundul conic, pentru microcentrifugă	650 µl

Utilizarea NeuMoDx™ System

Pentru instrucțiuni detaliate, consultați Manualul de operare NeuMoDx™ 288 și 96 Molecular System (p/n 40600108 și 40600317)

1. Încărcați comanda de testare pe NeuMoDx™ System în conformitate cu tipul de eprubetă dorit.
2. Tăiați pungile din aluminiu ale bandelelelor NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip în punctul indicat de creștăturile laterale.
3. Scoateți bandelelele din pungi imediat înainte de utilizare.
4. Înainte de a utiliza pungile, asigurați-vă întotdeauna că acestea sunt bine sigilate și că pliculețul cu sicutiv încă este în interior. Folosiți numai pungi nedeteriorate.
5. Eliminați pungile din aluminiu și conținutul acestora dacă pliculețul cu sicutiv se schimbă din portocaliu în verde.
6. Populați unul sau mai multe suporturi pentru bandelele de testare NeuMoDx™ System cu bandelele NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suporturilor pentru bandelele de testare în NeuMoDx™ System.
7. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx™ System, adăugați consumabilele necesare în suporturile de consumabile NeuMoDx™ System și folosiți ecranul tactil pentru încărcarea suporturilor în NeuMoDx™ System.
8. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx™ System, înlocuiți NeuMoDx™ Wash Reagent, NeuMoDx™ Release Reagent, goliți deșeurile de amorsare, recipientul pentru deșeuri biopericuloase (doar la NeuMoDx 288 Molecular System), coșul de gunoi pentru aruncarea vârfurilor (doar la NeuMoDx™ 96 Molecular System) sau coșul de gunoi pentru deșeuri biopericuloase (doar la NeuMoDx™ 96 Molecular System), după caz.
9. Dacă acest lucru vi se solicită din partea software-ului NeuMoDx™ System, procesați calibratoarele Calibrator (REF 801000) și/sau substanțele de control externe External Control (REF 901000), după cum este necesar. Informații suplimentare privind calibratoarele și substanțele de control pot fi găsite în secțiunea Procesarea rezultatelor.
10. Încărcați eprubetele pentru calibratoare/substanțe de control într-un suport standard pentru 32 de eprubete și asigurați-vă că ați scos capacele din toate eprubetele.
11. Amplasați suportul (suporturile) de eprubete pentru eșantioane pe raftul încărcătorului automat, asigurați-vă că ați scos capacele din toate eprubetele și utilizați ecranul tactil pentru încărcarea suportului (suporturilor) în NeuMoDx™ System. Această acțiune va iniția procesarea eșantioanelor încărcate pentru testările identificate, cu condiția ca în sistem să existe o comandă de testare validă.

LIMITĂRI

- NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip poate fi utilizată doar pe sistemele NeuMoDx™ System.
- Performanța NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip a fost stabilită pentru eșantioanele plasmatiche preparate din sânge integral recoltat cu EDTA pe post de anticoagulant. Nu a fost evaluată utilizarea NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip împreună cu alte tipuri de eșantioane, iar caracteristicile de performanță ale acestor teste sunt necunoscute pentru alte tipuri de eșantioane.
- Analiza NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay nu trebuie utilizată cu probe de la oameni heparinizați.
- Deoarece detecția ADN-ului HHV-6A și/sau HHV-6B depinde de numărul de organisme prezente în probă, rezultatele de încredere depind de recoltarea, manipularea și depozitarea adecvate ale eșantioanelor.
- Rezultatele eronate pot apărea din recoltarea, manipularea și depozitarea inadecvate ale eșantioanelor, din erori tehnice sau din încercarea eprubetelor pentru eșantioane. În plus, pot apărea rezultate fals negative din cauză că numărul de particule virale din probă este sub limita de detecție a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.
- Utilizarea sistemului NeuMoDx™ System se limitează la utilizarea de către personalul instruit în utilizarea NeuMoDx™ System.
- Dacă țintele HHV-6A, HHV-6B și SPC1 nu se amplifică, va fi raportat un rezultat nevalid (Indeterminate (Neconcludent) sau Unresolved (Nerezolvat)), iar testarea trebuie repetată.
- Dacă survine o eroare de sistem înainte de finalizarea procesării probelor, va fi raportat „No Result” (Niciun rezultat), iar testarea trebuie repetată.
- Dacă rezultatul NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay este Positive (Pozitiv), dar valoarea de cuantificare depășește limitele de cuantificare, NeuMoDx™ System va raporta dacă ADN-ul HHV-6A și/sau HHV-6B detectat a fost mai mic decât limita inferioară de cuantificare (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) sau mai mare decât limita superioară de cuantificare (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- În eventualitatea în care ADN-ul HHV-6A și/sau HHV-6B detectat este mai mare decât ULoQ, NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay poate fi repetat cu o parte alocotă diluată a eșantionului original. Se recomandă o diluare 1:100 sau 1:1000 în plasmă negativă la ADN HHV-6A și HHV-6B sau în Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). Sistemul va calcula automat concentrația eșantionului original, după cum urmează: Concentrația eșantionului original = \log_{10} (factor de diluție) + concentrația raportată a probei diluate, atât timp cât factorul de diluție a fost selectat în mod corespunzător în software, înainte de repetare.
- Prezența ocazională a inhibitorilor PCR în plasmă poate duce la o eroare de cuantificare a sistemului; dacă se întâmplă acest lucru, se recomandă repetarea testării cu același eșantion diluat în Basematrix la 1:10 sau 1:100.
- Un rezultat pozitiv nu indică neapărat prezența organismelor viabile. Totuși, un rezultat pozitiv indică prezența ADN-ului HHV-6A și/sau HHV-6B.
- Deleția sau mutațiile din regiunile conservate vizate de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay pot afecta detecția sau pot genera un rezultat eronat folosind NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip.
- Rezultatele obținute din NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay trebuie utilizate ca anexe la observațiile clinice și la alte informații disponibile medicului; testul nu este destinat diagnosticării infecției.
- Bunele practici de laborator, inclusiv schimbarea mănușilor între manipulările eșantioanelor pacienților, se recomandă pentru evitarea contaminării.

PROCESAREA REZULTATELOR

Rezultatele disponibile pot fi vizualizate sau imprimate din fila „Results” (Rezultate) în fereastra Results (Rezultate) pe ecranul tactil al NeuMoDx™ System. Rezultatele NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay sunt generate automat de software-ul NeuMoDx™ System utilizând algoritmul de decizie și parametrii de procesare a rezultatelor specificați în fișierul de definiție a testului NeuMoDx™ HHV-6. Un rezultat NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay poate fi raportat ca Negative (Negativ), Positive (Pozitiv) cu o concentrație HHV-6A și/sau HHV-6B raportată, Positive (Pozitiv) mai mare decât ULoQ, Positive (Pozitiv) mai mic decât LLoQ, Indeterminate (Neconcludent) (IND), Unresolved (Nerezolvat) (UNR) sau No Result (Niciun rezultat) (NR), în funcție de stadiul de amplificare al țintei și al substanței de control pentru procesarea probei. Rezultatele sunt raportate pe baza algoritmului ADF de procesare a rezultatelor, sintetizate mai jos în *Tabela 1*.

Rezultatele obținute cu NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip trebuie interpretate împreună cu alte concluzii clinice și de laborator.

Tabelul 1: Sumarul interpretării rezultatelor NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

Rezultat	HHV-6A/HHV-6B	Substanță de control pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC1)	Interpretarea rezultatelor
Positive (Pozitiv) cu concentrație raportată	Amplified (Amplificat) $2,30 \leq [\text{HHV-6A}] \leq 6,0 \log_{10}$ copii/ml	Amplified (Amplificat) sau Not Amplified (Neamplificat)	ADN HHV-6A detectat în intervalul cantitativ
	Amplified (Amplificat) $2,30 \leq [\text{HHV-6B}] \leq 6,0 \log_{10}$ UI/ml	Amplified (Amplificat) sau Not Amplified (Neamplificat)	ADN HHV-6B detectat în intervalul cantitativ
Positive (Pozitiv), mai mare decât limita superioară de cuantificare [Upper Limit of Quantitation, ULoQ]	Amplified (Amplificat) $[\text{HHV-6A}] > 6,0 \log_{10}$ copii/ml	Amplified (Amplificat) sau Not Amplified (Neamplificat)	ADN HHV-6A detectat peste intervalul cantitativ
	Amplified (Amplificat) $[\text{HHV-6B}] > 6,0 \log_{10}$ UI/ml	Amplified (Amplificat) sau Not Amplified (Neamplificat)	ADN HHV-6B detectat peste intervalul cantitativ
Positive (Pozitiv), mai mic decât limita inferioară de cuantificare [Lower Limit of Quantitation, LLoQ]	Amplified (Amplificat) $[\text{HHV-6A}] < 2,30 \log_{10}$ copii/ml	Amplified (Amplificat) sau Not Amplified (Neamplificat)	ADN HHV-6A detectat sub intervalul cantitativ
	Amplified (Amplificat) $[\text{HHV-6B}] < 2,30 \log_{10}$ UI/ml	Amplified (Amplificat) sau Not Amplified (Neamplificat)	ADN HHV-6B detectat sub intervalul cantitativ
Negative* (Negativ*)	Not Amplified (Neamplificat)	Amplified (Amplificat)	ADN HHV-6A/HHV-6B nedetectat
Indeterminate (Neconcludent)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Neamplificat, Eroare de sistem detectată, Procesarea probelor finalizată)		Toate rezultatele țintei au fost nevalide; retestați proba†
No Result (Niciun rezultat)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Neamplificat, Eroare de sistem detectată, Procesarea probelor abandonată)		Procesarea probei a fost abandonată; retestați proba†
Unresolved (Nerezolvat)	Not Amplified, No System Error Detected (Neamplificat, Nu s-au observat erori de sistem)		Toate rezultatele țintei au fost nevalide; retestați proba†

*Ca și în cazul altor testări, rezultatele negative nu exclud infecția cu HHV-6A și/sau HHV-6B.

†NeuMoDx™ System este echipat cu funcția automată Rerun/Repeat (Repetarea execuției/Repetare) pe care utilizatorul final poate alege să o folosească pentru a se asigura că un rezultat IND/NR/UNR (NECONCLUDENT/NEREZOLVAT/NICIUN REZULTAT) este reprocesat automat pentru a reduce la minimum întârzierile în raportarea rezultatelor.

Calculul pentru testare

- Pentru probele aflate în intervalul de cuantificare al NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay, concentrația de ADN HHV-6A și cea de ADN HHV-6B din probe este calculată utilizând curbele standard relative stocate împreună cu coeficienții de calibrare.
 - Un coeficient de calibrare se calculează pe baza rezultatelor calibratoarelor NeuMoDx™ HHV-6 Calibrator procesate, pentru a stabili validitatea curbei standard, pentru un anumit lot de NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip, pe un anumit sistem NeuMoDx™ System, pentru fiecare țintă.
 - Coeficientul de calibrare este încorporat în determinarea finală a concentrației de ADN HHV-6A și ADN HHV-6B.
- Rezultatele NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay sunt raportate în \log_{10} copii/ml și în copii/ml pentru ținta HHV-6A, și în \log_{10} UI/ml și în UI/ml pentru ținta HHV-6B.
- Cuantificarea rezultată a probelor necunoscute poate fi urmărită în conformitate cu EDX HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) cuantificat printr-un test digital PCR pe bază de picături (digital droplet PCR, ddPCR) și în conformitate cu Primul standard internațional al OMS pentru ADN-ul virusului HHV-6B (National Institute for Biological Standards and Control (Institutul Național pentru Control și Standarde Biologice), cod NIBSC: 15/266).

Calibrarea testării

Este necesară o calibrare validă, pe baza curbei standard, pentru a cuantifica ADN-ul HHV-6A și/sau ADN-ul HHV-6B în eșantioane. Pentru generarea unor rezultate valide, trebuie efectuată o calibrare a testării pentru HHV-6A și HHV-6B, utilizând calibratoarele furnizate de NeuMoDx™ Molecular, Inc.

Calibratoare

1. Calibratoarele NeuMoDx™ HHV-6 Calibrator sunt furnizate într-un kit (REF 801000) și sunt compuse dintr-un pelet deshidratat de ADN HHV-6A și ADN HHV-6B sintetic și o soluție tampon specifică.
2. Cu fiecare lot nou de bandelete NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip trebuie procesat câte un set de calibratoare HHV-6, dacă un fișier de definiție a testului HHV-6 nou este încărcat în NeuMoDx™ System, dacă setul curent de calibratoare a depășit perioada de validitate (setată în prezent la 90 de zile) sau dacă software-ul NeuMoDx™ System este modificat.
3. Software-ul NeuMoDx™ System va anunța utilizatorul cu privire la momentul în care trebuie procesate calibratoarele; nu poate fi folosit pentru testare un lot nou de bandelete de testare dacă procesarea calibratoarelor nu a reușit.
4. Dacă trebuie procesat un nou set de calibratoare HHV-6, citiți toate instrucțiunile incluse în prospectul calibratoarelor NeuMoDx™ HHV-6 Calibrator înainte de a efectua testarea.
5. Validitatea pentru calibrare se stabilește după cum urmează:
 - a. Trebuie generați doi coeficienți de calibrare, unul pentru HHV-6A și unul pentru HHV-6B, prin procesarea câte unui set de două calibratoare pentru fiecare țintă – puternic și slab – pentru a stabili validitatea fiecărei curbe.
 - b. Pentru generarea unor rezultate valide, cel puțin 2 din cele 3 replicare trebuie să ofere rezultate în parametrii predefiniți. Ținta nominală a calibratorului slab este de $3,0 \log_{10}$ copii/ml, iar ținta nominală a calibratorului puternic este de $5,0 \log_{10}$ copii/ml pentru setul de calibratoare HHV-6A, în timp ce ținta nominală a calibratorului slab este de $3,0 \log_{10}$ UI/ml și ținta nominală a calibratorului puternic este de $5,0 \log_{10}$ UI/ml pentru setul de calibratoare HHV-6B.
 - c. Se calculează un coeficient de calibrare pentru a ține cont de variația preconizată între loturile de bandelete de testare; acest coeficient de calibrare este utilizat pentru determinarea concentrației finale de HHV-6A și/sau HHV-6B.
6. Dacă unul sau ambele calibratoare eșuează în verificarea validității, repetați procesarea calibratorului eșuat (calibratoarelor eșuate) utilizând un flacon nou. În eventualitatea în care un calibrator eșuează în verificarea validității, este posibilă doar repetarea calibratorului eșuat, deoarece sistemul nu impune ca utilizatorul să ruleze din nou ambele calibratoare.
7. În cazul în care calibratorul (calibratoarele) eșuează în verificarea validității a doua oară consecutiv, contactați Asistența tehnică QIAGEN.

Controlul calității

Reglementările locale specifică de obicei faptul că laboratorul este responsabil pentru procedurile de control care monitorizează acuratețea și precizia procesului analitic complet, și trebuie să stabilească numărul, tipul și frecvența testării materialelor de control utilizând specificații de performanță verificate pentru un sistem de testare aprobat și nemodificat.

Substanțe de control externe

1. Substanțele de control externe HHV-6A și HHV-6B External Control (REF 901000) sunt furnizate de NeuMoDx™. Substanțele de control pozitive conțin un pelet deshidratat de ADN HHV-6A și HHV-6B sintetic. Substanța de control negativă este soluție tampon.
2. Substanțele de control externe pozitive și negative trebuie procesate o dată la 24 de ore. Dacă nu există un set de substanțe de control externe valide, software-ul NeuMoDx™ System va solicita utilizatorului procesarea acestor substanțe de control înainte să poată fi raportate rezultatele probelor.
3. Dacă sunt necesare substanțe de control externe, pregătiți substanțele de control pozitive și negative, așa cum este indicat în prospectul substanțelor de control externe HHV-6 înainte de a efectua testarea.
4. Utilizând ecranul tactil și un suport de eprubete pentru eșantioane amplasat pe raftul încărcătorului automat, încărcați substanțele de control pozitive și negative în NeuMoDx™ System. NeuMoDx™ System va recunoaște codul de bare și va începe procesarea eprubetelor cu substanțe de control externe, dacă nu sunt disponibili/e reactivii sau consumabilele necesare pentru testare.
5. Validitatea substanțelor de control externe va fi evaluată de NeuMoDx™ System în funcție de rezultatul preconizat. Substanța de control pozitivă trebuie să genereze un rezultat Positive (Pozitiv) la HHV-6A și HHV-6B, iar substanța de control negativă trebuie să genereze un rezultat Negative (Negativ) la HHV-6A și HHV-6B.
6. Manipularea rezultatelor contradictorii pentru substanțele de control externe trebuie făcută astfel:
 - a. Un rezultat Positive (Pozitiv) al testării pentru o probă cu substanță de control negativă indică o problemă de contaminare a eșantionului, iar procedurile de control al calității aferente laboratorului trebuie examinate pentru a găsi cauza principală. Asigurați-vă că utilizați zone diferite pentru prepararea probelor, manipularea substanțelor de control și configurarea PCR în timp real. Consultați *Manualul de operare NeuMoDx 288 sau 96 Molecular System* pentru sfaturi suplimentare privind remedierea problemelor.
 - b. Un rezultat Negative (Negativ) al testării raportat pentru o probă cu substanță de control pozitivă poate indica o problemă legată de reactiv sau de instrument.
 - c. În oricare dintre situațiile de mai sus sau în cazul unui rezultat No Result (Niciun rezultat) (NR), Unresolved (Nerezolvat) (UNR) sau Indeterminate (Neconcludent) (IND), repetați procesul pentru substanțele de control eșuate cu flacoane proaspăt preparate pentru substanțele de control care au eșuat în testarea validității.
 - d. Dacă substanțele de control externe NeuMoDx™ HHV-6 External Control pozitive continuă să raporteze un rezultat Negative (Negativ), contactați Asistența tehnică QIAGEN.
 - e. Dacă substanțele de control externe NeuMoDx™ HHV-6 External Control negative continuă să raporteze un rezultat Positive (Pozitiv), încercați să eliminați toate sursele de posibilă contaminare, inclusiv înlocuirea TUTUROR reactivilor, înainte de a contacta Asistența tehnică QIAGEN.
7. Dacă substanțele de control externe nu generează rezultatele preconizate, trebuie să repetați un set de substanțe de control pozitive și negative. Probele nu vor fi procesate până când sistemul nu procesează un set valid de substanțe de control externe. În eventualitatea în care probele sunt în curs de procesare atunci când expiră substanțele de control externe, sistemul va solicita rularea unui set valid de substanțe de control externe. Dacă setul de substanțe de control externe nu oferă rezultate valide, rezultatele probelor nu vor fi raportate.

Substanțe de control (interne) pentru procesarea probei

O substanță de control exogenă pentru procesarea probei (Sample Process Control, SPC1) este încorporată în NeuMoDx™ Extraction Plate și suferă întregul proces de extracție a acidului nucleic și amplificarea PCR în timp real cu fiecare probă/substanță de control/calibrator. Soluțiile de amorsare și sonda specifice pentru SPC1 sunt incluse în fiecare NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip permițând detecția prezenței SPC1 împreună cu ADN-ul HHV-6A și/sau HHV-6B țintă (dacă există) prin PCR multiplex în timp real. Detecția amplificării SPC1 îi permite software-ului NeuMoDx™ System să monitorizeze eficacitatea proceselor de extracție ADN și amplificarea PCR.

Rezultate nevalide

Dacă o analiză NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay efectuată pe NeuMoDx™ System nu produce un rezultat valid, acesta va fi raportat ca Indeterminate (IND) (Neconcludent), No Result (NR) (Niciun rezultat) sau Unresolved (UNR) (Nerezolvat), în funcție de tipul erorii survenite. Testarea trebuie repetată pentru obținerea unui rezultat valid.

Un rezultat Indeterminate (Neconcludent) va fi raportat dacă este detectată o eroare NeuMoDx™ System în timpul procesării probelor. În cazul în care este raportat un rezultat IND (Neconcludent), se recomandă repetarea testării.

Un rezultat No Result (Niciun rezultat) va fi raportat dacă este detectată o eroare NeuMoDx System și procesarea probelor este abandonată. În cazul în care este raportat un rezultat No Result (Niciun rezultat), se recomandă repetarea testării.

Un rezultat UNR (Nerezolvat) va fi raportat dacă nu este detectată nicio țintă și dacă nu are loc nicio amplificare a ADN-ului HHV-6A, a ADN-ului HHV-6B sau a SPC1, ceea ce indică un posibil eșec al reactivului sau prezența inhibitorilor. În cazul în care este raportat un rezultat UNR (Nerezolvat), testarea poate fi repetată, ca prim pas. Dacă repetarea testării eșuează, poate fi folosit un eșantion diluat pentru a atenua efectele oricărei inhibări a probei (consultați secțiunea Limitări pentru instrucțiuni suplimentare).

Consultați Manualul de operare al NeuMoDx 288 Molecular System (Nr.P.: 40600108) sau Manualul de operare al NeuMoDx 96 Molecular System (Nr.P.: 40600317) pentru o listă a codurilor de eroare care pot fi asociate cu rezultate nevalide.

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ^{10,11,15}

Sensibilitate analitică – limită de detecție¹²

Sensibilitatea analitică a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay a fost caracterizată prin testarea unei serii de diluție a EDX HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) și a HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics, calibrat în conformitate cu Primul standard internațional al OMS pentru HHV-6B, 15/266), în probe plasmatiche negative la HHV-6A/HHV-6B, pentru a determina limita de detecție (Limit of Detection, LoD) pe sistemele NeuMoDx™ System. Limita de detecție este definită drept concentrația minimă detectabilă, cu o rată de succes de 95 %. Aceasta se calculează prin analiza Probit aplicată datelor experimentale, cu intervalul de încredere (Î) 95 %. Studiul a fost efectuat timp de 3 zile pe mai multe sisteme cu loturi multiple de reactivi NeuMoDx™. Fiecare sistem a procesat câte 42 de replicare la fiecare nivel de diluție (probe pozitive) și 8 replicare pentru probe negative pe zi. Ratele de detecție sunt prezentate în *Tabelul 2*.

Tabelul 2: Rate de detecție pozitive pentru determinarea LoD a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

HHV-6A					HHV-6B				
Concentrația țintei [copii/ml]	Concentrație preconizată [\log_{10} copii/ml]	Număr de testări valide	Număr de rezultate pozitive	Rată de detecție	Concentrația țintei [UI/ml]	Concentrația țintei [\log_{10} UI/ml]	Număr de testări valide	Număr de rezultate pozitive	Rată de detecție
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%

LoD pentru NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay a fost determinată printr-o analiză de tip Probit ca fiind de 123,5 copii/ml (2,09 \log_{10} copii/ml) (interval de încredere 95 %: între 102,1 și 145,0 copii/ml) pentru HHV-6A și de 178,2 UI/ml (2,25 \log_{10} UI/ml) (interval de încredere 95 %: între 151,3 și 205,0 UI/ml) pentru HHV-6B.

Sensibilitate analitică – Limita inferioară de cuantificare (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) și limita superioară de cuantificare (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)¹²

Limita inferioară de cuantificare (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) și limita superioară de cuantificare (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) sunt definite ca cel mai mic nivel al țintei și cel mai mare nivel al țintei la care se obține o detecție > 95 % și TAE ≤ 1,0. Pentru a determina LLoQ și ULoQ, eroarea analitică totală (Total Analytical Error, TAE) a fost calculată pentru fiecare dintre nivelurile țintei HHV-6A și HHV-6B pentru care s-a demonstrat că raportează o detecție > 95 % în testarea limitei de detecție. TAE este definită după cum urmează:

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

Abateră este valoarea absolută a diferenței dintre media concentrației calculate și a concentrației preconizate. SD se referă la abateră standard a valorii cuantificate a probei.

Rezultatele compilate pentru cele 5 niveluri ale eșantioanelor plasmatice de HHV-6A/HHV-6B folosite în studiul LLoQ/ULoQ sunt prezentate în Tabelele 3 și 4. Pe baza acestui set de date și a LoD determinată anterior, s-a stabilit că LLoQ și ULoQ sunt de 200 copii/ml (2,30 log₁₀ copii/ml) și, respectiv, de 1x10⁶ copii/ml pentru HHV-6A și de 200 copii/ml (2,30 log₁₀ UI/ml) și 1x10⁶ UI/ml pentru HHV-6B.

Tabelul 3: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip; ULoQ și LLoQ HHV-6A, cu abateră și TAE

Conc. țintă [copii/ml]	Conc. țintă [log ₁₀ copii/ml]	Conc. medie [log ₁₀ copii/ml]	Deteție (%)	SD	Abateră	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%	Nu se aplică	0,87	Nu se aplică

Tabelul 4: NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip; ULoQ și LLoQ HHV-6B, cu abateră și TAE

Conc. țintă [UI/ml]	Conc. țintă [log ₁₀ UI/ml]	Conc. medie [log ₁₀ UI/ml]	Deteție (%)	SD	Abateră	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

Pe baza rezultatului acestor studii, limita de dectie (Limit of Detection, LoD) pentru NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay s-a determinat a fi de 123,5 copii/ml (2,09 log₁₀ copii/ml) pentru HHV-6A și de 178,2 UI/ml (2,25 log₁₀ UI/ml) pentru HHV-6B. LoQ au fost de 200 copii/ml (2,30 log₁₀ copii/ml) pentru HHV-6A și de 200 UI/ml (2,30 log₁₀ UI/ml) pentru HHV-6B. ULoQ este de 1x10⁶ copii/ml pentru HHV-6A și de 1x10⁶ UI/ml pentru HHV-6B.

Liniaritatea¹³

Liniaritatea NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip a fost stabilită în plasmă prin pregătirea unei serii de diluție utilizând HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) și EDX HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics). Opt (8) diluții în serie ale panelurilor HHV-6A/HHV-6B, pregătite în plasmă umană negativă la HHV-6A/HHV-6B, au fost create pentru a acoperi un interval al concentrației de 6 – 2 log₁₀ copii/ml.

Concentrațiile analizei HHV-6A/HHV-6B raportate de NeuMoDx™ System comparativ cu valorile preconizate sunt prezentate în Figurile 2 și 3.

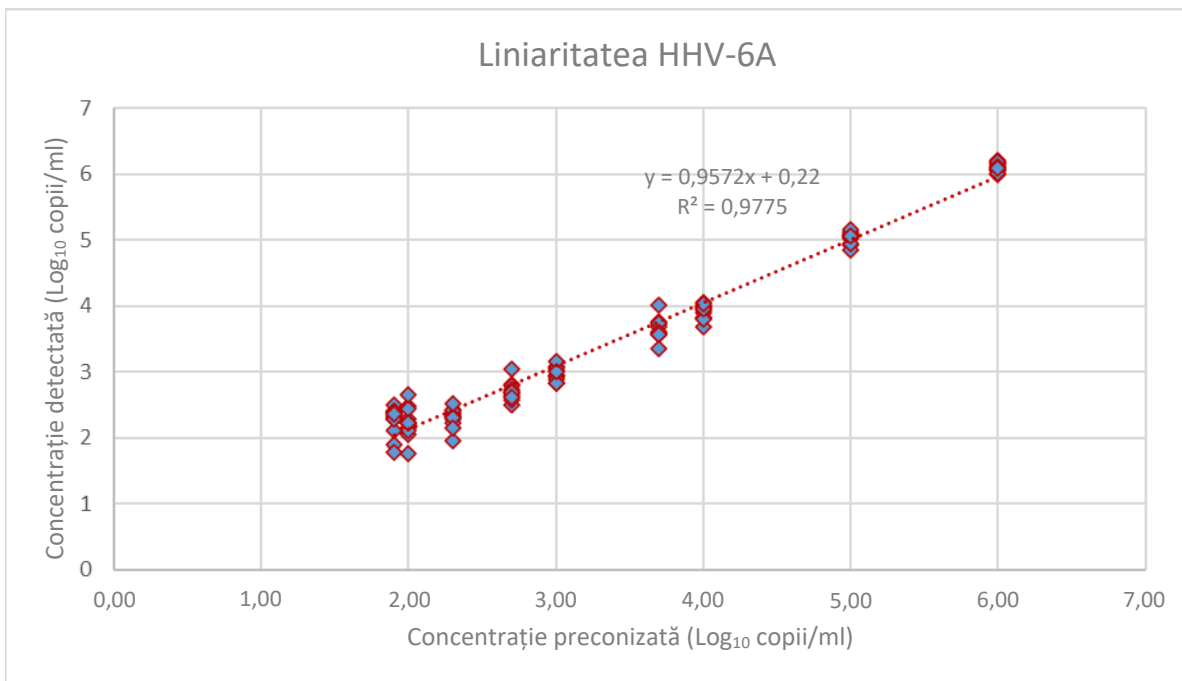


Figura 2: Liniaritatea NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay pentru HHV-6A

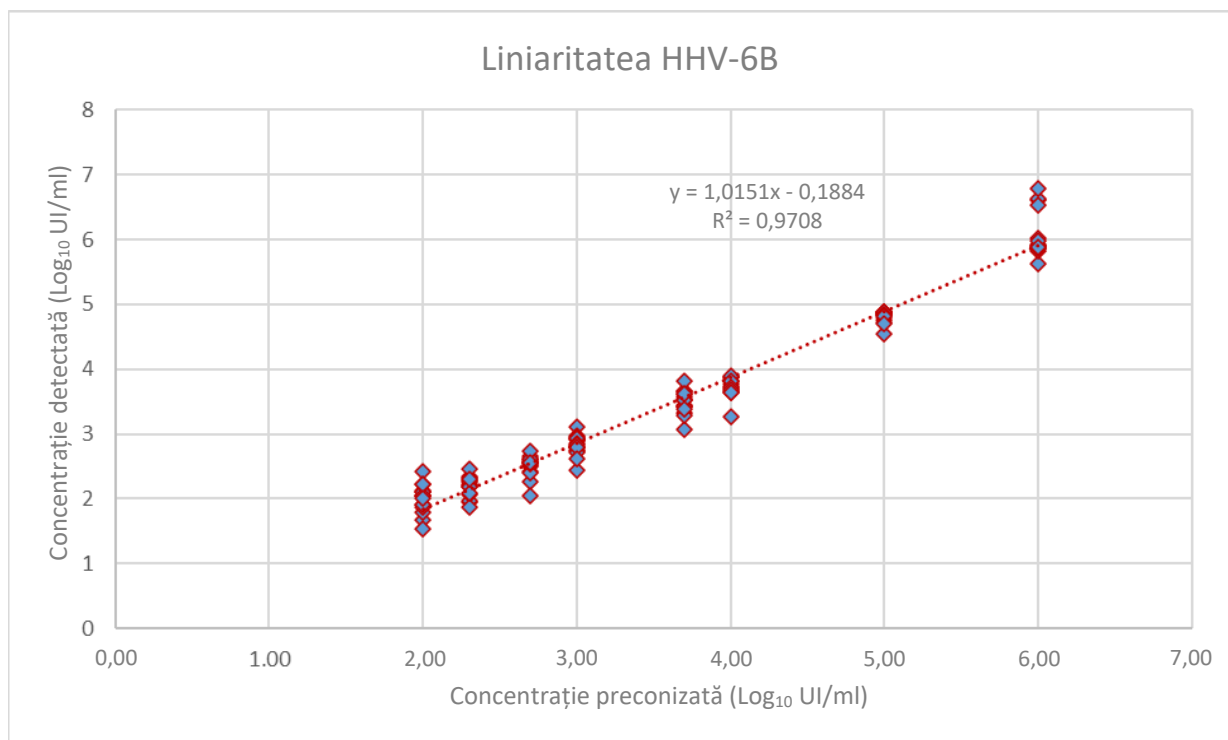


Figura 3: Liniaritatea NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay pentru HHV-6B

Specificitate analitică – Reactivitate încrucișată^{10, 11}

Specificitatea analitică a fost demonstrată prin screeningul a 22 de organisme frecvent întâlnite în eșantioane plasmatice, precum și a unor specii asemănătoare filogenetic cu HHV-6A și HHV-6B pentru reactivitate încrucișată. Organismele au fost pregătite în surse de câte 5/6 organisme și testate la o concentrație ridicată (3,48 log₁₀ copii/ml). Organismele testate sunt prezentate în *Tabelul 5*. Nu s-a observat reactivitate încrucișată la niciunul dintre organismele testate, confirmând o specificitate analitică 100 % pentru NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.

Tabelul 5: Agenți patogeni utilizați pentru a demonstra specificitatea analitică

Organisme non-țintă					
<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Virusul imunodeficienței umane 1	Virusul hepatitei B	Adenovirus tip 5	Virusul Epstein-Barr	Virusul varicelo-zosterian	Enterovirus 68
Virusul BK	Virusul Herpes Simplex 1	Virusul Herpes Simplex 2	Virusul gamaherpetic uman 8	Citomegalovirus	Virusul betaherpetic uman 7
HTVL-1	HTVL-2	Virusul JC	SV40	Virusul imunodeficienței umane 2	

Specificitate analitică – Substanțe de interferență, organisme comensale^{10, 11}

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay a fost evaluat pentru interferență în prezența organismelor non-țintă, utilizând aceleași surse de organisme pregătite pentru testarea reactivității încrucișate, enumerate mai sus, în *Tabelul 6*. Plasma negativă la HHV-6A/HHV-6B a fost îmbogățită cu organismele comensale în grupuri de 4-7 și a fost îmbogățită cu țintă HHV-6A/HHV-6B la o concentrație de 2,78 log₁₀ UI/ml (600 UI/ml; 3x LoD). Nu s-a observat nici o interferență semnificativă în prezența acestor organisme comensale, așa cum este indicat de abaterea minimă de cuantificare față de eșantioanele de substanță de control care nu au conținut niciun agent de interferență.

Specificitate analitică – Substanțe de interferență, substanțe endogene și exogene^{10, 11}

NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay a fost evaluat în prezența substanțelor de interferență exogene și endogene tipice întâlnite la plasma clinică HHV-6A/HHV-6B. Acestea au inclus niveluri anormal de ridicate ale componentelor sanguine, precum și medicamente antivirale comune, care sunt clasificate în *Tabelul 6*. Fiecare substanță a fost adăugată în plasmă umană testată prin screening negativă la HHV-6A/HHV-6B, îmbogățită cu 2,78 log₁₀ UI/ml (600 UI/ml; 3x LoD) HHV-6A/HHV-6B și probele au fost analizate pentru interferență.

Concentrația medie și abaterea tuturor substanțelor testate în comparație cu probele de control îmbogățite cu același nivel de HHV-6A/HHV-6B sunt raportate în *Tabelul 7*. Niciuna dintre substanțele exogene și endogene nu a afectat specificitatea NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay.

Tabelul 6: Testarea interferenței - Agenți exogeni (clasificări pentru medicamente)

Sursă	Denumire medicament	Clasificare
Sursa 1	Valganciclovir	ANTIVIRAL
	Prednison	IMUNOSUPRESOR
	Cidofovir	ANTIVIRAL
	Cefotaximă	ANTIBIOTIC
	Micofenolat mofetil	IMUNOSUPRESOR
Sursa 2	Vancomicină	ANTIBIOTIC
	Tacrolimus	IMUNOSUPRESOR
	Famotidină	ANTAGONIST AL HISTAMINEI
	Valaciclovir	ANTIVIRAL
	Leflunomidă	IMUNOSUPRESOR

Tabelul 7: Testarea interferenței - Agenți exogeni și endogeni

Endogen (plasmă)	HHV-6A		HHV-6B	
	Conc. medie	Abatere	Conc. medie	Abatere
	log ₁₀ copii/ml	log ₁₀ copii/ml	log ₁₀ UI/ml	log ₁₀ UI/ml
Trigliceride (500 mg/dl)	1,91	0,24	2,10	-0,13
Bilirubină conjugată (0,25 g/l)	2,14	0,01	2,07	-0,10
Bilirubină neconjugată (0,25 g/l)	1,71	0,44	1,61	0,37
Albumină (58,7 g/l)	2,27	-0,13	2,04	-0,06
Hemoglobină (2,9 g/l)	2,23	-0,08	1,98	-0,01
ADN uman (2 mg/ml)	1,74	0,41	1,86	0,12
Exogeni (medicamente)	Conc. medie	Abatere	Conc. medie	Abatere
	log ₁₀ copii/ml	log ₁₀ copii/ml	log ₁₀ UI/ml	log ₁₀ UI/ml
Sursa 1: Valganciclovir, Prednison, Cidofovir, Cefotaximă, Micofenolat mofetil	1,65	0,28	2,07	0,06
Sursa 2: Vancomicină, Tacrolimus, Famotidină, Valaciclovir, Leflunomidă	2,18	-0,25	1,97	0,16

Repetabilitate și precizie în laborator¹⁴

Precizia NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip a fost determinată prin testarea a 2 replicare ale unui panel de 3 elemente de eșantioane HHV-6A/HHV-6B pregătite cu plasmidă HHV-6A sau HHV-6B de două ori pe zi, utilizând un sistem NeuMoDx™ 96 System timp de 20 de zile. Au fost caracterizate precizia în cadrul rulării și precizia din timpul zilei, iar abaterea standard globală s-a determinat a fi $\leq 0,25 \log_{10}$ copii/ml pentru HHV-6A și $\leq 0,25 \log_{10}$ UI/ml pentru HHV-6B. Precizia excelentă a fost demonstrată în toate zilele și în toate rulările, după cum se arată în *Tabelul 8*. Precizia la nivelul operatorilor nu a fost caracterizată, deoarece operatorul nu joacă un rol semnificativ în procesarea probelor utilizând NeuMoDx™ System.

Tabelul 8: Precizie în laborator – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay pe NeuMoDx™ System 96

Probă	Abatere standard repetabilitate	Abatere standard între execuții	Abatere standard din timpul zilei	Abatere standard între zile	Abatere standard globală (în laborator)
HHV-6A					
5,67 log ₁₀ copii/ml	0,166	0,000	0,166	0,051	0,173
4,67 log ₁₀ copii/ml	0,071	0,000	0,071	0,048	0,086
3,67 log ₁₀ copii/ml	0,190	0,028	0,192	0,059	0,200
2,48 log ₁₀ copii/ml	0,151	0,051	0,159	0,000	0,159
HHV-6B					
5,14 log ₁₀ UI/ml	0,217	0,000	0,217	0,070	0,228
4,14 log ₁₀ UI/ml	0,155	0,000	0,155	0,056	0,165
3,14 log ₁₀ UI/ml	0,141	0,000	0,141	0,038	0,146
2,70 log ₁₀ UI/ml	0,225	0,079	0,239	0,000	0,239

Reproductibilitatea de la un lot la altul¹⁴

Reproductibilitatea de la un lot la altul a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip a fost determinată utilizând trei loturi diferite de bandetele NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip. Un panel cu 4 elemente de HHV-6A și HHV-6B pregătit cu HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) sau EDX HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics) a fost utilizat pentru evaluarea performanței pe un NeuMoDx™ 96 Molecular System în 5 execuții separate. Variația în lot și între loturi a fost analizată, iar rezultatele au fost exprimate ca abatere standard între loturi, fiind prezentate în *Tabelul 9*. Cea mai mare abatere standard maximă a fost de 0,257 copii/ml. Performanța echivalentă a fost demonstrată între loturi, deoarece abaterea standard a tuturor elementelor din panel s-a încadrat în specificațiile de toleranță (abatere standard a reproductibilității $\leq 0,3 \log_{10}$ copii/ml).

Tabelul 9: Reproducibilitatea de la un lot la altul – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Assay

Probă	Abatere standard repetabilitate	Abatere standard între zile	SD în lot	SD între loturi	Abatere standard reproductibilitate
HHV-6A					
4,73 x10 ⁵ copii/ml	0,160	0,061	0,171	0,073	0,186
4,73 x10 ³ copii/ml	0,166	0,087	0,188	0,069	0,200
600 copii/ml	0,099	0,088	0,132	0,091	0,160
HHV-6B					
1,38 x10 ⁵ UI/ml	0,199	0,161	0,256	0,025	0,257
1,38 x10 ³ UI/ml	0,214	0,068	0,224	0,093	0,243
600 UI/ml	0,120	0,069	0,139	0,062	0,152

Reproducibilitatea de la un instrument la altul¹⁴

Reproducibilitatea de la un instrument la altul a NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip a fost determinată utilizând trei sisteme diferite (un NeuMoDx™ 288 Molecular System și două NeuMoDx™ 96 Molecular System). Un panel cu 4 elemente de HHV-6A/HHV-6B pregătit cu HHV-6A Verification Panel (Exact Diagnostics) sau EDX HHV-6B Verification Panel (Exact Diagnostics) a fost utilizat pentru evaluarea performanței. Testarea a fost efectuată pe sisteme timp de 5 zile. Au fost caracterizate variația din timpul zilei și variația între sisteme, și abaterea standard globală s-a determinat a fi $\leq 0,30 \log_{10}$ copii/ml pentru HHV-6A și $\leq 0,30 \log_{10}$ UI/ml pentru HHV-6B. Performanța echivalentă a fost demonstrată între sisteme, deoarece abaterea standard (Standard Deviation, SD) în cuantificarea tuturor elementelor panelului s-a încadrat în specificațiile de toleranță (Tabelul 10).

Tabelul 10: Reproducibilitatea de la un instrument la altul – NeuMoDx™ HHV-6 Quant Test Strip

Probă	Abatere standard repetabilitate	Abatere standard între zile	SD în sistem	Abatere standard între sisteme	Abatere standard reproductibilitate
HHV-6A					
5,67 log ₁₀ copii/ml	0,228	0,000	0,228	0,000	0,228
4,67 log ₁₀ copii/ml	0,149	0,000	0,149	0,021	0,151
3,67 log ₁₀ copii/ml	0,210	0,101	0,233	0,000	0,233
2,48 log ₁₀ copii/ml	0,157	0,079	0,176	0,000	0,176
HHV-6B					
5,14 log ₁₀ UI/ml	0,215	0,072	0,227	0,000	0,227
4,14 log ₁₀ UI/ml	0,259	0,014	0,260	0,023	0,261
3,14 log ₁₀ UI/ml	0,178	0,062	0,189	0,000	0,189
2,70 log ₁₀ UI/ml	0,149	0,079	0,169	0,000	0,169

REFERINȚE

1. Rifai, N., Horvath, A.R., Wittwer, C.T., Tietz, N.W. (Eds.), 2018. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics, Sixth edition. ed. Elsevier, St. Louis, Missouri.
2. Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Laboratory and clinical aspects of human herpesvirus 6 infections. Clin Microbiol Rev. 2015 Apr;28(2):313-35. doi: 10.1128/CMR.00122-14. PMID: 25762531; PMCID: PMC4402955.
3. Hill JA. Human herpesvirus 6 in transplant recipients: an update on diagnostic and treatment strategies. Curr Opin Infect Dis. 2019 Dec;32(6):584-590. doi: 10.1097/QCO.0000000000000592. PMID: 31567413; PMCID: PMC7141773.
4. Agut H, Bonnafous P, Gautheret-Dejean A. Human Herpesviruses 6A, 6B, and 7. Microbiol Spectr. 2016 Jun;4(3). doi: 10.1128/microbiolspec.DMIH2-0007-2015. PMID: 27337451.
5. Navarro E, Serrano-Heras G et 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,
6. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Ed. Washington,DC: US Government Printing Office, January 2009.
7. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual, 3rd ed.Geneva: World Health Organization, 2004.
8. CLSI. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline — Fourth Edition (M29-A4). Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
9. CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline—Second Edition CLSI Document MM13. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020
10. CLSI. Molecular Diagnostic Methods for 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.

MĂRCI COMERCIALE















NeuMoDx™ este marcă comercială a NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® este marcă comercială înregistrată a Roche Molecular Systems, Inc.

Seracare® este marcă comercială înregistrată a Seracare Life Sciences, Inc.

Toate celelalte nume de produse, mărci comerciale și mărci comerciale înregistrate care pot apărea în acest document sunt deținute de proprietarii respectivi.

SIMBOLURI

SIMBOL	SEMNIFICAȚIE
	Doar pe bază de rețetă
	Producător
	Distribuitor
	Dispozitiv medical pentru diagnosticare <i>in vitro</i>
	Număr de catalog
	Cod lot
	Consultați instrucțiunile de utilizare
	Atenție, consultați documentele însoțitoare
	Limitare de temperatură
	A se păstra într-un loc uscat
	A nu se reutiliza
	A nu se expune la lumină
	Conține suficient pentru <n> (de) testări
	Data de expirare



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)

Asistență tehnică: support.qiagen.com
Raportarea vigilenței: support.qiagen.com

Brevet: www.neumodx.com/patents